

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

ANNEE: 2013

THESE N°: 94

**ANOMALIES CYTOGÉNÉTIQUES DANS LES LEUCÉMIES  
AIGÜES MYÉLOÏDES : DONNÉES RÉCENTES.**

**THÈSE**

*Présentée et soutenue publiquement le :.....*

**PAR**

**Mlle. Hanane SALHANE**

*Née le 10 Novembre 1981 à Casablanca*

**Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie**

**MOTS CLES** : Leucémies aiguës myéloïdes – Caryotype – FISH – Classification OMS.

**JURY**

**Mr A. BELMEKKI**

Professeur d'Hématologie

**PRESIDENT**

**Mr A. MASRAR**

Professeur d'Hématologie Biologique

**RAPPORTEUR**

**Mr A. DAMI**

Professeur Agrégé de Biochimie

**Mme S. BENKIRANE**

Professeur Agrégé d'Hématologie Biologique

**JUGES**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



سورة يوسف (٧٦)



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

**DOYENS HONORAIRES :**

1962 – 1969	: Professeur Abdelmalek FARAJ
1969 – 1974	: Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981	: Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989	: Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997	: Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003	: Professeur Abdelmajid BELMAHI
2003 – 2013	: Professeur Najia HAJJAJ - HASSOUNI

**ADMINISTRATION :**

Doyen	: Professeur Mohamed ADNAOUI
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et estudiantines	Professeur Mohammed AHALLAT
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération	Professeur Jamal TAOUFIK
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie	Professeur Jamal TAOUFIK
Secrétaire Général	: Mr. El Hassane AHALLAT

**PROFESSEURS :**

**Mai et Octobre 1981**

Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih	Chirurgie Cardio-Vasculaire
Pr. TAOBANE Hamid*	Chirurgie Thoracique

**Mai et Novembre 1982**

Pr. ABROUQ Ali*	Oto-Rhino-Laryngologie
Pr. BENSOUA Mohamed	Anatomie
Pr. BENOSMAN Abdellatif	Chirurgie Thoracique
Pr. LAHBABI Naïma	Physiologie

**Novembre 1983**

Pr. BELLAKHDAR Fouad	Neurochirurgie
Pr. HAJJAJ Najia ép. HASSOUNI	Rhumatologie

Décembre 1984

Pr. EL GUEDDARI Brahim El Khalil  
Pr. MAAOUNI Abdelaziz  
Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi  
Pr. SETTAF Abdellatif

Radiothérapie  
Médecine Interne  
Anesthésie -Réanimation  
Chirurgie

Novembre et Décembre 1985

Pr. BENJELLOUN Halima  
Pr. BENSAID Younes  
Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa  
Pr. IRAQI Ghali

Cardiologie  
Pathologie Chirurgicale  
Neurologie  
Pneumo-physiologie

Janvier, Février et Décembre 1987

Pr. AJANA Ali  
Pr. CHAHED OUZZANI Houria  
Pr. EL YAACOUBI Moradh  
Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah  
Pr. LACHKAR Hassan  
Pr. YAHYAOUI Mohamed

Radiologie  
Gastro-Entérologie  
Traumatologie Orthopédie  
Gastro-Entérologie  
Médecine Interne  
Neurologie

Décembre 1988

Pr. BENHAMAMOUCHE Mohamed Najib  
Pr. DAFIRI Rachida  
Pr. HERMAS Mohamed  
Pr. TOLOUNE Farida\*

Chirurgie Pédiatrique  
Radiologie  
Traumatologie Orthopédie  
Médecine Interne

Décembre 1989 Janvier et Novembre 1990

Pr. ADNAOUI Mohamed  
Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali\*  
Pr. CHAD Bouziane  
Pr. CHKOFF Rachid  
Pr. HACHIM Mohammed\*  
Pr. KHARBACH Aïcha  
Pr. MANSOURI Fatima  
Pr. OUZZANI Taïbi Mohamed Réda  
Pr. TAZI Saoud Anas

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

Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AL HAMANY Zaïtounia  
Pr. AZZOUZI Abderrahim  
Pr. BAYAHIA Rabéa  
Pr. BELKOUCHI Abdelkader  
Pr. BENABDELLAH Chahrazad  
Pr. BENCHEKROUN Belabbes Abdellatif  
Pr. BENSOUDA Yahia  
Pr. BERRAHO Amina  
Pr. BEZZAD Rachid  
Pr. CHABRAOUI Layachi  
Pr. CHERRAH Yahia  
Pr. CHOKAIRI Omar  
Pr. JANATI Idrissi Mohamed\*  
Pr. KHATTAB Mohamed  
Pr. SOULAYMANI Rachida  
Pr. TAOUFIK Jamal

Anatomie-Pathologique  
Anesthésie Réanimation  
Néphrologie  
Chirurgie Générale  
Hématologie  
Chirurgie Générale  
Pharmacie galénique  
Ophtalmologie  
Gynécologie Obstétrique  
Biochimie et Chimie  
Pharmacologie  
Histologie Embryologie  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie  
Pharmacologie  
Chimie thérapeutique

Décembre 1992

Pr. AHALLAT Mohamed  
Pr. BENSOUDA Adil  
Pr. BOUJIDA Mohamed Najib  
Pr. CHAHED OUZZANI Laaziza  
Pr. CHRAIBI Chafiq  
Pr. DAOUDI Rajae  
Pr. DEHAYNI Mohamed\*  
Pr. EL OUAHABI Abdessamad  
Pr. FELLAT Rokaya  
Pr. GHAFIR Driss\*  
Pr. JIDDANE Mohamed  
Pr. OUZZANI TAIBI Med Charaf Eddine  
Pr. TAGHY Ahmed  
Pr. ZOUHDI Mimoun

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

Mars 1994

Pr. AGNAOU Lahcen  
Pr. BENCHERIFA Fatiha

Ophtalmologie  
Ophtalmologie

Pr. BENJAAFAR Nouredine  
Pr. BEN RAIS Nozha  
Pr. CAOUI Malika  
Pr. CHRAIBI Abdelmjid  
Pr. EL AMRANI Sabah  
Pr. EL AOUAD Rajae  
Pr. EL BARDOUNI Ahmed  
Pr. EL HASSANI My Rachid  
Pr. EL IDRISSE Lamghari Abdennaceur  
Pr. ERROUGANI Abdelkader  
Pr. ESSAKALI Malika  
Pr. ETTAYEBI Fouad  
Pr. HADRI Larbi\*  
Pr. HASSAM Badredine  
Pr. IFRINE Lahssan  
Pr. JELTHI Ahmed  
Pr. MAHFOUD Mustapha  
Pr. MOUDENE Ahmed\*  
Pr. RHRAB Brahim  
Pr. SENOUCI Karima

**Mars 1994**

Pr. ABBAR Mohamed\*  
Pr. ABDELHAK M'barek  
Pr. BELAIDI Halima  
Pr. BRAHMI Rida Slimane  
Pr. BENTAHILA Abdelali  
Pr. BENYAHIA Mohammed Ali  
Pr. BERRADA Mohamed Saleh  
Pr. CHAMI Ilham  
Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae  
Pr. EL ABBADI Najia  
Pr. HANINE Ahmed\*  
Pr. JALIL Abdelouahed  
Pr. LAKHDAR Amina  
Pr. MOUANE Nezha

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

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

### **Mars 1995**

Pr. ABOUQUAL Redouane	Réanimation Médicale
Pr. AMRAOUI Mohamed	Chirurgie Générale
Pr. BAIDADA Abdelaziz	Gynécologie Obstétrique
Pr. BARGACH Samir	Gynécologie Obstétrique
Pr. BEDDOUCHE Amocrane*	Urologie
Pr. CHAARI Jilali*	Médecine Interne
Pr. DIMOU M'barek*	Anesthésie Réanimation
Pr. DRISSI KAMILI Med Nordine*	Anesthésie Réanimation
Pr. EL MESNAOUI Abbes	Chirurgie Générale
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila	Oto-Rhino-Laryngologie
Pr. FERHATI Driss	Gynécologie Obstétrique
Pr. HASSOUNI Fadil	Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène
Pr. HDA Abdelhamid*	Cardiologie
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed	Urologie
Pr. IBRAHIMY Wafaa	Ophtalmologie
Pr. MANSOURI Aziz	Radiothérapie
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia	Ophtalmologie
Pr. SEFIANI Abdelaziz	Génétique
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali	Réanimation Médicale

### **Décembre 1996**

Pr. AMIL Touriya*	Radiologie
Pr. BELKACEM Rachid	Chirurgie Pédiatrie
Pr. BOULANOUAR Abdelkrim	Ophtalmologie
Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan	Chirurgie Générale
Pr. GAOUZI Ahmed	Pédiatrie
Pr. MAHFOUDI M'barek*	Radiologie
Pr. MOHAMMADINE EL Hamid	Chirurgie Générale
Pr. MOHAMMADI Mohamed	Médecine Interne
Pr. MOULINE Soumaya	Pneumo-phtisiologie
Pr. OUADGHIRI Mohamed	Traumatologie-Orthopédie
Pr. OUZEDDOUN Naima	Néphrologie
Pr. ZBIR EL Mehdi*	Cardiologie

### **Novembre 1997**

Pr. ALAMI Mohamed Hassan	Gynécologie-Obstétrique
Pr. BEN AMAR Abdesselem	Chirurgie Générale

Pr. BEN SLIMANE Lounis  
Pr. BIROUK Nazha  
Pr. CHAOUIR Souad\*  
Pr. DERRAZ Said  
Pr. ERREIMI Naima  
Pr. FELLAT Nadia  
Pr. GUEDDARI Fatima Zohra  
Pr. HAIMEUR Charki\*  
Pr. KADDOURI Noureddine  
Pr. KOUTANI Abdellatif  
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid  
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ  
Pr. NAZI M'barek\*  
Pr. OUAHABI Hamid\*  
Pr. TAOUFIQ Jallal  
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Urologie  
Neurologie  
Radiologie  
Neurochirurgie  
Pédiatrie  
Cardiologie  
Radiologie  
Anesthésie Réanimation  
Chirurgie Pédiatrique  
Urologie  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie  
Cardiologie  
Neurologie  
Psychiatrie  
Gynécologie Obstétrique

### **Novembre 1998**

Pr. AFIFI RAJAA  
Pr. BENOMAR ALI  
Pr. BOUGTAB Abdesslam  
Pr. ER RIHANI Hassan  
Pr. EZZAITOUNI Fatima  
Pr. LAZRAK Khalid \*  
Pr. BENKIRANE Majid\*  
Pr. KHATOURI ALI\*  
Pr. LABRAIMI Ahmed\*

Gastro-Entérologie  
Neurologie  
Chirurgie Générale  
Oncologie Médicale  
Néphrologie  
Traumatologie Orthopédie  
Hématologie  
Cardiologie  
Anatomie Pathologique

### **Janvier 2000**

Pr. ABID Ahmed\*  
Pr. AIT OUMAR Hassan  
Pr. BENCHERIF My Zahid  
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr.Sououd  
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine  
Pr. CHAOUI Zineb  
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer  
Pr. ECHARRAB El Mahjoub  
Pr. EL FTOUH Mustapha

Pneumophtisiologie  
Pédiatrie  
Ophtalmologie  
Pédiatrie  
Pneumo-phtisiologie  
Ophtalmologie  
Chirurgie Générale  
Chirurgie Générale  
Pneumo-phtisiologie

Pr. EL MOSTARCHID Brahim\*  
Pr. EL OTMANY Azzedine  
Pr. HAMMANI Lahcen  
Pr. ISMAILI Mohamed Hatim  
Pr. ISMAILI Hassane\*  
Pr. KRAMI Hayat Ennoufouss  
Pr. MAHMOUDI Abdelkrim\*  
Pr. TACHINANTE Rajae  
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Neurochirurgie  
Chirurgie Générale  
Radiologie  
Anesthésie-Réanimation  
Traumatologie Orthopédie  
Gastro-Entérologie  
Anesthésie-Réanimation  
Anesthésie-Réanimation  
Médecine Interne

### **Novembre 2000**

Pr. AIDI Saadia  
Pr. AIT OURHROUI Mohamed  
Pr. AJANA Fatima Zohra  
Pr. BENAMR Said  
Pr. BENCHEKROUN Nabih  
Pr. CHERTI Mohammed  
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma  
Pr. EL HASSANI Amine  
Pr. EL IDGHIRI Hassan  
Pr. EL KHADER Khalid  
Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah\*  
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan  
Pr. HSSAIDA Rachid\*  
Pr. LAHLOU Abdou  
Pr. MAFTAH Mohamed\*  
Pr. MAHASSINI Najat  
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae  
Pr. NASSIH Mohamed\*  
Pr. ROUIMI Abdelhadi

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

### **Décembre 2001**

Pr. ABABOU Adil  
Pr. BALKHI Hicham\*  
Pr. BELMEKKI Mohammed  
Pr. BENABDELJLIL Maria  
Pr. BENAMAR Loubna

Anesthésie-Réanimation  
Anesthésie-Réanimation  
Ophtalmologie  
Neurologie  
Néphrologie

Pr. BENAMOR Jouda	Pneumo-ptisiologie
Pr. BENELBARHDADI Imane	Gastro-Entérologie
Pr. BENNANI Rajae	Cardiologie
Pr. BENOUACHANE Thami	Pédiatrie
Pr. BENYOUSSEF Khalil	Dermatologie
Pr. BERRADA Rachid	Gynécologie Obstétrique
Pr. BEZZA Ahmed*	Rhumatologie
Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi	Anatomie
Pr. BOUHOUCHE Rachida	Cardiologie
Pr. BOUMDIN El Hassane*	Radiologie
Pr. CHAT Latifa	Radiologie
Pr. CHELLAOUI Mounia	Radiologie
Pr. DAALI Mustapha*	Chirurgie Générale
Pr. DRISSI Sidi Mourad*	Radiologie
Pr. EL HIJRI Ahmed	Anesthésie-Réanimation
Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid	Neuro-Chirurgie
Pr. EL MADHI Tarik	Chirurgie-Pédiatrique
Pr. EL MOUSSAIF Hamid	Ophthalmologie
Pr. EL OUNANI Mohamed	Chirurgie Générale
Pr. ETTAIR Said	Pédiatrie
Pr. GAZZAZ Miloudi*	Neuro-Chirurgie
Pr. GOURINDA Hassan	Chirurgie-Pédiatrique
Pr. HRORA Abdelmalek	Chirurgie Générale
Pr. KABBAJ Saad	Anesthésie-Réanimation
Pr. KABIRI EL Hassane*	Chirurgie Thoracique
Pr. LAMRANI Moulay Omar	Traumatologie Orthopédie
Pr. LEKEHAL Brahim	Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pr. MAHASSIN Fattouma*	Médecine Interne
Pr. MEDARHRI Jalil	Chirurgie Générale
Pr. MIKDAME Mohammed*	Hématologie Clinique
Pr. MOHSINE Raouf	Chirurgie Générale
Pr. NOUINI Yassine	Urologie
Pr. SABBAH Farid	Chirurgie Générale
Pr. SEFIANI Yasser	Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia	Pédiatrie

## **Décembre 2002**

Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*	Anatomie Pathologique
Pr. AMEUR Ahmed *	Urologie
Pr. AMRI Rachida	Cardiologie
Pr. AOURARH Aziz*	Gastro-Entérologie
Pr. BAMOU Youssef *	Biochimie-Chimie
Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Pr. BENZEKRI Laila	Dermatologie
Pr. BENZZOUBEIR Nadia*	Gastro-Entérologie
Pr. BERNOUSSI Zakiya	Anatomie Pathologique
Pr. BICHRA Mohamed Zakariya	Psychiatrie
Pr. CHOHO Abdelkrim *	Chirurgie Générale
Pr. CHKIRATE Bouchra	Pédiatrie
Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair	Chirurgie Pédiatrique
Pr. EL BARNOUSSI Leila	Gynécologie Obstétrique
Pr. EL HAOURI Mohamed *	Dermatologie
Pr. EL MANSARI Omar*	Chirurgie Générale
Pr. ES-SADEL Abdelhamid	Chirurgie Générale
Pr. FILALI ADIB Abdelhai	Gynécologie Obstétrique
Pr. HADDOUR Leila	Cardiologie
Pr. HAJJI Zakia	Ophtalmologie
Pr. IKEN Ali	Urologie
Pr. ISMAEL Farid	Traumatologie Orthopédie
Pr. JAAFAR Abdeloihab*	Traumatologie Orthopédie
Pr. KRIOUILE Yamina	Pédiatrie
Pr. LAGHMARI Mina	Ophtalmologie
Pr. MABROUK Hfid*	Traumatologie Orthopédie
Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*	Gynécologie Obstétrique
Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid*	Cardiologie
Pr. NAITLHO Abdelhamid*	Médecine Interne
Pr. OUJILAL Abdelilah	Oto-Rhino-Laryngologie
Pr. RACHID Khalid *	Traumatologie Orthopédie
Pr. RAISS Mohamed	Chirurgie Générale
Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*	Pneumophtisiologie
Pr. RHOU Hakima	Néphrologie
Pr. SIAH Samir *	Anesthésie Réanimation
Pr. THIMOU Amal	Pédiatrie
Pr. ZENTAR Aziz*	Chirurgie Générale

## **Janvier 2004**

Pr. ABDELLAH El Hassan  
Pr. AMRANI Mariam  
Pr. BENBOUZID Mohammed Anas  
Pr. BENKIRANE Ahmed\*  
Pr. BOUGHALEM Mohamed\*  
Pr. BOULAADAS Malik  
Pr. BOURAZZA Ahmed\*  
Pr. CHAGAR Belkacem\*  
Pr. CHERRADI Nadia  
Pr. EL FENNI Jamal\*  
Pr. EL HANCHI ZAKI  
Pr. EL KHORASSANI Mohamed  
Pr. EL YOUNASSI Badreddine\*  
Pr. HACHI Hafid  
Pr. JABOUIRIK Fatima  
Pr. KARMANE Abdelouahed  
Pr. KHABOUZE Samira  
Pr. KHARMAZ Mohamed  
Pr. LEZREK Mohammed\*  
Pr. MOUGHIL Said  
Pr. SASSENOU ISMAIL\*  
Pr. TARIB Abdelilah\*  
Pr. TIJAMI Fouad  
Pr. ZARZUR Jamila

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

## **Janvier 2005**

Pr. ABBASSI Abdellah  
Pr. AL KANDRY Sif Eddine\*  
Pr. ALAOUI Ahmed Essaid  
Pr. ALLALI Fadoua  
Pr. AMAZOUZI Abdellah  
Pr. AZIZ Noureddine\*  
Pr. BAHIRI Rachid  
Pr. BARKAT Amina

Chirurgie Réparatrice et Plastique  
Chirurgie Générale  
Microbiologie  
Rhumatologie  
Ophthalmologie  
Radiologie  
Rhumatologie  
Pédiatrie

Pr. BENHALIMA Hanane  
Pr. BENHARBIT Mohamed  
Pr. BENYASS Aatif  
Pr. BERNOUSSI Abdelghani  
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed  
Pr. DOUDOUH Abderrahim\*  
Pr. EL HAMZAoui Sakina  
Pr. HAJJI Leila  
Pr. HESSISSEN Leila  
Pr. JIDAL Mohamed\*  
Pr. KARIM Abdelouahed  
Pr. KENDOOUSSI Mohamed\*  
Pr. LAAROOUSSI Mohamed  
Pr. LYAGOUBI Mohammed  
Pr. NIAMANE Radouane\*  
Pr. RAGALA Abdelhak  
Pr. SBIHI Souad  
Pr. TNACHERI OUAZZANI Btissam  
Pr. ZERAIDI Najia

**Décembre 2005**

Pr. CHANI Mohamed

**Avril 2006**

Pr. ACHEMLAL Lahsen\*  
Pr. AKJOUJ Said\*  
Pr. BELMEKKI Abdelkader\*  
Pr. BENCHEIKH Razika  
Pr. BIYI Abdelhamid\*  
Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine  
Pr. BOULAHYA Abdellatif\*  
Pr. CHENGUETI ANSARI Anas  
Pr. DOGHMI Nawal  
Pr. ESSAMRI Wafaa  
Pr. FELLAT Ibtissam  
Pr. FAROUDY Mamoun  
Pr. GHADOUANE Mohammed\*  
Pr. HARMOUCHE Hicham

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

Anesthésie Réanimation

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

Pr. HANAFI Sidi Mohamed\*  
Pr. IDRIS LAHLOU Amine  
Pr. JROUNDI Laila  
Pr. KARMOUNI Tariq  
Pr. KILI Amina  
Pr. KISRA Hassan  
Pr. KISRA Mounir  
Pr. LAATIRIS Abdelkader\*  
Pr. LMIMOUNI Badreddine\*  
Pr. MANSOURI Hamid\*  
Pr. OUANASS Abderrazzak  
Pr. SAFI Soumaya\*  
Pr. SEKKAT Fatima Zahra  
Pr. SOUALHI Mouna  
Pr. TELLAL Saida\*  
Pr. ZAHRAOUI Rachida

Anesthésie Réanimation  
Microbiologie  
Radiologie  
Urologie  
Pédiatrie  
Psychiatrie  
Chirurgie – Pédiatrique  
Pharmacie Galénique  
Parasitologie  
Radiothérapie  
Psychiatrie  
Endocrinologie  
Psychiatrie  
Pneumo – Phtisiologie  
Biochimie  
Pneumo – Phtisiologie

### **Octobre 2007**

Pr. ABIDI Khalid  
Pr. ACHACHI Leila  
Pr. ACHOUR Abdessamad\*  
Pr. AIT HOUSSA Mahdi\*  
Pr. AMHAJJI Larbi\*  
Pr. AMMAR Haddou  
Pr. AOUI Sarra  
Pr. BAITE Abdelouahed\*  
Pr. BALOUCH Lhousaine\*  
Pr. BENZIANE Hamid\*  
Pr. BOUTIMZIANE Nourdine  
Pr. CHARKAOUI Naoual\*  
Pr. EHIRCHIOU Abdelkader\*  
Pr. ELABSI Mohamed  
Pr. EL BEKKALI Youssef\*  
Pr. EL MOUSSAOUI Rachid  
Pr. EL OMARI Fatima  
Pr. GANA Rachid  
Pr. GHARIB Nouredine

Réanimation médicale  
Pneumo phtisiologie  
Chirurgie générale  
Chirurgie cardio vasculaire  
Traumatologie orthopédie  
ORL  
Parasitologie  
Anesthésie réanimation  
Biochimie-chimie  
Pharmacie clinique  
Ophtalmologie  
Pharmacie galénique  
Chirurgie générale  
Chirurgie générale  
Chirurgie cardio vasculaire  
Anesthésie réanimation  
Psychiatrie  
Neuro chirurgie  
Chirurgie plastique et réparatrice

Pr. HADADI Khalid\*  
Pr. ICHOU Mohamed\*  
Pr. ISMAILI Nadia  
Pr. KEBDANI Tayeb  
Pr. LALAOUI SALIM Jaafar\*  
Pr. LOUZI Lhoussain\*  
Pr. MADANI Naoufel  
Pr. MAHI Mohamed\*  
Pr. MARC Karima  
Pr. MASRAR Azlarab  
Pr. MOUSSAOUI Abdelmajid  
Pr. MOUTAJ Redouane \*  
Pr. MRABET Mustapha\*  
Pr. MRANI Saad\*  
Pr. OUZZIF Ez zohra\*  
Pr. RABHI Monsef\*  
Pr. RADOUANE Bouchaib\*  
Pr. SEFFAR Myriame  
Pr. SEKHSOKH Yessine\*  
Pr. SIFAT Hassan\*  
Pr. TABERKANET Mustafa\*  
Pr. TACHFOUTI Samira  
Pr. TAJDINE Mohammed Tariq\*  
Pr. TANANE Mansour\*  
Pr. TLIGUI Houssain  
Pr. TOUATI Zakia

Radiothérapie  
Oncologie médicale  
Dermatologie  
Radiothérapie  
Anesthésie réanimation  
Microbiologie  
Réanimation médicale  
Radiologie  
Pneumo ptisiologie  
Hématologie biologique  
Anesthésier réanimation  
Parasitologie  
Médecine préventive santé publique et hygiène  
Virologie  
Biochimie-chimie  
Médecine interne  
Radiologie  
Microbiologie  
Microbiologie  
Radiothérapie  
Chirurgie vasculaire périphérique  
Ophtalmologie  
Chirurgie générale  
Traumatologie orthopédie  
Parasitologie  
Cardiologie

### **Décembre 2008**

Pr ZOUBIR Mohamed\*  
Pr TAHIRI My El Hassan\*

Anesthésie Réanimation  
Chirurgie Générale

### **PROFESSEURS AGREGES :**

#### **Mars 2009**

Pr. ABOUZAHIR Ali\*  
Pr. AGDR Aomar\*  
Pr. AIT ALI Abdelmounaim\*

Médecine interne  
Pédiatre  
Chirurgie Générale

Pr. AIT BENHADDOU El hachmia  
Pr. AKHADDAR Ali\*  
Pr. ALLALI Nazik  
Pr. AMAHZOUNE Brahim\*  
Pr. AMINE Bouchra  
Pr. AZENDOUR Hicham\*  
Pr. BELYAMANI Lahcen\*  
Pr. BJIJOU Younes  
Pr. BOUHSAÏN Sanae\*  
Pr. BOUI Mohammed\*  
Pr. BOUNAIM Ahmed\*  
Pr. BOUSSOUGA Mostapha\*  
Pr. CHAKOUR Mohammed \*  
Pr. CHTATA Hassan Toufik\*  
Pr. DOGHMI Kamal\*  
Pr. EL MALKI Hadj Omar  
Pr. EL OUENNASS Mostapha\*  
Pr. ENNIBI Khalid\*  
Pr. FATHI Khalid  
Pr. HASSIKOU Hasna \*  
Pr. KABBAJ Nawal  
Pr. KABIRI Meryem  
Pr. KADI Said \*  
Pr. KARBOUBI Lamya  
Pr. L'KASSIMI Hachemi\*  
Pr. LAMSAOURI Jamal\*  
Pr. MARMADÉ Lahcen  
Pr. MESKINI Toufik  
Pr. MESSAOUDI Nezha \*  
Pr. MSSROURI Rahal  
Pr. NASSAR Ittimade  
Pr. OUKERRAJ Latifa  
Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani \*  
Pr. ZOUHAÏR Said\*

**Octobre 2010**

Pr. ALILOU Mustapha  
Pr. AMEZIANE Taoufiq\*

Neurologie  
Neuro-chirurgie  
Radiologie  
Chirurgie Cardio-vasculaire  
Rhumatologie  
Anesthésie Réanimation  
Anesthésie Réanimation  
Anatomie  
Biochimie-chimie  
Dermatologie  
Chirurgie Générale  
Traumatologie orthopédique  
Hématologie biologique  
Chirurgie vasculaire périphérique  
Hématologie clinique  
Chirurgie Générale  
Microbiologie  
Médecine interne  
Gynécologie obstétrique  
Rhumatologie  
Gastro-entérologie  
Pédiatrie  
Traumatologie orthopédique  
Pédiatrie  
Microbiologie  
Chimie Thérapeutique  
Chirurgie Cardio-vasculaire  
Pédiatrie  
Hématologie biologique  
Chirurgie Générale  
Radiologie  
Cardiologie  
Pneumo-phtisiologie  
Microbiologie

Anesthésie réanimation  
Médecine interne

Pr. BELAGUID Abdelaziz	Physiologie
Pr. BOUAITY Brahim*	ORL
Pr. CHADLI Mariama*	Microbiologie
Pr. CHEMSI Mohamed*	Médecine aéronautique
Pr. CHERRADI Ghizlan	Cardiologie
Pr. DAMI Abdellah*	Biochimie chimie
Pr. DARBI Abdellatif*	Radiologie
Pr. DENDANE Mohammed Anouar	Chirurgie pédiatrique
Pr. EL HAFIDI Naima	Pédiatrie
Pr. EL KHARRAS Abdennasser*	Radiologie
Pr. EL MAZOUZ Samir	Chirurgie plastique et réparatrice
Pr. EL SAYEGH Hachem	Urologie
Pr. ERRABIH Ikram	Gastro entérologie
Pr. LAMALMI Najat	Anatomie pathologique
Pr. LEZREK Mounir	Ophtalmologie
Pr. MALIH Mohamed*	Pédiatrie
Pr. MOSADIK Ahlam	Anesthésie Réanimation
Pr. MOUJAHID Mountassir*	Chirurgie générale
Pr. NAZIH Mouna*	Hématologie
Pr. RAISSOUNI Zakaria*	Traumatologie Orthopédie
Pr. ZOUAIDIA Fouad	Anatomie pathologique

### **Mai 2012**

Pr. Abdelouahed AMRANI	Chirurgie Pédiatrique
Pr. ABOUELALAA Khalil*	Anesthésie Réanimation
Pr. Ahmed JAHID	Anatomie Pathologique
Pr. BELAIZI Mohamed*	Psychiatrie
Pr. BENCHEBBA Drissi*	Traumatologie Orthopédique
Pr. DRISSI Mohamed*	Anesthésie Réanimation
Pr. EL KHATTABI Abdessadek*	Médecine Interne
Pr. EL OUAZZANI Hanane*	Pneumophtisiologie
Pr. MEHSSANI Jamal*	Psychiatrie
Pr. Mouna EL ALAOUI MHAMDI	Chirurgie Générale
Pr. Mounir ER-RAJI	Chirurgie Pédiatrique
Pr. RAISSOUNI Maha*	Cardiologie

## ENSEIGNANTS SCIENTIFIQUES

### *PROFESSEURS*

Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
Pr. ALAMI OUHABI Naima	Biochimie
Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
Pr. BOURJOUANE Mohamed	Microbiologie
Pr. CHAHED OUZZANI Lalla Chadia	Biochimie
Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie
Pr. DRAOUI Mustapha	Chimie Analytique
Pr. EL GUESSABI Lahcen	Pharmacognosie
Pr. ETTAIB Abdelkader	Zootéchnie
Pr. FAOUZI Moulay El Abbes	Pharmacologie
Pr. HAMZAOUI Laila	Biophysique
Pr. HMAMOUCHE Mohamed	Chimie Organique
Pr. IBRAHIMI Azeddine	Biotechnologie
Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med	Chimie Organique
Pr. REDHA Ahlam	Biochimie
Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie
Pr. ZELLOU Amina	Chimie Organique

*\*Enseignants Militaires*

*Mise à jour le 02/05/2013*



*Dédicaces*



*Pour leurs sacrifices, pour leur irremplaçable et inconditionnel amour et  
pour leur soutien dans mes moments les plus difficiles.  
Je dédie ce travail à ma mère et mon père, je vous aime.*

*Que Dieu vous bénisse.*

*À mes sœurs : Latifa, Safaa, Rabiaa et Fatima Ezzahra,  
pour leur présence dans ma vie, pour leur soutien  
et leur encouragement permanents.*

*Je dis Merci et je vous aime.*

*À mon oncle Laarbi et sa famille, en témoignage de ma gratitude.*

*À mes amis Siham, Amina, Hanane, Halima, Karima, Nadia et  
Soumya,*

*En témoignage de l'amitié qui nous unit.*

*Enfin j'aimerais remercier tout spécialement Mr Berbish, pour son  
encouragement et son aide.*

*À tous ceux qui ont participé de près ou de loin dans l'accomplissement  
de ce travail,*

*Merci et que Dieu vous bénisse tous.*





*A notre maître Président*  
*Monsieur le professeur BELMEKKI Abdelkader*  
*Professeur d'hématologie*

*L'honneur que vous nous faites en acceptant de présider le jury de notre thèse est pour nous l'occasion de vous témoigner notre profonde reconnaissance pour vos qualités humaines.*

*Veillez cher président et maitre, croire à l'expression de notre plus profond respect et notre sincères remerciements.*

*A notre maître et rapporteur de thèse  
Monsieur le professeur MASRAR Azlarab  
Professeur d'hématologie biologique.*

*Pour vos propositions judicieuses, inhérentes au choix du sujet de cette thèse.*

*Pour les efforts inlassables que vous avez déployés pour que ce travail soit élaboré, votre compétence pratique, vos qualités humaines et professionnelles, ainsi que votre compréhension à l'égard des étudiants qui nous inspirent une grande admiration et un profond respect.*

*Veillez trouver ici, cher maître, le témoignage de notre grande gratitude et notre profond respect.*

*A notre maître juge de thèse  
Monsieur le professeur DAMI Abdellah  
Professeur agrégé de Biochimie.*

*Nous sommes très émus par la spontanéité avec laquelle vous  
avez accepté de juger notre travail.*

*Nous sommes très sensibles au grand honneur que vous nous  
faites en acceptant de siéger dans notre jury.*

*Veillez accepter, maître, notre sincère estime et profond  
respect.*

*A notre maître juge de thèse  
Madame le professeur BENKIRANE Souad  
Professeur agrégé d'hématologie biologique.*

*Vous nous faites un grand honneur en acceptant de juger notre travail.*

*Vous nous avez reçus avec beaucoup d'amabilité, nous en sommes très touchés.*

*Veillez trouver ici, cher maître, l'expression de notre respect et de nos sincères remerciements.*

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b> : Leucémogénèse à étapes multiples.....	<b>5</b>
<b>Figure 2</b> : Les anomalies cytogénétiques t(9 ;11), del(9), inv(16) et del(16) (cytogénétique conventionnelle et FISH).....	<b>18</b>
<b>Figure 3</b> : Caryotypes complets et partiels des principales anomalies cytogénétiques observées dans les LAM.....	<b>20</b>
<b>Figure 4</b> : Caryotype des anomalies cytogénétiques t(3 ;3) et del (3) .....	<b>22</b>
<b>Figure 5</b> : Parcours thérapeutique des leucémies aiguës myéloblastiques .....	<b>33</b>
<b>Figure 6</b> : Étapes de la réalisation du caryotype.....	<b>40</b>
<b>Figure 7</b> : Aspect morphologique d'un chromosome métaphasique.....	<b>42</b>
<b>Figure 8</b> : Aspects morphologiques des chromosomes en fonction de l'indice Centromérique .....	<b>43</b>
<b>Figure 9</b> : Principe de la technique de FISH : les différentes étapes sur préparation chromosomique .....	<b>48</b>
<b>Figure 10</b> : les différentes sondes utilisées en FISH .....	<b>49</b>
<b>Figure 11</b> : FISH montrant une trisomie X .....	<b>53</b>
<b>Figure 12</b> : Diagnostic par les sondes télomériques d'une t(17;22) (qtel;qtel) chez un patient atteint de retard mental et dysmorphie avec caryotype normal.....	<b>54</b>
<b>Figure 13</b> : Caryotype montrant la présence d'un marqueur (FISH et SKY) .....	<b>56</b>
<b>Figure 14</b> : Principe de CGH classique et de CGH-array .....	<b>59</b>

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I</b> : Classification FAB des LAM .....	<b>12</b>
<b>Tableau II</b> : Classification OMS 2001 des LAM .....	<b>13</b>
<b>Tableau III</b> : Classification OMS 2008 des LAM.....	<b>15</b>
<b>Tableau IV</b> : Anomalies cytogénétiques suffisantes pour diagnostiquer LAM avec altérations liés aux MD.....	<b>26</b>
<b>Tableau V</b> : Leucémies myéloïdes aiguës non spécifiées ailleurs.....	<b>28</b>
<b>Tableau VI</b> : Nomenclature cytogénétique .....	<b>45</b>
<b>Tableau VII</b> : Les approches techniques de la FISH et les sondes correspondantes .....	<b>61</b>
<b>Tableau VIII</b> : Caractéristiques morphologiques et cytochimiques de la classification FAB des LAM.....	<b>76</b>
<b>Tableau IX</b> : Principales anomalies chromosomiques dans les LAM.....	<b>78</b>
<b>Tableau X</b> : influence du profil cytogénétique sur les résultats des traitements de première ligne des LAM.....	<b>84</b>
<b>Tableau XI</b> : Intégration du statut mutationnel dans la prise en charge des leucémies aiguës myéloïdes.....	<b>86</b>
<b>Tableau XII</b> : Recommandations de greffe allogénique pour les leucémies aiguës myéloïdes (LAM) .....	<b>89</b>

## LISTE DES ABREVIATIONS

<b>ADN</b>	: Acide Désoxyribonucléique
<b>AracHD</b>	: Aracytine Haute Dose
<b>AREB</b>	: Anémie Réfractaire avec Excès de Blastes
<b>ATRA</b>	: Acide Tout-trans-Rétinoïque
<b>BACs</b>	: Chromosomes Artificiels de Bactéries
<b>CC</b>	: Cytogénétique Conventiennelle
<b>CEBPA</b>	: CCAAT/ Enhancer Binding Protein Alpha
<b>CGH</b>	: Hybridation Génomique Comparative
<b>CIVD</b>	: Coagulation Intravasculaire Disséminée
<b>CN</b>	: Caryotype Normal
<b>CSH</b>	: Cellule Souche Hématopoïétique
<b>DFS</b>	: Disease Free Survival
<b>FAB</b>	: Franco-Américano-Britannique
<b>FISH</b>	: Hybridation In Situ en Fluorescence
<b>FLT3</b>	: FMS-Like-Tyrosine-Kinase-3
<b>HMG</b>	: Hépatomégalie
<b>IC</b>	: Index Centromérique
<b>ITD</b>	: Internal Tandem Duplication
<b>LA</b>	: Leucémie Aiguë
<b>LAL</b>	: Leucémie Aiguë Lymphoblastique
<b>LAM</b>	: Leucémie Aiguë Myéloïde
<b>LAM-CBF</b>	: Leucémie Aiguë du groupe Core Binding Factor

<b>LAM-CN</b>	: Leucémie Aiguë à Caryotype Normal.
<b>LMC</b>	: Leucémie Myéloïde Chronique
<b>MD</b>	: Myélodysplasie
<b>MDR</b>	: Résistance Multiple aux Drogues.
<b>MPAL</b>	: Leucémie Aiguë à Phénotype Mixte.
<b>MPO</b>	: Myéloperoxydases
<b>NFS</b>	: Numération Formule Sanguine
<b>NK</b>	: Natural Killer.
<b>NPM1</b>	: Nucleophosmine
<b>OMS</b>	: Organisation Mondiale de la Santé.
<b>PCR</b>	: réaction en Chaîne de la Polymérase
<b>RC</b>	: Rémission Complète
<b>RT-PCR</b>	: Réaction en Chaîne de la Polymérase Inverse
<b>SMD</b>	: Syndrome Myélodysplasique
<b>SDL</b>	: Syndrome de Leucostase
<b>SKY</b>	: Spectral Karyotyping
<b>SMD</b>	: Syndrome Myélodysplasique.
<b>SMG</b>	: Splénomégalie
<b>SNC</b>	: Système Nerveux Central.
<b>SNP</b>	: Single-Nucleotide Polymorphism

# SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION</b> .....	1
<b>PREMIERE PARTIE : LEUCEMIES AIGUES MYELOÏDES : DE LA PHYSIOPATHOLOGIE A L'ATTITUDE THERAPEUTIQUE</b> .....	3
<b>I. GENERALITES</b> .....	4
1. Physiopathologie .....	4
2. Présentation clinique .....	6
3. Bilan biologique .....	9
3.1 Hémogramme (NFS) .....	9
3.2. Immunophénotype .....	9
3.3. Le myélogramme .....	10
3.4 Etude cytochimique .....	10
<b>II. CLASSIFICATION DES LAM</b> .....	11
1. La classification FAB des LAM .....	11
2. Classification OMS (Organisation Mondiale de la Santé) .....	12
2.1 Classification OMS 2001 .....	12
2.2. Classification OMS 2008 .....	14
a) LAM avec anomalies cytogénétiques récurrentes .....	14
b) LAM associée à des anomalies évoquant une myélodysplasie .....	25
c) LAM induites .....	27
d) Leucémie myéloïde aiguë sans aucune particularité .....	27
e) Autres entités .....	29
f) Leucémies aiguës de lignée indéterminée .....	30
<b>III. ATTITUDE THERAPEUTIQUE</b> .....	32

<b>DEUXIEME PARTIE : LES TECHNIQUES CYTOGENETIQUES</b> .....	34
I. HISTORIQUE.....	35
II. CYTOGENETIQUE CONVENTIONNELLE : le caryotype .....	37
1. Les prélèvements .....	37
2. Principe et techniques .....	37
2.1. Culture cellulaire .....	37
2.2. Blocage des cellules en métaphase.....	38
2.3. Choc hypotonique .....	38
2.4. Fixations/ Etalement.....	38
2.5. Vieillessement des lames.....	38
2.6. Dénaturation /Coloration .....	39
2.7. Analyse et classification .....	41
3. Classement des chromosomes métaphasiques :.....	41
3.1. Structure du chromosome métaphasique .....	41
3.2. Critères de classement des chromosomes .....	41
3.3 Nomenclature.....	44
4. Avantages et limites.....	46
III. CYTOGENETIQUE MOLECULAIRE .....	47
1. Hybridation in situ fluorescente : FISH.....	47
1.1. Principe.....	47
1.2. Les sondes utilisées.....	49
1.2.1. Les sondes centromériques :.....	49
1.2.2. Les sondes télomériques :.....	50
1.2.3. Les sondes de peinture chromosomique :.....	50
1.2.4. Les sondes dites « séquences uniques »: .....	50
1.3. Dénaturation de l'ADN et hybridation.....	51
1.4. Visualisation .....	51

1.5. Analyse des hybrides .....	52
1.6. Précautions à prendre pendant la lecture des résultats de FISH.....	52
1.7. Principales applications de l'hybridation in situ .....	53
1.8. Dérivées de la FISH : La FISH multi-couleurs .....	54
2. Hybridation génomique comparative (CGH) et dérivées .....	57
2.1 CGH .....	57
2.2 CGH array.....	58
2.3 Avantages et limites .....	60
3. Approches techniques.....	60
<b>TROISIEME PARTIE : APPORT DE LA CYTOGENETIQUE DANS LES LAM.....</b>	<b>64</b>
<b>I. APPORT DE LA CYTOGENETIQUE AU DIAGNOSTIC DES LAM .....</b>	<b>65</b>
1. Diagnostic des LAM.....	65
1.1. Examens indispensables.....	65
1.2. Examens parfois nécessaires .....	67
2. Les anomalies cytogénétiques.....	67
a. Translocations équilibrées.....	68
b. Gains chromosomiques .....	68
c. Délétions chromosomiques .....	69
3. Apports de la cytogénétique au diagnostic des LAM.....	69
3. Les moyens à mettre en œuvre au diagnostic de LA .....	70
3.1. Hyperdiploïdie > 50 chromosomes .....	70
3.2. 11q23/MLL.....	70
3.3. t(15;17)(q22;q12-21)/PML-RAR .....	71
3.4. t(8;21)(q22;q22)/AML1-ETO .....	72
3.5. Inv(16)/t(16;16)/CBF/MYH11 .....	73
3.6. Mutations génétiques actuellement recherchées au diagnostic .....	74

II. APPORT DE LA CYTOGENETIQUE A LA CLASSIFICATION DES LAM : .....	75
1. Classification morphologique des LAM : .....	75
2. Classification cytogénétique .....	77
3. Place de la cytogénétique dans la nouvelle classification des LAM .....	79
III. APPORT DE LA CYTOGENETIQUE AU PRONOSTIC DES LAM : ...	81
1. Les principaux facteurs pronostiques .....	81
2. Apport de la cytogénétique à l'évaluation pronostique des LAM .....	82
IV. APPORT DE LA CYTOGENETIQUE AU TRAITEMENT DES LAM..	93
<b>CONCLUSION</b> .....	96
<b>RESUMES</b>	
<b>REFERENCES</b>	



*Introduction*

Les leucémies aiguës myéloïdes (LAM) sont des hémopathies malignes caractérisées par un blocage de la différenciation des progéniteurs myéloïdes et par leur prolifération incontrôlée, provoquant l'accumulation de blastes dans la moelle osseuse et le sang. Depuis 2001 et la première classification OMS, le pourcentage minimal de blastes dans la moelle requis pour le diagnostic d'une LAM est passé de 30% à 20%. Les LAM touchent surtout les adultes et sont, tous âges confondus, plus fréquentes que les leucémies aiguës lymphoblastiques LAL (70% des LA) [1]. Les LAM sont des maladies hétérogènes sur le plan moléculaire. Sur la base de la cytogénétique et l'hybridation in situ en fluorescence (FISH), les patients atteints de LAM sont stratifiés en trois grandes catégories de risques: favorables, intermédiaires et défavorables [2].

L'objectif de notre travail est de présenter les principales techniques de cytogénétiques conventionnelles et moléculaires, et de souligner leurs applications dans les LAM.



*Première partie*

*Les Leucémies aiguës myéloïdes :  
De la physiopathologie  
à l'attitude thérapeutique*

## **I. GENERALITES**

### **1. Physiopathologie**

Les mécanismes précis de la leucémogénèse restent inconnus même si certains des facteurs étiologiques, épidémiologiques et moléculaires impliqués ont été identifiés [3].

Dans un modèle de leucémogénèse myéloïde à deux évènements «two-hit », les anomalies moléculaires responsables, d'une part, de l'arrêt de différenciation des progéniteurs hématopoïétique et d'autre part, d'un excès de prolifération, pourraient coopérer pour aboutir à la leucémie [4]. Des arguments supplémentaires en faveur de la nécessité d'événements additionnels ont été mis en avant [5]. En effet, la leucémogénèse est un processus complexe qui implique aussi bien l'aneuploïdie que les mutations géniques en tant que voies évolutives alternatives ou combinées, un type de mutation pouvant précéder l'autre et vice-versa, suivant les circonstances génétiques et environnementales. Dans cette perspective il est possible de proposer un modèle à étapes multiples combinant cette hypothèse avec celle de la leucémogénèse dite en deux étapes [6] (Figure1).

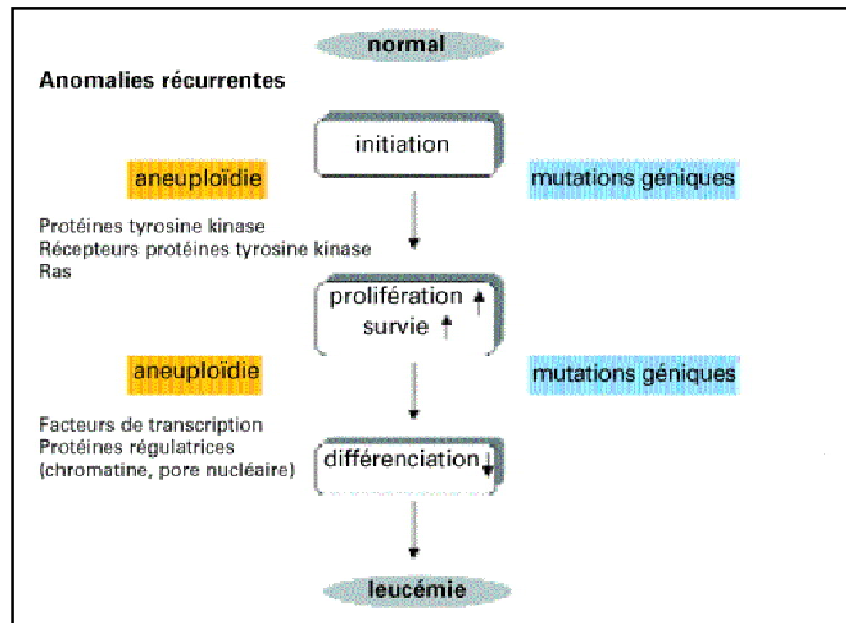


Figure 1 : leucémogénèse à étapes multiples [7]

L'hématopoïèse leucémique conserve certaines caractéristiques comparables à celles de l'hématopoïèse normale [8]. En effet, le clone leucémique est organisé de façon hiérarchique en trois compartiments distincts:

1. un compartiment minoritaire de cellules souches leucémiques de phénotype immature (CD34+CD38-CD123+), les plus résistantes aux agents de chimiothérapie, pour la plupart quiescentes mais capables d'auto-renouvellement;
2. un compartiment plus mature de progéniteurs leucémiques (« CFU-L pour *colony forming unit leukemia* ») ayant perdu des capacités d'auto-renouvellement mais ayant des propriétés clonogènes et de différenciation limitée;

Un compartiment majoritaire de cellules leucémiques bloquées à un stade donné de maturation granulomonocytaire. D'un point de vue moléculaire, il est considéré que le phénotype leucémique est conféré à une cellule souche normale ou à un progéniteur hématopoïétique engagé dans un processus de maturation par l'acquisition d'au moins deux événements mutationnels. Des mutations dites de classe I qui affectent des récepteurs à activité tyrosine kinase (récepteur FLT-3 dans 25-30% des cas ou c-Kit dans 3-5% des cas) et/ou des protéines clés de la signalisation (N-RAS et K-RAS, dans 20% des cas) conduisent à des signaux prolifératifs et de survie cellulaire. Elles sont classiquement associées à des mutations de classe II impliquant des facteurs de transcription qui interfèrent sur les processus de différenciation. Ainsi, les cellules leucémiques présentent certaines voies de signalisation intracellulaire constitutivement actives conduisant à une survie et à une prolifération accrue. Les mécanismes de transduction du signal impliquant les MAPK (mitogen-activated protein kinases), le signal STAT3et5 (transducer and activator of transcription), NFjB (nuclear factor jB) ou, les PI3K (phospho-inositides3-kinases) et Akt (PKB) sont souvent mis en jeu dans les LAM [9].

## **2. Présentation clinique [2]**

La prolifération de cellules leucémiques anormales et leur impact sur l'hématopoïèse normale conduit aux symptômes observés dans les LAM [10]. Le début est assez brutal. L'ancienneté des troubles est rarement supérieure à un mois [11] mais peut remonter à plusieurs mois dans les formes peu évolutives. Une phase de myélodysplasie MDS existerait dans 10-15 % des cas. La LAM est parfois asymptomatique en dehors d'anomalies de la numération. Le tableau clinique, parfois évocateur d'un type FAB «*French-American-British classification*», résulte de l'insuffisance médullaire et de l'infiltration blastique [8] :

➤ **Signes généraux [12]**

Altération de l'état général, rarement fièvre spécifique et des Manifestations liées aux cytopénies :

- Anémie, parfois profonde, mais bien tolérée car de constitution progressive ; plus rarement l'anémie est aiguë, secondaire à une hémorragie. On observe donc une asthénie et une dyspnée d'effort plus ou moins marquée. La prise en charge de l'anémie des hémopathies malignes représente, chez les sujets âgés, une part capitale du traitement de ces patients [13].
- Fièvre, d'origine infectieuse surtout si la **neutropénie** est inférieure à  $500/\text{mm}^3$ .
- Syndrome hémorragique causés par une **thrombopénie**. Les hémorragies viscérales ou cérébro-méningées sont rares en l'absence de CIVD (coagulation intravasculaire disséminée) associée. Les troubles de l'hémostase sont fréquents dans les LAM3 où le pronostic vital est mis en jeu.

➤ **Syndrome tumoral :**

Présent dans plus de 50 % des cas. Il est plus souvent important dans les LAM4 ou les LAM5 et habituellement absent dans les LAM3. Il associe hépatomégalie (HMG) et splénomégalie (SMG). Une très volumineuse SMG doit faire évoquer une LMC acutisée d'emblée [11]. Des adénopathies superficielles ou profondes sont rares en dehors des LAM4 et LAM5. Elles sont symétriques, fermes, indolores, mobiles, et peuvent toucher toutes les aires.

➤ ***Envahissement extra-hématologique***

L'hypertrophie gingivale est un aspect fréquent et caractéristique des variétés monoblastiques [14,15,16]. Les localisations cutanées (leucémides), sous forme de papules fermes voire dures, violacées, sont également plus fréquentes dans les LAM5 et les LAM4 [17,18]. Une atteinte du système nerveux central (SNC) existe dans 5 à 15 % des cas. Elle est le plus souvent asymptomatique. Les manifestations cliniques les plus fréquentes sont un syndrome méningé, une hypertension intracrânienne ou des signes focaux en cas de chlorome (tumeur blastique) à localisation paraméningée, orbitaire en particulier. L'envahissement du SNC est plus fréquent dans les LAM4, les LAM5 et les formes hyperleucocytaires. Une fréquence plus élevée de chlorome a été signalée dans les LAM2 avec t(8 ;21) [19] et chez les moins de 2 ans. Un chlorome isolé est parfois révélateur d'une LAM ; classiquement, on parlait de «sarcome granulocyttaire ». Une blastose médullaire sera d'apparition constante dans l'évolution. L'atteinte testiculaire initiale est très rare dans les LAM. L'atteinte osseuse est rare également en dehors des LAM7 sauf acutisation d'un syndrome myéloprolifératif ou myélodysplasique [11].

➤ ***Manifestations liées à un syndrome de leucostase***

Elles sont plus fréquentes que dans les leucémies aiguës lymphoblastiques LAL du fait de la plus grande taille et de la moindre déformabilité des blastes, en particulier dans les LAM4 et M5. Le syndrome de leucostase (SDL) s'observe dès que la leucocytose dépasse 100 000/mm<sup>3</sup> et est particulièrement à redouter en cas de temps de doublement rapide. Le SDL associe leucostase pulmonaire : détresse respiratoire, hypoxie et aspect de pneumopathie alvéolo-interstitielle ;

leucostase cérébrale avec troubles de conscience, convulsions, ataxie, nystagmus, troubles sensoriels, signes focaux en cas de chlorome, et risque majeur d'hémorragie intracérébrale ; parfois nécroses périphériques (doigts) ou priapisme [3].

### **3. Bilan biologique**

#### **3.1 Hémogramme (NFS) [3]**

Il montre le plus souvent une atteinte des trois lignées. L'anémie est normochrome, normocytaire ou macrocytaire, non régénérative. Une thrombopénie est fréquente, parfois majorée par une CIVD. La leucocytose est variable [11] ; 20 % des LAM sont hyperleucocytaires à plus de 100 000/mm<sup>3</sup>. Une leucopénie est habituelle dans les LAM3. Le frottis révèle le plus souvent une blastose circulante. Peuvent être présentes : une myélémie, une éosinophilie ou une basophilie. Rarement la numération formule sanguine (NFS) est normale ou une seule lignée sera concernée.

#### **3.2. Immunophénotype [3]**

L'étude de l'immunophénotype des LAM a moins d'importance pratique que dans le cas des LAL. Néanmoins, l'immunotypage des blastes de LAM par cytométrie de flux apporte des éléments diagnostiques et pronostiques importants [20].

Certaines entités particulières ont été décrites : positivité d'un marqueur lymphoïde B, le CD19, dans les LAM2 avec t(8 ;21); positivité d'un marqueur lymphoïde T, le CD2, dans les LAM4 avec inv(16), et fréquence des formes biphénotypiques dans les LA avec anomalie de la bande 11q23.

### **3.3. Le myélogramme [3]**

Le myélogramme est l'examen clé pour le diagnostic des LAM [11]. Celui-ci doit objectiver une infiltration blastique supérieure à 20 %. Il peut exister, de façon associée, des signes de dysmyélopoïèse sur les 3 lignées. Les corps d'Auer (inclusions allongées azurophiles) sont pathognomoniques d'une hémopathie myéloïde. Ils sont retrouvés dans les types M1, M2, M3 et M4. Une éosinophilie médullaire est présente dans les M4Eo, et parfois les LAM2. L'existence d'hématies en larme fait évoquer une fibrose médullaire, à affirmer par une biopsie. Elle est fréquente dans les LAM7 où elle est secondaire à la sécrétion de TGF- $\beta$  et de PDGF par les blastes. Ces derniers ont un aspect pseudolymphoïde (L2) et leur identification doit faire appel à la recherche des myéloperoxydases plaquettaires, à l'immunophénotype et à la microscopie électronique.

### **3.4 Etude cytochimique**

La recherche de myéloperoxydases (MPO) est fondamentale. Les MPO sont positives dans les types M1, M2, M3, et M6. Les estérases sensibles au fluorure de calcium sont positives dans les types M4 et M5. La terminal-désoxynucléotidyl-transférase (TdT) est négative dans 80 % des LAM, alors qu'elle est positive dans la plupart des LAL.

## **II. CLASSIFICATION DES LAM**

### **1. La classification FAB des LAM**

La classification FAB (franco-américano-britannique), établie il y a plus de 30 ans, demeure la base du diagnostic morphologique des LAM. Purement morphologique, cette classification s'applique au laboratoire quand on ne dispose d'aucun renseignement clinique et/ou cytogénétique.

L'intérêt longtemps porté à cette classification est dû à sa relative simplicité basée sur une description morphologique simplifiée, après coloration des frottis de sang et de moelle par le May Grünwald Giemsa complétée par des examens cytochimiques [21]. Elle classe les LAM en 8 sous-groupes de M0 à M7 (**Tableau I**) en fonction des caractéristiques des blastes médullaires et de leur degré de différenciation. Le type de la classification FAB ne semble pas être un paramètre pronostique indépendant de la cytogénétique et de la biologie moléculaire. Toutefois, les LAM de phénotype rare, incluant LAM0, LAM6 et LAM7 (à l'exclusion des LAM7 des syndromes de Down) sont associées à un mauvais pronostic aussi bien en termes d'obtention que de durée de rémission complète (RC). Le mauvais pronostic des LAM0 s'explique en partie par le fait qu'elles sont généralement observées dans une population plus âgée et associées à une fréquence plus élevée de caryotypes de mauvais pronostic. Classiquement, les LAM5 sont également associées à un pronostic plus défavorable.

Cette classification ne présente qu'un intérêt morphologique car elle regroupe des LAM d'aspect et d'évolution clinique très hétérogène et elle ne guide pas le clinicien dans le choix d'une stratégie thérapeutique, à l'exception de la LAM-M3.

**Tableau I** : Classification FAB des LAM [11].

<b>Type FAB</b>	<b>Stade de maturation</b>
LAM-M0	LAM indifférenciée
LAM-M1	LAM myéloblastique sans maturation
LAM-M2	LAM myéloblastique avec maturation
LAM-M3	LAM promyélocytaire
LAM-M4	LAM myélomonocytaire
LAM-M4Eo	LAM-M4 à différenciation éosinophile
LAM-M5	LAM monocytaire
LAM-M6	érythroleucémie
LAM-M7	LAM mégacaryoblastique

## **2. Classification OMS (Organisation Mondiale de la Santé)**

### **2.1 Classification OMS 2001 [1 ,22 ,23]**

A l'addition des données morphologiques et immunophénotypiques déjà utilisées dans la précédente classification FAB, la classification de l'organisation mondiale de la santé OMS 2001, a pris en considération les données génétiques et cliniques. Cette première orientation se manifeste avec la décision de créer une catégorie de «LAM avec anomalies génétiques récurrentes». Cette classification a aussi intégré des données cliniques (antécédent de syndrome myélodysplasique ou de traitements préalables sous chimiothérapie ou radiothérapie). La dernière majeure modification apportée, concerne le pourcentage minimal de blastes dans la moelle requis pour le diagnostic d'une LAM qui est passé de 30% définie par la classification FAB à 20%.

Des entités ayant des caractéristiques morphologiques, immunophénotypiques, génétiques et cliniques particuliers ont été regroupées formant ainsi 4 groupes principaux (Tableau II).

**Tableau II** : Classification OMS 2001 des LAM [24]

LAM avec anomalies génétiques récurrentes	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Leucémie aiguë myéloïde avec t(8;21) (q22;q22)</li> <li>- Leucémie aiguë myéloïde avec inv 16 (p13;q22) ou t(16;16) (p13;q22)</li> <li>- Leucémie aiguë myéloïde avec t(15;17) (q22;q12)</li> <li>- Leucémie aiguë myéloïde avec anomalies du gène MLL</li> </ul>
LAM avec signes de dysplasie sur plusieurs lignées	
LAM secondaires a un traitement cytotoxique par chimiothérapie ou radiothérapie	<ul style="list-style-type: none"> <li>- LAM secondaire à un traitement alkylant ou à une irradiation.</li> <li>- LAM secondaire à un traitement par un inhibiteur de la topoisomérase II</li> </ul>
Autres types de LA	<ul style="list-style-type: none"> <li>- LAM peu différenciée (LAMO)</li> <li>- LAM sans maturation (LAM1)</li> <li>- LAM avec maturation (LAM2)</li> <li>- LA myélomonocytaire (LAM4)</li> <li>- LA monoblastique et monocytaire (LAM5 a et b)</li> <li>- LA érythroïde</li> <li>- LA mégacaryoblastique (LAM 7)</li> <li>- Formes rares (LA à basophiles / LA avec myélofibrose / Sarcome granulocytaire)</li> <li>- LA biphénotypique</li> </ul>

## **2.2. Classification OMS 2008 [25,26,27,28]**

La 4ème édition de la classification de l'OMS des hémopathies malignes 2008, recommande de porter le diagnostic après une étude multidisciplinaire confrontant clinique, biologie, étude cytologique, histopathologique, immunophénotypique et si possible cytogénétique et biologie moléculaire.

Les changements apportés à cette classification révisée incluent des changements de nomenclature, des clarifications, des corrections et/ou des changements des critères de diagnostic, déplacement de quelques maladies d'une catégorie à une autre, et l'introduction de nouvelles entités provisoires. Le phénotype immunologique des cellules blastiques est un des paramètres de la nouvelle classification de l'OMS de 2008 (**Tableau III**) [29].

### *a) LAM avec anomalies cytogénétiques récurrentes*

- LAM avec t(8 ;21)(q22 ;q22)

Comme dans la plupart des LAM, le tableau clinique est dominé par les signes d'insuffisance médullaire ; la leucocytose est le plus souvent modérée et s'accompagne parfois d'un syndrome tumoral extramédullaire, en particulier un chlorome, qui peut être inaugural de la maladie ou survenir durant l'évolution. Sur le plan morphologique, il s'agit typiquement d'une LAM2 dite «avec maturation» (40% des LAM2 présente une t(8 ;21)(q22 ;q22)) [30] , qui associe aux blastes des éléments anormaux de maturation granuleuse jusqu'aux polynucléaires. Cette LAM se distingue morphologiquement des autres LAM avec maturation sans t(8 ;21) par l'aspect particulier des blastes, le type de dysgranulopoïèse et l'absence de composante monocytaire. Quelques cas de myélodysplasie de type AREB et LAM avec différenciation monocytaire avec t(8 ; 21) ont été rapportés. La translocation t(8 ; 21) résulte de la fusion du gène ETO sur le bras long du chromosome 8 et du gène AML1 sur le bras long du chromosome 21[31]. Une bonne réponse aux traitements par chimiothérapie et un taux élevé de rémission caractérise ces LAM.

**Tableau III** : classification OMS 2008 des LAM [23]

LAM avec anomalies génétiques récurrentes <ul style="list-style-type: none"><li>- Leucémie aiguë myéloïde avec t(8;21) (q22;q22)</li><li>- Leucémie aiguë myéloïde avec inv 16 (p13;q22) ou t(16;16) (p13;q22)</li><li>- Leucémie aiguë myéloïde avec t(15;17) (q22;q12)</li><li>- Leucémie aiguë myéloïde avec anomalies de 11q23 (MLL)</li></ul>
LAM avec signes de dysplasie sur plusieurs lignées
LAM et SMD secondaires à la thérapeutique
LAM non classées précédemment <ul style="list-style-type: none"><li>- LAM peu différenciée</li><li>- LAM sans maturation</li><li>- LAM avec maturation</li><li>- LA myélomonocytaire</li><li>- LA monoblastique et monocytaire</li><li>- érythroleucémie</li><li>- LA mégacaryoblastique</li><li>- LA à basophiles</li><li>- Myélofibrose aiguë</li><li>- Sarcome myéloïde</li></ul>

- LAM avec inv(16)(p13 ;q22) ou t(16.16)(p13 ;q22)

Elle représente 10 à 12% des cas de LAM et survient aussi bien chez l'enfant que chez l'adulte. Chez ces patients souvent hyperleucocytaires, une bonne réponse aux traitements par chimiothérapie et un fort pourcentage de rémission complète RC sont observés [32]. Les localisations neuroméningées lors des rechutes ne sont pas rares. Sur le plan morphologique, il s'agit dans sa forme typique, d'une LAM avec composante monocyttaire (leucémie aigue myélomonocytaire) associée à une maturation éosinophile médullaire anormale dont le taux peut varier de 3 à 30% (M4Eo). L'inversion 16 et la translocation t(16 ;16) résultent de la fusion du gène CBF sur le bras court du chromosome 16 et du gène MYH11 sur le bras long du chromosome 16 (Figure 2). Cytogénétiquement, l'inv (16) est difficile à mettre en évidence justifiant le recours à la technique de FISH (sur chromosomes interphasiques) ou à la biologie moléculaire (RT-PCR) [33].

- LAM promyélocytaire avec t(15 ;17)(q22 ;Q12) ou fusion PML-RAR $\alpha$

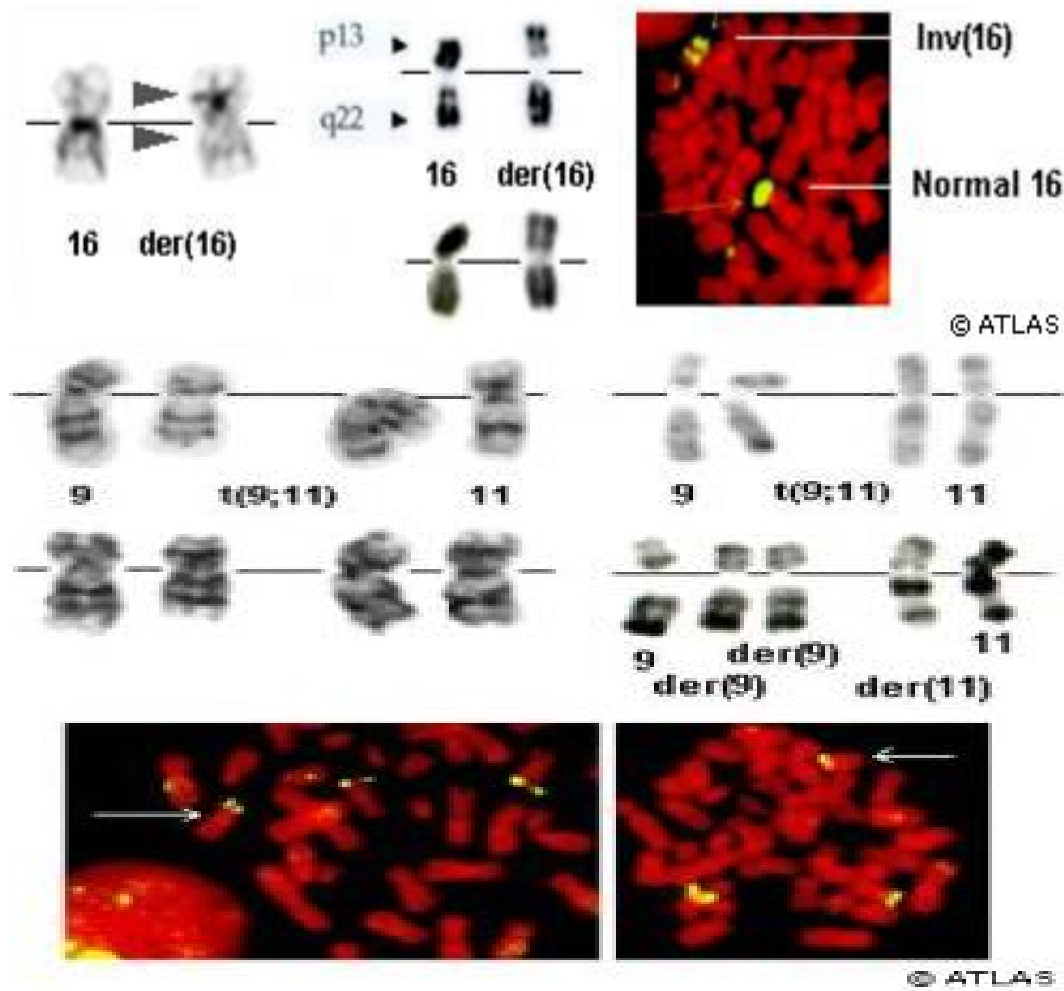
Elle représente de 5 à 8% des cas de LAM et prédomine chez l'adulte d'âge moyen. Le diagnostic est suspecté cliniquement sur l'existence d'un syndrome hémorragique cutanéomuqueux associé à un syndrome biologique de coagulation intravasculaire disséminée CIVD. La gravité de cette LAM3 est donc précoce et nécessite une prise en charge rapide et approprié [34]. La leucopénie est habituelle, avec une neutropénie profonde et de rares blastes circulants, mais des formes hyperleucocytaires sont parfois observées. Les caractéristiques morphologiques des blastes sont bien établies avec, dans sa

forme typique (M3 de la classification FAB), la présence de cellules blastiques hypergranuleuses considérées comme plus mures que les myéloblastes et dont les promyélocytes pourraient représenter l'équivalent normal, d'où le terme «promyélocytaire». Certaines formes plus rares (1 à 2% des LAM), de diagnostic plus délicat car les cellules blastiques sont peu granuleuses et plus indifférenciées, sont dites «hypogranulaires» (M3 variante de la classification FAB) ; elles sont très souvent hyperleucocytaires et de plus mauvais pronostic. La translocation t(15.17) résulte de la fusion du gène PML sur le bras long du chromosome 15 et du gène RAR sur le bras long du chromosome 17 [35]. Cette anomalie peut être détectée par FISH et/ou RT-PCR. Des variantes cytogénétiques ont été décrites, en particulier la t(11 ;17).

- LAM avec t(9 ;11)(p22 ;q23) ou fusion MLLt3-MLL

Cette catégorie incluait initialement l'ensemble des LA comportant une anomalie en 11q23. Dans la classification OMS 2008, les formes avec t(9 ;11)(p22 ;q23) ou MLLt3-MLL sont clairement individualisées. Cette anomalie peut être retrouvée à tout âge, mais elle est plus fréquente chez l'enfant (9% des LAM contre 2% chez l'adulte). Sur le plan morphologique, il s'agit quasi-exclusivement de LA monoblastique, le plus souvent hyperleucocytaires et sont fréquemment associées à des localisations extramédullaires, gingivales et neurologiques.

La t(9 ;11) a été individualisée car son pronostic (intermédiaire-II) est meilleur que celui des LA qui comportent d'autres anomalies de MLL (mauvais pronostic) [26].



**Figure 2** : Les anomalies cytogénétiques t(9 ;11), del(9), inv(16) et der(16) (cytogénétique conventionnelle et FISH) [36]

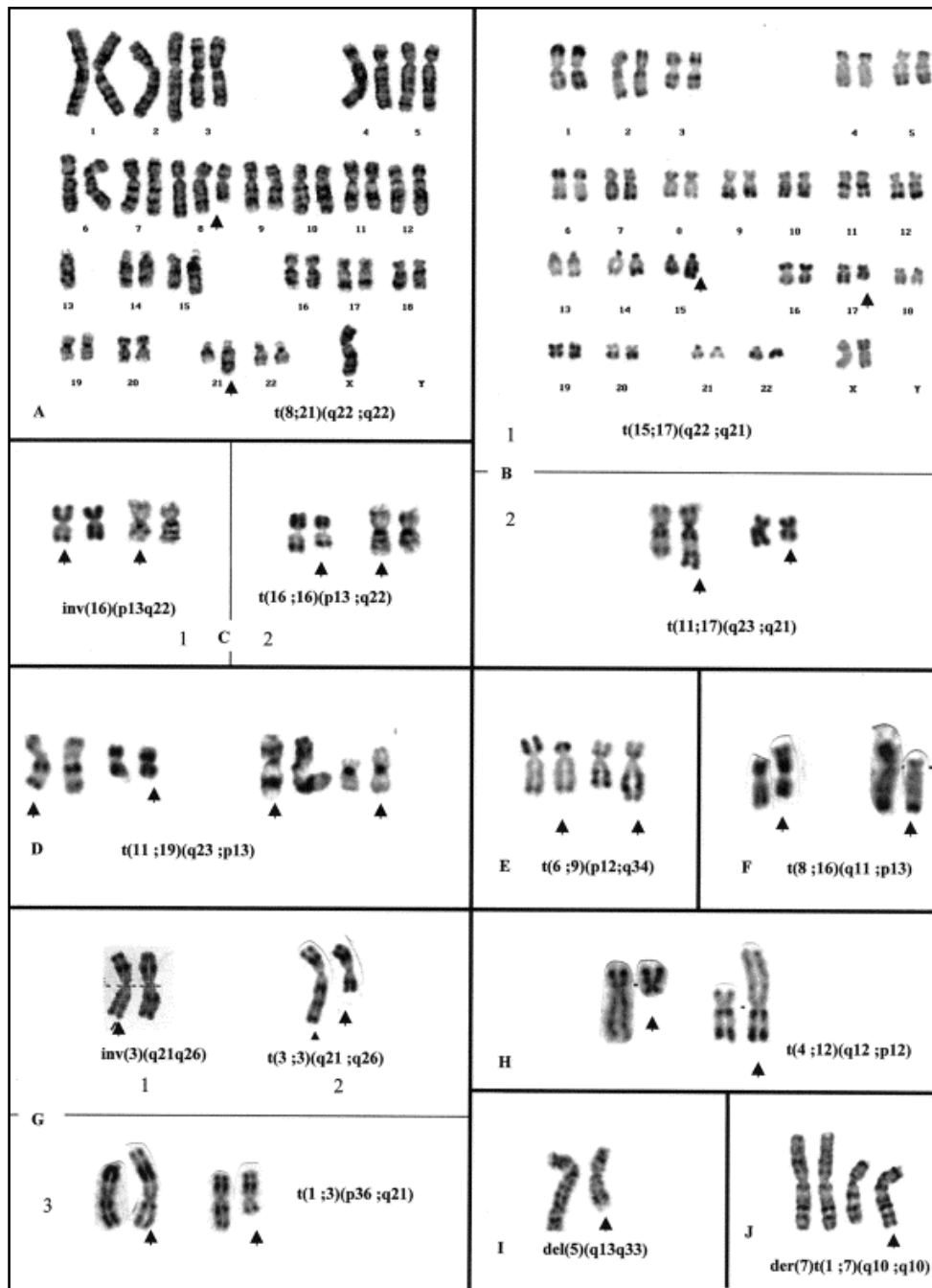
***Trois nouvelles entités cytogénétiques distinctes sont maintenant répertoriées dans la catégorie des LAM avec anomalies génétiques récurrentes :***

- LAM avec t(6;9) (p23;q23) /DEK-NUP214 ; LAM avec inv(3) (q21q26.2) ou t(3; 3) (q21; q26.2) / RPN1-EVI1, et LAM (megacaryoblastique) avec t (1; 22) (p13; q13) / RBM15-MKL1.

Bien que rares, il est essentiel de reconnaître ces translocations, car elles sont caractérisées par une courte survie, sauf transplantation allogénique de cellules souches.

- AML avec t (6;9) (p23;q34)/ fusion DEK-NUP214

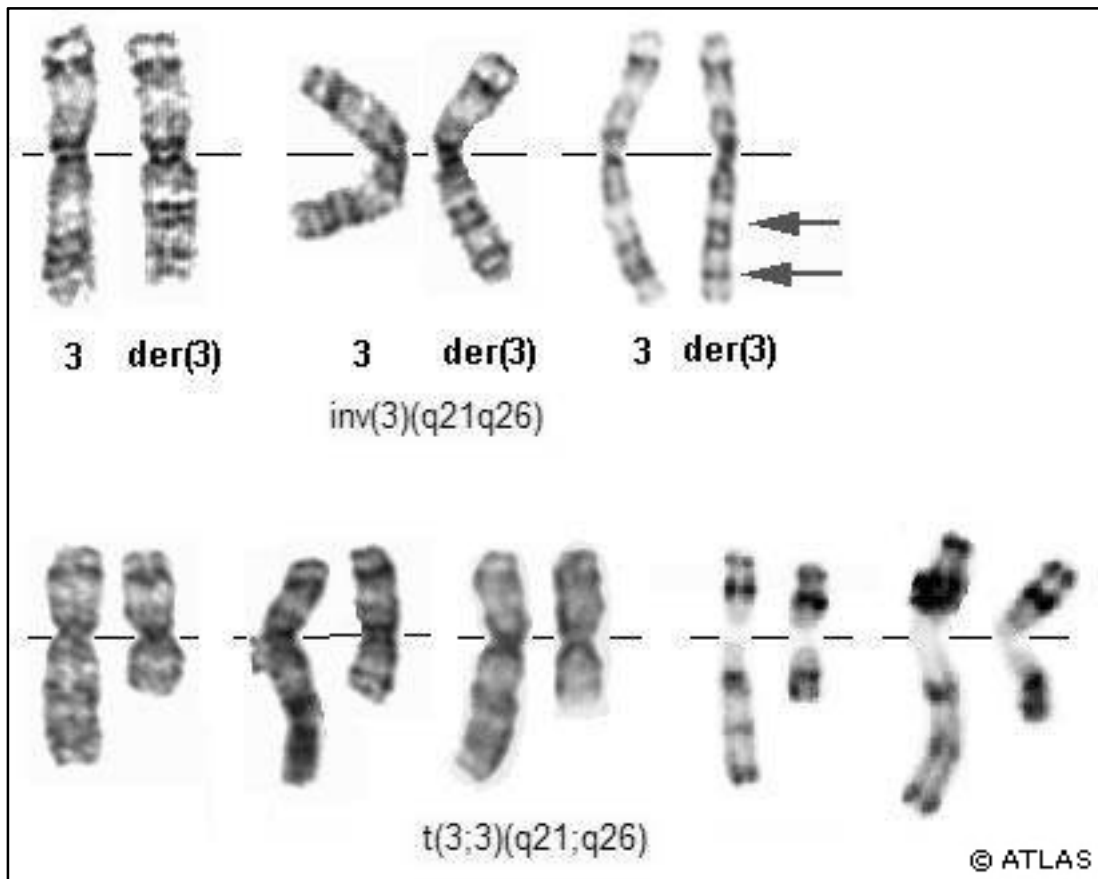
Elle représente 0,5 à 2% des LAM, et s'observe à une fréquence identique chez l'adulte et l'enfant. Dans la majorité des cas, la t (6 ; 9) est la seule anomalie chromosomique ; l'association avec un caryotype complexe est observée chez quelques patients. Un grand pourcentage de cas présente une mutation FLT3-ITD. La LAM avec t(6;9) présente souvent une pancytopenie. Les changements morphologiques les plus significatifs sont basophilie (> 2%) et dysmyélopoïèse. L'immunophénotype est non-spécifique. Comme le pronostic est sombre la greffe de cellules souches allogéniques doit être considérée dès la première rémission complète. La t(6 ;9)(p23 ;q34) est une fusion du gène DEK du chromosome 6 avec le gène codant NUP214(CAN) du chromosome 9.



**Figure 3** : Caryotypes complets et partiels des principales anomalies cytogénétiques observées dans les LAM [28].

- LAM avec inv (3) (q21q26.2) ou t (3; 3) (q22; q26.2) / fusion RPN1-EVI1

Elle représente 1 à 2% de la LAM, pouvant être une LAM de novo ou survenir après une phase myélodysplasique. Les anomalies chromosomiques impliquent l'oncogène EVI1 (ou sa forme plus longue MDS1-EVI1) sur 3q26.2 et RNP1 sur 3q22 (**Figure 4**). La monosomie 7 est l'aberration chromosomique la plus communément associée à cette classe ; D'autres anomalies chromosomiques sont détectées comme les délétions 5q et caryotypes complexes. La plupart des patients présentent une anémie et une numération plaquettaire normale. Les caractéristiques morphologiques des cellules blastiques sont celles des LA sans maturation, une dysmyélopoïèse est fréquente et on note la présence de nombreux micromégacaryocytes en amas. L'immunophénotype est non-spécifique. Les cellules blastiques expriment fréquemment CD13, CD33, HLA-DR et CD34; l'expression aberrante de marqueurs lymphoïdes comme CD7 est parfois observée. Cliniquement, LAM avec inv (3) (q21q26.2) ou t(3; 3)(q21; q26.2) est une maladie agressive avec un mauvais pronostic qui peuvent bénéficier d'une allogreffe de moelle osseuse.



**Figure 4** : Caryotype des anomalies cytogénétiques t(3 ;3) et del (3) [36]

- AML t(1;22)(p13;q13)/RBM15-MKL1LAM avec t (1; 22) (p13; q13) / fusion RBM15-MKL1 (LAM mégacaryoblastique)

Cette entité représente <1% des LAM. Dans la plupart des cas, la seule anomalie chromosomique est t (1; 22) (p13; q13) qui résulte de la fusion du gène (RBM15) avec le gène (MKL1). La protéine de fusion codée est tenue responsable d'induire la transformation des cellules hématopoïétiques par la déréglementation de l'activité transcriptionnelle. Ceci est habituellement une LAM de novo qui survient généralement chez les nourrissons ou jeunes enfants préférentiellement de sexe féminin, avec la plupart des cas observés dans les 6

premiers mois de vie (médiane, 4 mois)). Les caractéristiques morphologiques et phénotypiques de cellules blastiques sont habituellement celles observés dans les leucémies aiguës megacaryoblastique LAM7. Cependant, les nourrissons ou les enfants touchés ne présentent pas le syndrome de Down. Des rapports préliminaires suggèrent un mauvais pronostic, mais des études plus récentes montrent qu'une chimiothérapie intensive a été associée avec de longues survies.

***Deux nouvelles entités provisoires ont été ajoutées à la catégorie des LAM avec anomalies récurrentes.***

- LAM avec mutation de nucleophosmine (NPM1)

Elle représente environ 30% des LAM (50-60% des cas présentent un caryotype normal). C'est normalement une leucémie de novo. L'incidence des LAM avec NPM1 muté est plus élevée chez les adultes que chez les enfants (30% vs 7%). Nucleophosmine (NPM) est un gène essentiel codant pour une protéine nucléaire impliquée dans de multiples fonctions dont la stabilisation de p14ARF protéine suppresseur de tumeurs, la régulation de biogenèse de ribosome, et le contrôle de la duplication de centrosome ; Presque toutes les mutations (50 variantes moléculaires jusqu'au là identifiées) se produisent sur l'exon – 12 du gène NPM1 et causent des changements critiques de la protéine C-terminus du gène NPM1. Les altérations que subit NPM1 conduit à l'accumulation des NPM1 mutant au niveau du cytoplasme des cellules, ce qui est critique dans la leucémogénèse. Malgré que le mécanisme de transformation n'est pas encore clair, le gène NPM1 muté peut activer l'oncogène c-Myc et augmente la dégradation de l'oncosuppresseur ARF. Le patient se présente

habituellement avec un nombre élevé de globules blancs; la pancytopénie est rare. La plupart des cas montrent une moelle hypercellulaire. Les infiltrations leucémiques dans la moelle sont rares ainsi que la fibrose médullaire. Les blastiques présentent souvent des caractéristiques myélomonocytaire ou monocytaires avec une dysplasie touchant deux ou plusieurs lignées dans environ 23% des cas.

Sauf présence d'une mutation FLT3-ITD concomitante, le pronostic LAM avec NPM1 muté est favorable ; elle montre habituellement une réponse favorable au traitement d'induction

- LAM avec mutation du gène CEBPA

Habituellement, une leucémie de novo. Cette maladie représente environ 10% des LAM avec caryotype normal. Physiologiquement, le gène CEBPA (*CCAAT/enhancer binding protein  $\alpha$* ) code pour un facteur de transcription qui joue un rôle clé dans le contrôle de l'auto-renouvellement et de l'engagement dans une lignée de cellules souches hématopoïétiques. Les mutations du gène CEBPA contribuent à la leucémogénèse en induisant la prolifération et en bloquant l'engagement dans la lignée myéloïde. Les deux mutations les plus fréquentes sont:

- insertions out-of-frame et délétions dans la région N-terminale
- des suppressions dans la région C-terminale.

Comme pour AML avec mutation du gène NPM1, le bon pronostic des patients avec CEBPA double mutant semble être abrogé par une mutation concomitante de FLT3-ITD.

*b) LAM associée à des anomalies évoquant une myélodysplasie*

Préalablement connue sous le nom de «LAM avec dysplasie multilignée», cette catégorie a connu un changement de nomenclature dans le but de souligner l'importance biologique et clinique des paramètres autres que la dysplasie multilignée, lorsqu'on affecte un cas à cette catégorie. En effet, un patient est maintenant diagnostiqué comme ayant LAM liés à une anomalie myélodysplasique si un ou plusieurs des critères suivants sont remplis:

- Une histoire bien documentée de syndrome myélodysplasique (SMD)
- Présence d'une dysplasie sur > 50% des cellules de deux ou plusieurs lignées myéloïdes
- Présence d'anomalies cytogénétiques liées à une MD.
- Absence de chimiothérapie ou de radiothérapie antérieures pour une maladie non reliés.

Habituellement survenant chez les personnes âgées, LAM avec changements liés à MD présente souvent une pancytopenie sévère. Des anomalies cytogénétiques qui permettent le diagnostic de LAM avec changements liés à MD sont répertoriées dans le (**Tableau IV**).

**Tableau IV** : Anomalies cytogénétiques suffisantes pour diagnostiquer LAM avec altérations liés aux MD \* [28]

<b>Caryotype complexe</b>	
<b>**Anomalies déséquilibrées</b>	<b>Anomalies équilibré</b>
-7/del (7q)	t (11; 16) (q23; Q13.3) #
-5/del (5q)	t (3; 21) (q26.2; q22.1) #
t(17q)/t (17p)	t (1; 3) (p36.3; q21.1)
-13/del (13q)	t (2; 11) (p21 ; q23) #
del (11q)	t (5; 12) (q33; p12)
del (12p) / t (12p)	t (5; 7) (q33; q11.2)
del (9q)	t (5; 17) (q33; p13)
idic (X) (q13)	t (5; 10) (q33; q21)
	t (3; 5) (q25; q34)
<p>* blastose <math>\geq 20\%</math> doit être présents.</p> <p>** <math>\geq 3</math> anomalies non apparentées.</p> <p># AML thérapie-induites fréquemment associés à ces anomalies chromosomiques devraient être exclus.</p>	

c) LAM induites

La seule différence avec la classification OMS 2001, est que les cas ne sont plus séparés en fonction de l'agent thérapeutique. Ceci est en accord avec l'observation que la plupart des patients qui développent une AML thérapeutiquement induite avaient été traités avec une chimiothérapie qui comprenait deux agents alkylants et les inhibiteurs de la topoisomérase. Ces LAM portent habituellement les mêmes aberrations chromosomiques que LAM avec anomalies génétiques récurrentes ou LAM avec altérations liés au SMD. Le fait de les avoir regroupés dans une catégorie distincte est dû, à leur pronostic nettement moins bons que leurs homologues de novo à l'exception de LAM avec inv (16) / t (16; 16) ou t (15; 17).

d) Leucémie myéloïde aiguë, sans aucune particularité

Lorsque des cas ne répondent pas aux critères d'inclusion des autres entités LAM de la classification de l'OMS, ils sont affectés à cette catégorie, selon des critères morphologiques, cytochimiques et immunophénotypiques. Dans la classification OMS 2001, cette catégorie intégrait 50 à 60% des LAM, car elle contenait tous les LAM à caryotype normal LAM-CN.

Les variantes morphologiques des LAM non spécifiées ailleurs sont les mêmes que celles décrites dans la classification OMS 2001. Toutefois, pour diagnostiquer une LAM, le taux de blastes doit être supérieur ou égal à 20 %, les cas comportant moins de 20 % de blastes étant rattachés aux SMD (**Tableau V**).

**Tableau V : Leucémies myéloïdes aiguës non spécifiées ailleurs [25]**

<b>Leucémies myéloïdes aiguës non spécifiées ailleurs</b>
LAM peu différenciée (LAM0)
LAM sans maturation (LAM1)
LAM avec maturation (LAM2)
leucémie aiguë myélomonocytaire (LAM4)
leucémie aiguë monoblastique et monocytaires (LAM5a et b)
leucémie aigue érythroïde
leucémie aiguë mégacaryoblastique (LAM7)
leucémie aiguë à basophiles

La nécessité de ce groupe a été fortement débattu parce qu'il n'y avait pas de preuve concluante que les critères morphologiques et cytochimiques qui ont été utilisés pour distinguer les cas eu aucun impact clinique. Toutefois, LAM-NSA a été maintenu pour fournir un cadre minimal pour le diagnostic. Cela est particulièrement vrai pour les pays en développement, où le diagnostic de la LAM est encore principalement basé sur la morphologie et la cytochimie. Par ailleurs, ces critères sont les seuls disponibles pour le diagnostic d'érythroleucémie.

e) Autres entités

La classification OMS 2008 a introduit trois nouvelles entités distinctes.

**Sarcome myéloïde granulocytaire**

Le sarcome myéloïde est une entité distincte dans la classification OMS 2008. Il s'agit d'une tumeur faite de blastes myéloïdes dans un territoire extramédullaire, qui peut précéder ou accompagner l'atteinte médullaire. N'importe lesquelles des altérations génétiques décrites dans les LMA peuvent être trouvées dans le sarcome granulocytaire, mais elles sont souvent difficiles à démontrer. Environ 16% des cas montrent une expression cytoplasmique de nucléophosmine, indiquant qu'ils portent une mutation de NPM1.

**Leucémies aiguës à cellules dendritiques plasmocytoïdes**

Elles sont définies par leur immunophénotype, qui associe à la co-expression par les blastes de CD4,CD56,CD43,CD123,BDCA et TCL1, la négativité des marqueurs T (CD3 et CD5), des marqueurs B (CD19 et CD20) et des marqueurs myéloïdes (CD13 et MPO). Ces leucémies sont caractérisées cliniquement par la grande fréquence des lésions cutanées, souvent inaugurales de la maladie, parfois associées à des adénopathies ou à une splénomégalie. L'infiltration médullaire est fréquente au diagnostic ou d'apparition rapide au cours de l'évolution. Les anomalies chromosomiques sont complexes, avec des remaniements impliquant fréquemment les chromosomes 5 et 9. Quel que soit le type de traitement, ces LAM ont un pronostic défavorable.

**Proliférations myéloïdes et trisomie 21**

Les patients atteints de trisomie 21 ont un risque de développer une LA multiplié par 100, voire 150 pour les LAM. Les caractéristiques cliniques et biologiques très particulières de ces proliférations ont justifié leur individualisation au sein de la classification OMS 2008.

- Anomalie transitoire de l'hématopoïèse (TAM)

Sur le plan biologique, on ne peut pas les distinguer à priori des LAM de la trisomie 21. Leur seule caractéristique est, comme leur nom l'indique, qu'elles sont transitoires, avec des rémissions spontanées. Seuls 20% à 30% de ces enfants vont développer une leucémie myéloïde dans les 3 ans qui suivent, et les indications de la chimiothérapie ne sont pas clairement établies.

- Leucémies myéloïdes associées à la trisomie 21

La majorité des enfants ont moins de 5 ans. Les atteintes extramédullaires sont fréquentes. Une thrombopénie et des signes de dysmyélopoïèse précèdent le plus souvent la leucémie myéloïde. Il faut souligner qu'un pourcentage de blastes supérieur à 20% n'est pas obligatoire pour le diagnostic. Les blastes présentent les critères morphologiques et phénotypiques des mégacaryoblastes, permettant le classement en LAM7 si la blastose est supérieure à 20%. En plus la trisomie 21 constitutionnelle, une mutation acquise de GATA1 est constamment retrouvée, que ce soit dans la forme leucémique ou dans la forme transitoire (TAM).

Ces Leucémies sont très chimiosensibles, en particulier à la cytarabine, et leur pronostic est favorable.

*f) Leucémies aiguës de lignée indéterminée*

Ce dernier groupe est très rare (<3%) et ne concerne en pratique que des spécialistes en oncohématologie.

- Leucémies aiguës indifférenciées [AUL] («*acute indifferntiated leukemia*»)

Comme leur nom l'indique, elles sont morphologiquement inclassables et phénotypiquement, les blastes n'expriment aucun des marqueurs forts de lignée, à savoir : la MPO (myéloïde), CD3 (lignéeT), CD22, CD79A ou CD19 d'intensité forte (lignéeB).

- Leucémies aiguës de phénotype mixte [MPAL] (*«mixed phenotype acute leukemia»*)

Ce sont des LA qui comportent soit une double population de blastes, myéloïde et lymphoïde (B ou T), soit une seule population de blastes ayant à la fois des marqueurs myéloïdes et lymphoïdes B/T.

Des leucémies impliquant les trois lignées (M, B et T) ont également été décrites.

Dans ce sous-groupe de LA mixtes, les patients présentant soit un chromosome Philadelphie ou fusion BCR/ABL, soit une translocation ou un réarrangement impliquant le gène MLL sont clairement identifiés.

- Autres leucémies aiguës

Sont incluses dans cette catégorie les LA ne répondant pas aux critères d'AUL ou MPAL. La plus fréquente (<0,1%) est l'entité provisoire leucémie à cellules NK (Natural killer).

Le diagnostic repose sur l'expression du CD56 avec co-expression du CD7 et/ou CD2 et quelquefois du CD3, et l'absence d'expression d'antigènes lymphoïde B ou myéloïde.

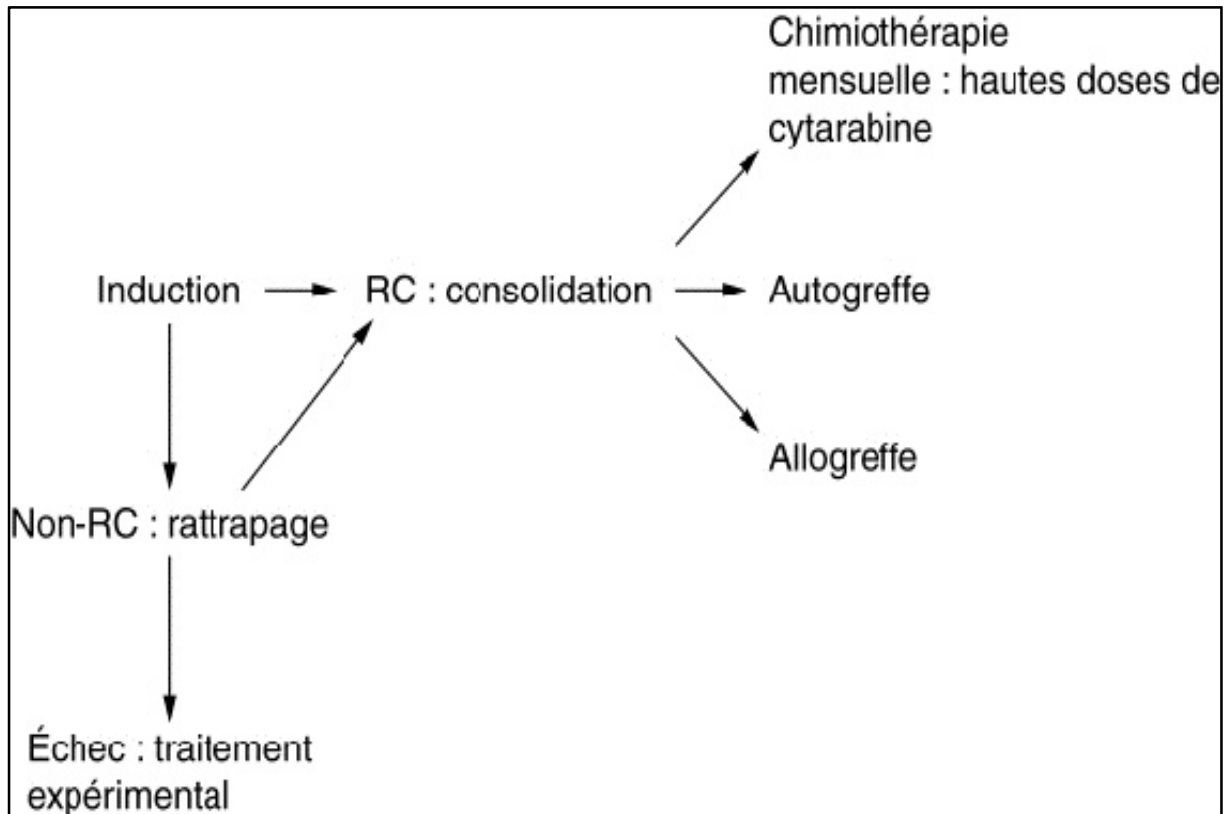
### **III. ATTITUDE THERAPEUTIQUE [38]**

L'objectif des traitements des LAM est l'éradication définitive de la maladie ou à défaut le prolongement de la survie. La mesure de la survie est un marqueur fondamental pour l'évaluation de l'efficacité des traitements. Différents critères de survie sont utilisés et font l'objet d'une codification internationale [39]. Depuis près de 30 ans, le standard de traitement est composé d'une association d'anthracyclines et de cytarabine. Ce traitement est divisé en deux phases (Figure 5) :

**La phase d'induction** qui vise à obtenir une rémission complète (RC). La RC est définie par la disparition des symptômes cliniques de la maladie, une numération formule sanguine normalisée et une moelle présentant moins de 5 % de blastes sans anomalies cytologiques significatives (absence de corps d'Auer notamment). Il a été démontré dès les années 1960 que l'obtention d'une RC définie selon ces critères est associée à un allongement de la survie, et ceci reste vrai chez les patients en rechute ou très âgés.


**La phase de consolidation** qui vise à maintenir cette rémission et à réduire, voire éradiquer la maladie résiduelle. Lorsque cette rémission dure plus de 3 ans, la probabilité de rechute diminue à moins de 10 %.

La rechute est quasi inéluctable en l'absence de traitements de post-rémission, ce qui traduit la persistance d'une maladie résiduelle à l'issue de l'induction. Après une première consolidation utilisant les drogues de la cure d'induction à dose identique ou réduite, ces traitements de post rémission comprennent soit une greffe de cellules souches allogéniques précoce, soit une greffe de cellules souches autologues, soit encore la combinaison de ces dernières.



**Figure 5** : Parcours thérapeutique des leucémies aiguës myéloblastiques [39]

RC : Rémission Complète



*Deuxième partie :  
Les techniques  
cytogénétiques*

Le dénombrement correct des chromosomes humains établi seulement en 1956 a marqué le départ de la cytogénétique moderne. L'introduction des techniques de bandes chromosomiques, puis des techniques d'hybridation in situ et maintenant des micropuces génomiques a permis un développement considérable de la cytogénétique dont l'une des applications les plus importantes est l'étude des hémopathies malignes dont les LAM.

## **I. HISTORIQUE [40,41,42,43,44,45,46]**

Le terme de chromosome a été proposé dès 1888 par Waldeyer [44] pour désigner les éléments colorés visibles au cours de la division cellulaire, et leur dénombrement a longtemps été difficile du fait de l'enchevêtrement des chromosomes visibles à la métaphase. En fait le nombre exact de 46 chromosomes somatiques humains a été établi en 1956 par Tjio et Levan [47] qui utilisèrent la colchicine pour bloquer la mitose au stade de métaphase, rendant possible l'analyse du nombre puis des anomalies de structure des chromosomes et marquant le début réel de la cytogénétique en tant que spécialisation de la génétique. Parallèlement aux découvertes touchant la cytogénétique, les recherches concernant l'ADN ont avancé rapidement, et en 1953, Francis H.Crick et James D.Watson décrivent la structure en double hélice de l'ADN. Après cela les progrès de la génétique seront fulgurants pendant toute la seconde moitié du XXe siècle, avec le passage d'une médecine clinique descriptive au diagnostic cytogénétique et génétique des pathologies. Le caryotype classique est, depuis 1959 et le diagnostic de la trisomie 21, l'analyse de référence en cytogénétique. Cette technique a été la première réalisant une étude pan-génomique, c'est-à-dire une étude permettant une analyse globale de

l'ensemble du génome. En colorant les chromosomes de façon homogène et en les classant selon leur taille et la position des centromères, il a été possible de décrire les anomalies cytogénétiques de nombre des chromosomes et les remaniements de grande taille.

En 1970, la cytogénétique va connaître un nouvel essor grâce aux techniques de marquage chromosomique par fluorescence, d'où le terme d'hybridation in situ fluorescente ou FISH (*Fluorescence In Situ Hybridisation*) qui qualifie cette technique.

Dans les années 1990, la cytogénétique devient moléculaire par l'utilisation de sondes marquées par des fluorochromes (marquage non radioactif), et l'amélioration des microscopes. Le développement des méthodes d'hybridation in situ, ADN ou ARN, a permis la localisation génique et le début de la cartographie physique du génome. En 1992 l'équipe de Dan Pinkel a mis au point une nouvelle technique de cytogénétique appelée hybridation génomique comparative ou CGH. Le développement de l'informatique, des techniques de biologie moléculaire, et la connaissance du génome humain a abouti à l'émergence de CGH-array ou puce (début des années 2000). Plus récemment, sont apparues les techniques de quantification génomique fondées sur la PCR. Leur principe repose soit sur l'analyse du nombre de copie de différentes séquences géniques grâce à la PCR multiplex, ou sur la quantification des transcrits par RT-PCR quantitative.

## **II. CYTOGENETIQUE CONVENTIONNELLE : le caryotype**

Le caryotype est une technique qui permet l'étude des chromosomes d'un individu. Cette technique permet d'obtenir une image, en microscopie optique, des chromosomes d'une cellule au cours de la métaphase ou de la prométaphase de la mitose (Figure 6). En génétique médicale, le caryotype contribue à la mise en évidence de remaniements chromosomiques équilibrés ou déséquilibrés. La résolution d'un caryotype standard est celle d'une bande chromosomique, soit environ 5 à 10 millions de paires de bases (mégabase) [45].

### **1. Les prélèvements**

Pour obtention d'un caryotype, différents prélèvements peuvent être utilisés : moelle osseuse, sang, liquides d'épanchement, ganglions, voire masses tumorales extraganglionnaires.

Néanmoins, dans les leucémies aiguës la moelle osseuse est le prélèvement de choix, le sang périphérique pouvant être utilisé dans les leucémies aiguës avec blastose sanguine.

### **2. Principe et techniques : [41,48]**

#### **2.1. Culture cellulaire**

Afin d'obtenir des cellules en métaphase, le prélèvement est directement mis en culture (1 à 2j le plus souvent) dans un milieu supplémenté en sérum. La culture peut être stimulée par adjonction de diverses chimiques favorisant la prolifération des cellules.

## **2.2. Blocage des cellules en métaphase**

L'étape suivante consiste à bloquer les cellules en métaphase afin de pouvoir observer les chromosomes. Pour cela, on utilise un poison du fuseau mitotique (Colchicine ou dérivés) qui a pour effet de bloquer les cellules au stade métaphasique de la mitose. Les temps d'incubation en présence de colchicine sont également variables, allant de 30 minutes à plusieurs heures.

## **2.3. Choc hypotonique**

Après centrifugation et élimination du surnageant, les cellules sont remises en suspension dans un milieu hypotonique (sérum dilué ou chlorure de potassium dilué, le plus souvent). Celui-ci a pour effet de faire « gonfler » la cellule par flux hydrique entraînant son éclatement. Cette étape est nécessaire à l'obtention d'une dispersion des chromosomes lors de l'étalement.

## **2.4. Fixations/ Etalement**

Les cellules sont fixées, généralement dans un fixateur à base de méthanol et d'acide acétique, puis étalées sur lames. L'acidification du milieu permet l'arrêt du choc cellulaire. La répétition des fixations élimine les débris cellulaires. La préparation est alors étalée en laissant tomber quelques gouttes de la suspension cellulaire sur une lame propre.

## **2.5. Vieillessement des lames**

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

## **2.6. Dénaturation /Coloration**

Les cellules sont ensuite dénaturées et colorées afin de faire apparaître une succession de bandes, caractéristiques de chacun des chromosomes. Les techniques de marquage en bandes des chromosomes (banding), font appel à une dénaturation des protéines chromosomiques, soit par :

- ❖ digestion enzymatique modérée à la trypsine. Elle est la plus utilisée en raison de sa facilité d'obtention et fait apparaître les bandes G en noir et est donc appelée « G-banding »
- ❖ dénaturation thermique ménagée faisant apparaître les bandes R en noir et appelée donc « R-banding »

Dans les deux cas, les bandes ne deviennent visibles qu'après une coloration avec le Giemsa : un marquage « **G** » pour Giemsa ou « **R** » pour Reverse, car les bandes pales en marquage « **G** » apparaissent foncées en marquage « **R** » et vice versa.

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

• **Bandes C** : cette coloration par le Sulfate de Baryum permet de mettre en évidence l' hétérochromatine constitutive, qui correspond à des régions non codantes du génome comme les régions centromériques.

• **Bandes Q** : obtenues après coloration par la moutarde de Quinacrine. Sous UV les chromosomes présentent des bandes fluorescentes, de même que les bandes G.

• **NOR** : cette technique consiste en un dépôt de nitrate d'argent qui met en évidence les organisateurs nucléolaires. Ces structures correspondent aux régions du génome contenant les gènes qui codent pour les ribosomes.

• **Bandes T** : une dénaturation thermique poussée ne laisse persister le marquage qu'au niveau des télomères.

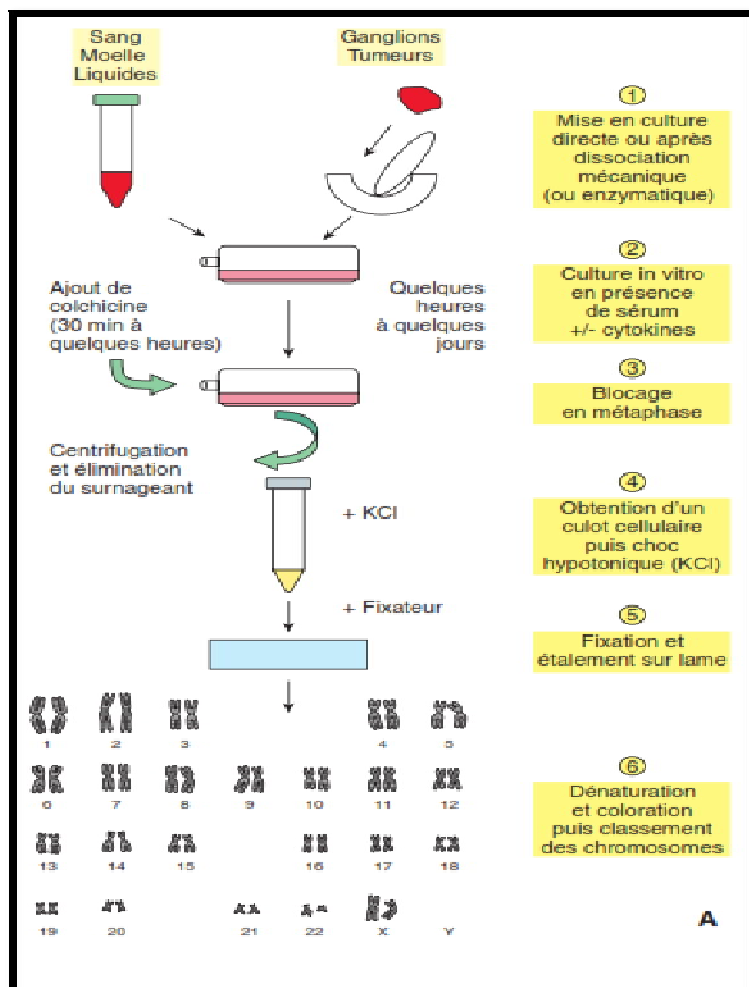


Figure 6 : Étapes de la réalisation du caryotype [45]

KCl : chlorure de potassium.

## **2.7. Analyse et classification**

L'établissement du caryotype a longtemps reposé sur le découpage de chromosomes préalablement photographiés. Maintenant, la plupart des laboratoires disposent de matériel informatique permettant l'acquisition d'images numériques via une caméra, et surtout l'analyse et le classement directement sur l'écran de l'ordinateur. L'analyse d'un certain nombre de métaphases (idéalement au moins 20 par patient) permet d'établir la formule chromosomique du patient. Celle-ci est établie selon une nomenclature internationale régulièrement actualisée.

## **3. Classement des chromosomes métaphasiques :**

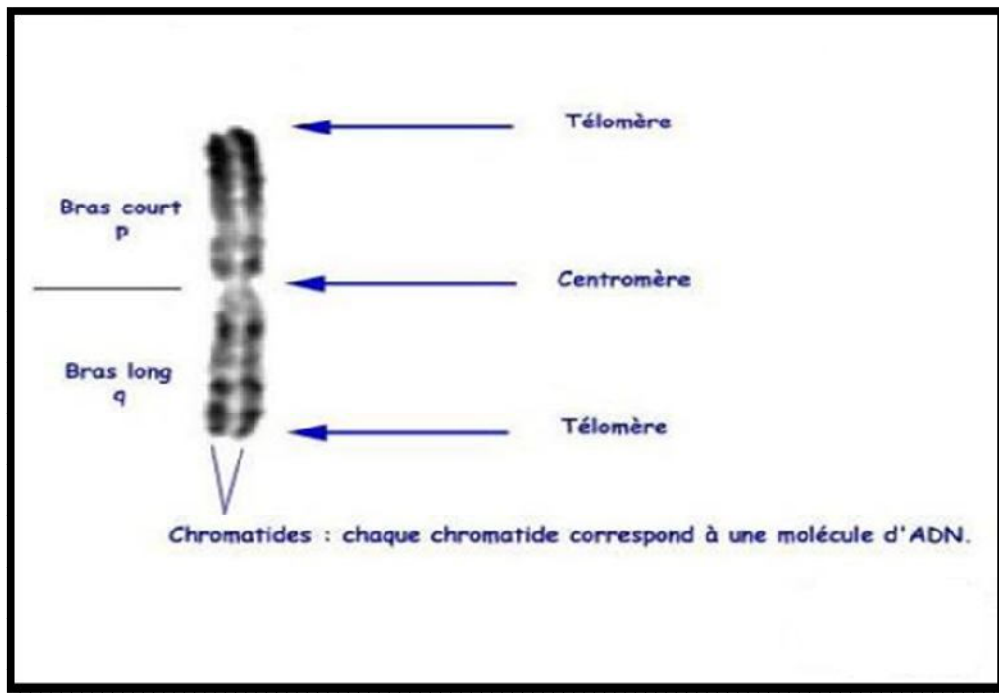
### **3.1. Structure du chromosome métaphasique**

Les chromosomes métaphasiques sont constitués de deux chromatides sœurs réunies par un centromère dont la position définit les deux bras du chromosome le bras court (noté p) et le bras long (noté q) (Figure 7).

### **3.2. Critères de classement des chromosomes [49]**

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

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



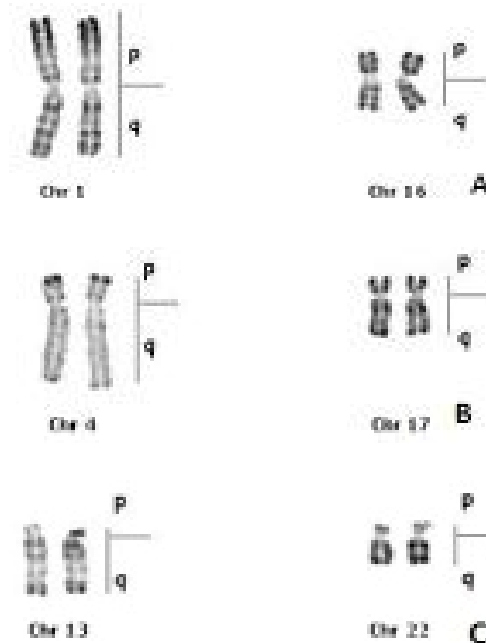
**Figure 7** : Aspect morphologique d'un chromosome métaphasique [49]

Cet index permet de reconnaître trois familles de chromosomes (Figure 8) :

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

Les chromosomes submétacentriques : qui ont un bras franchement plus petit que le bras long ( $IC \approx 0$ ).

Les chromosomes acrocentriques : dont le bras court est quasi inexistant ( $0 < IC < (1/2)$ ).



**Figure 8** : Aspects morphologiques des chromosomes en fonction de l'indice centromériques  
A : chromosome métacentrique ; B : chromosome submétacentrique ; C : chromosome acrocentrique [49]

En fonction de la taille et de la position du centromère, les chromosomes sont classés en 7 groupes [50]:

- Le groupe A : Les grands médians et submédians 1, 2, 3.
- Le groupe B : Les grands distaux 4, 5.
- Le groupe C : Les médians et submédians moyens 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 et X.
- Le groupe D : Les grands acrocentriques 13, 14 et 15.
- Le groupe E : Les petits submédians 16, 17 et 18.
- Le groupe F : Les petits médians 19, 20.
- Le groupe G : Les petits acrocentriques 21, 22 et Y.

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

### **3.3 Nomenclature : [49,51]**

Le système standard de nomenclature internationale s'est affiné au fur et à mesure de l'introduction de nouvelles techniques de bandes, de haute résolution, hybridation in situ, et de nombreuses révisions en ont été proposées, la plus récente en 2013 [52] (Figure VI) :

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

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

- Chaque bras chromosomique est divisé en régions numérotées de 1 à 4, chaque région est divisée en bandes et sous-bandes numérotées du centromère au télomère.
- Donc pour la précision d'une zone sur un chromosome, on utilise : le numéro du chromosome, bras court ou bras long, région, bande, sous bande.

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

**Tableau VI** : Nomenclature cytogénétique [43]

<b>Nomenclature génétique</b>	<b>Signification</b>
p	Bras court
q	Bras long
q2	Deuxième région du bras long
q23	Troisième bande de la deuxième région du bras long
11q23	Troisième bande de la deuxième région du bras long du chromosome 11
t	Translocation : échange de matériel entre deux chromosomes
inv	Inversion : remaniement impliquant une double cassure sur un chromosome et recollement après inversion
del	Délétion : perte d'un segment chromosomique
mar	Marqueur chromosomique non identifié
r	[ring] : chromosome en anneau
der	Dérivé : marqueur partiellement identifié portant le centromère du chromosome reconnu

#### **4. Avantages et limites [43,45]**

Bien qu'il s'agisse d'un examen indispensable donnant une vision globale des anomalies génétiques (détection des anomalies chromosomiques numériques et structurales, précision du caractère complexe ou non des anomalies), le caryotype est parfois mis en défaut pour plusieurs raisons : la nécessité quasi absolue de travailler sur un échantillon fraîchement prélevé, et le fait que c'est une technique longue, et relativement peu sensible ; la résolution étant de l'ordre de 10 millions de paires de bases (Mb).

### **III. CYTOGENETIQUE MOLECULAIRE**

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

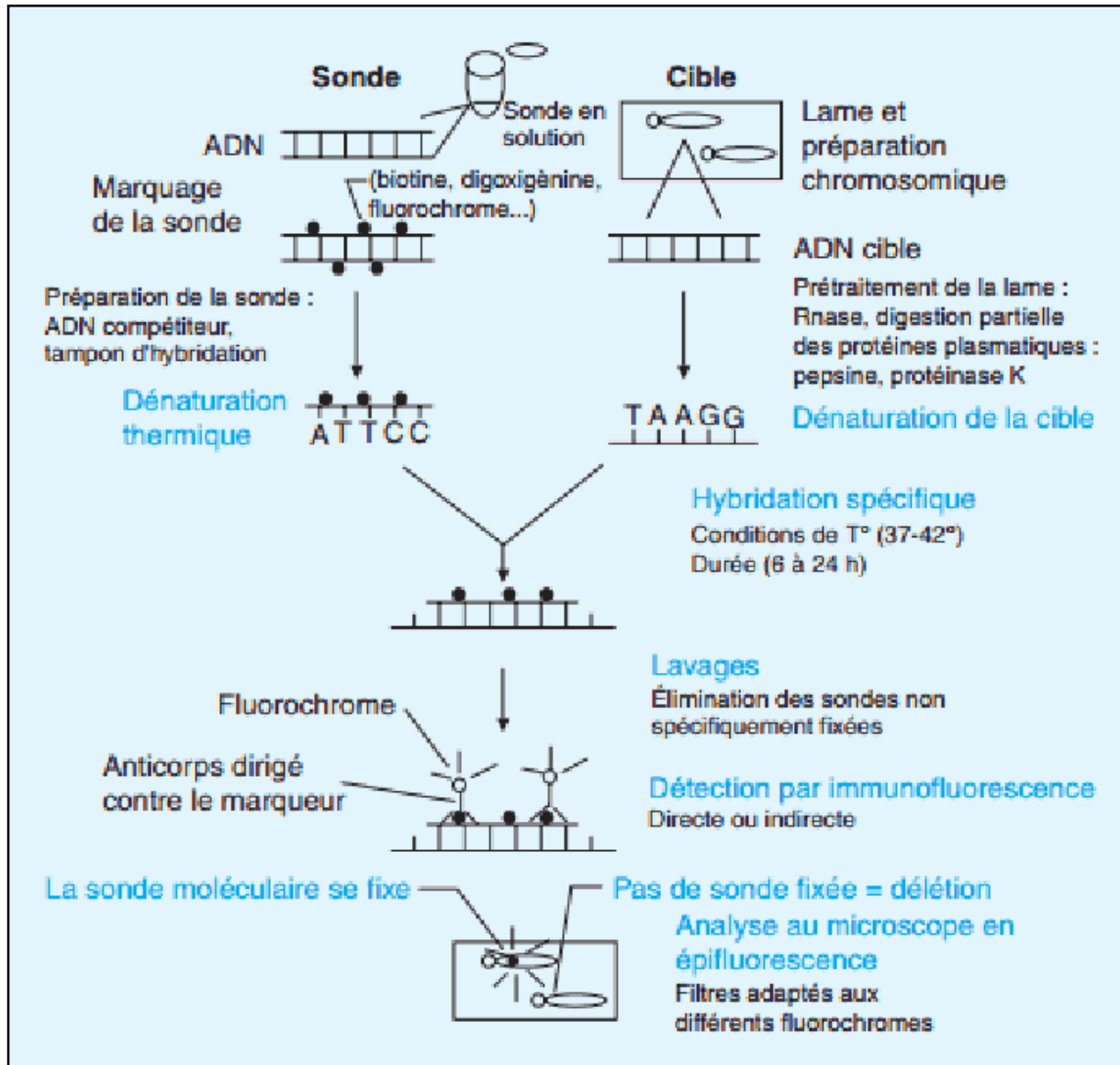
Les principales méthodes de cette discipline sont l'Hybridation in situ Fluorescente «FISH» (examen ciblé nécessitant la connaissance préalable du locus étudié) et l'Hybridation Génomique Comparative « CGH » (étude pangénomique ne détectant que les déséquilibres génomiques) [41].

#### **1. Hybridation in situ fluorescente: FISH [48,53,54,55]**

L'hybridation in situ en fluorescence (FISH) est une technique qui a considérablement amélioré l'analyse cytogénétique des hémopathies malignes. L'utilisation appropriée de sondes moléculaires révélées par fluorescence permet de détecter des anomalies chromosomiques de nombre et de structure aussi bien dans les métaphases que dans les noyaux interphasiques, c'est une technique qui vient renforcer considérablement le pouvoir de résolution de la cytogénétique, éliminant la plupart des inconvénients de la cytogénétique conventionnelle [56].

##### **1.1. Principe**

La technique implique l'appariement spécifique de la sonde marquée à une séquence complémentaire, suivie d'une visualisation de cette sonde, grâce à une molécule marquée fluorescente (Figure 9). La technique de FISH peut être divisée en plusieurs étapes : marquage ; hybridation au matériel pathologique ; détection de la sonde ; analyse de l'image [53]. Grâce aux multiples possibilités de marquage et de détection, la FISH permet d'hybrider et de révéler simultanément plusieurs sondes moléculaires [56].



**Figure 9 :** Principe de la technique de FISH :  
les différentes étapes sur préparation chromosomique [57].

## 1.2. Les sondes utilisées [48,56]

Différents types de sondes sont utilisés en cytogénétique hématologique (Figure 10) :

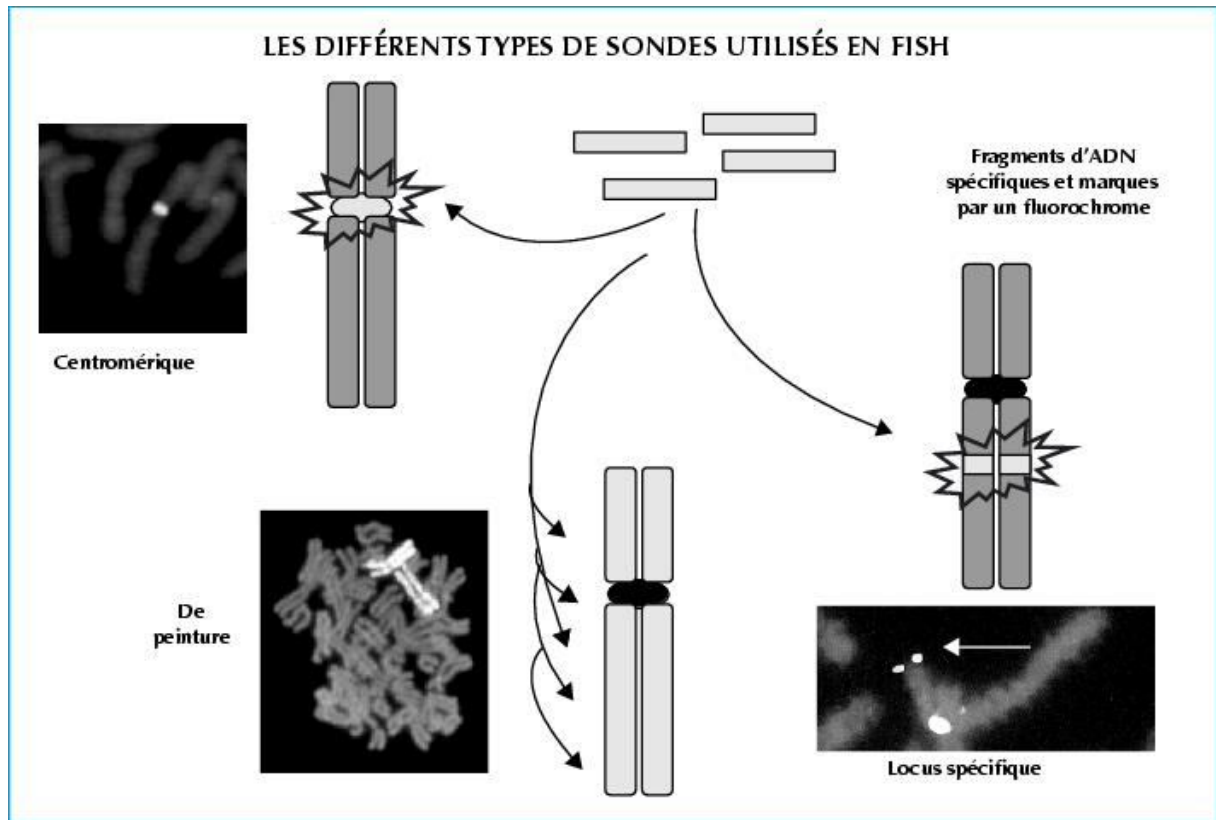


Figure 10 : les différentes sondes utilisées en FISH [58]

### 1.2.1. Les sondes centromériques :

Sont pour la plupart spécifiques à chaque chromosome et contiennent de courtes séquences d'ADN qui sont répétées plusieurs milliers de fois à proximité des centromères. Elles donnent un signal de forte intensité visible aussi bien sur noyau interphasique que sur métaphase et sont essentiellement utilisées pour dépister les aneuploïdies (anomalies de nombre).

***1.2.2. Les sondes télomériques :***

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

***1.2.3. Les sondes de peinture chromosomique :***

La sonde est alors un chromosome humain entier (ou un bras chromosomique), marqué par un fluorochrome. La principale indication de ce type de sonde est l'analyse d'anomalies de structure des chromosomes (essentiellement translocations). Le corollaire est qu'elles ne peuvent être utilisées que sur chromosomes métaphasiques. Ce type de sonde a été récemment « mis en lumière » par la mise au point de la technique de FISH multicolore. Chaque chromosome est marqué par une combinaison de fluorochromes spécifiques permettant l'obtention d'une couleur spécifique de chacun des 24 chromosomes humains.

***1.2.4. Les sondes dites « séquences uniques »:***

Chaque sonde est alors spécifique d'une région chromosomique présente en un seul exemplaire par génome haploïde. Le nombre de sondes de ce type est virtuellement infini. Ces sondes peuvent avoir de multiples indications : recherche de délétions ou d'amplifications et, de plus en plus, recherche de translocations spécifiques. Elles peuvent s'utiliser sur chromosomes métaphasiques comme sur noyaux interphasiques, à condition d'avoir une taille suffisante (de l'ordre de 30 kb).

### **1.3. Dénaturation de l'ADN et hybridation**

En chauffant l'ADN à une température proche de la température d'ébullition, la double hélice se sépare en simple brin. L'ajout de formamide et la présence d'une faible concentration saline permettent la dénaturation à plus faible température, permettant la préservation de la morphologie chromosomique. La sonde ADN et la cible ADN sont préalablement dénaturées séparément, puis mélangées pour hybridation. Les lames sont ensuite lavées afin d'éliminer la fixation non spécifique de la sonde.

### **1.4. Visualisation [59]**

La localisation de la sonde est révélée soit par visualisation directe lorsque des nucléotides fluorescents ont été directement incorporés, soit par immunofluorescence indirecte en utilisant des anticorps dirigés contre la biotine ou la digoxigénine, conjugués à des fluorochromes. Le FISH en multi-couleur permet la détection simultanée de différentes sondes en même temps. De plus, l'utilisation de mélanges de différents fluorophores en rapport variable (ratio labelling) augmente le nombre de sondes qui peuvent être hybridées et détectées en même temps. Après la détection des sondes, les chromosomes sont contre-colorés avec un colorant fluorescent comme le DAPI (diamidino-phényl indoledihydrochloride) ou l'iodure de propidium, permettant la visualisation microscopique des chromosomes et de la sonde en même temps.

### **1.5. Analyse des hybrides**

L'analyse des préparations en FISH est effectuée en utilisant un microscope fluorescent standard, ajusté avec des filtres appropriés. Un système automatique d'analyse d'images est de plus en plus utilisé. Des systèmes permettent la détection de signaux de plus en plus faibles, en raison de l'amplification du signal émis. Les logiciels utilisés pour la manipulation des images permettent aussi la conversion des images de chromosomes colorés de manière fluorescente en un caryotype en bandes G conventionnel noir et blanc, très utile dans le cadre d'une localisation exacte de sondes et pour l'identification des chromosomes réarrangés.

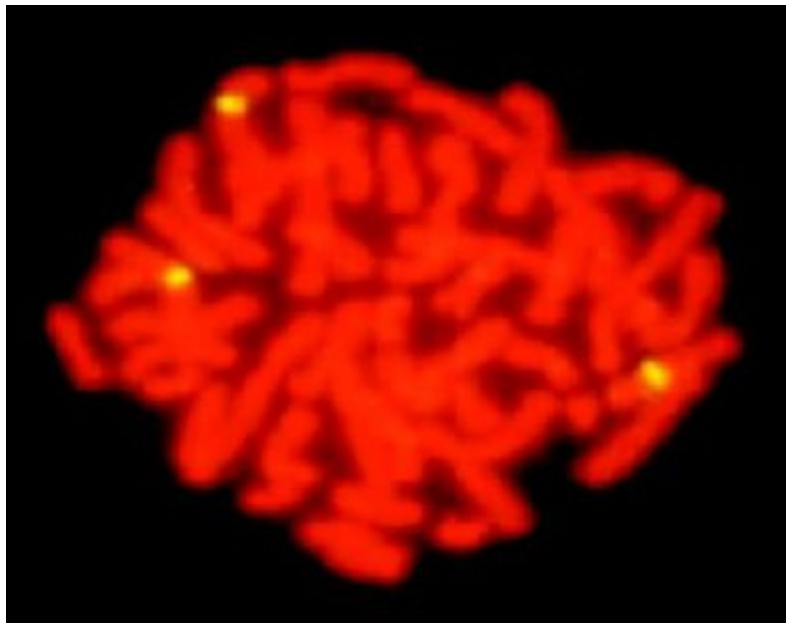
### **1.6. Précautions à prendre pendant la lecture des résultats de FISH**

En utilisant la technique de FISH, un signal spécifique fort peut être observé au site d'hybridation d'un chromosome spécifique. La majorité des métaphases est informative et, typiquement, des signaux sont observés sur les deux chromatides d'une paire de chromosomes homologues. Certains commentaires sont nécessaires à l'analyse de FISH appliquée aux échantillons hématologiques. Ainsi, il est possible qu'à côté du clone malin anormal, de nombreuses cellules normales soient présentes, conduisant à un clone anormal minoritaire par rapport à la majorité des mitoses. D'autre part, il peut exister un certain nombre de sous-clones. Il est donc nécessaire d'analyser un grand nombre de métaphases pour aboutir à un résultat fiable. L'interprétation des analyses de FISH doit être associée à la connaissance du caryotype dans chaque cas. Cependant, l'absence d'anomalie cytogénétique par analyse de chromosome conventionnelle n'exclut pas leur présence à un niveau microscopique ne pouvant être détecté que par la méthode de FISH.

### **1.7. Principales applications de l'hybridation in situ: [60]**

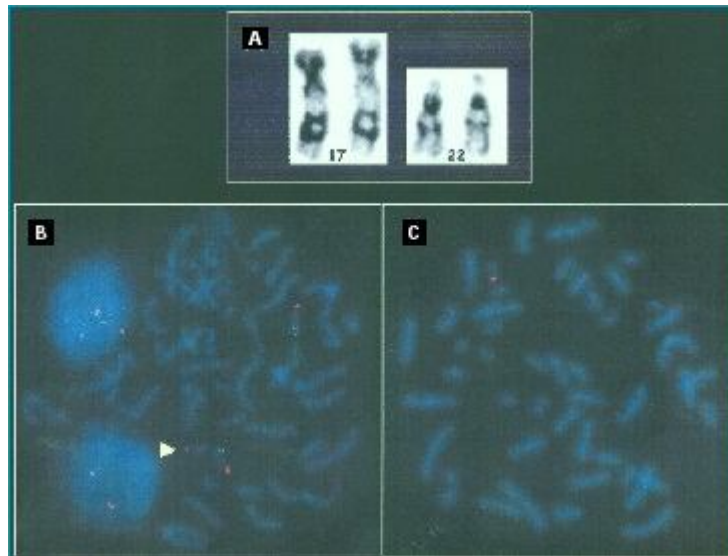
FISH est une technique qui a plusieurs application parmi celles-ci on cite :

- ✓ Dénombrement de chromosomes : mise en évidence d'anomalie de nombre des chromosomes, homogènes ou en mosaïque (Figure 11).



**Figure 11** : FISH montrant une trisomie X [57]

- ✓ Identification de l'origine d'un fragment chromosomique : chromosomes marqueurs, matériel supplémentaire d'origine inconnue sur un chromosome, remaniement complexes ou de toute petite taille.
- ✓ Mise en évidence de microremaniements chromosomiques ou inter-chromosomiques, non vues sur le caryotype standard. C'est l'une des applications fréquentes de la FISH (Figure 12).



**Figure 12** : Diagnostic par les sondes télomériques d'une t(17;22) (qtel;qtel) chez un patient atteint de retard mental et dysmorphie avec caryotype normal [60].

A- Caryotype partiel en bandes G représentant les chromosomes 17 et 22. Noter l'absence d'anomalie repérée par cette technique.

B- Détection avec les sondes télomériques du chromosome 17 d'une trisomie 17qtel (les sondes télomériques 17 p et 17q génèrent respectivement des signaux verts et rouges). Noter un troisième signal rouge sur un chromosome 22 (tête de flèche).

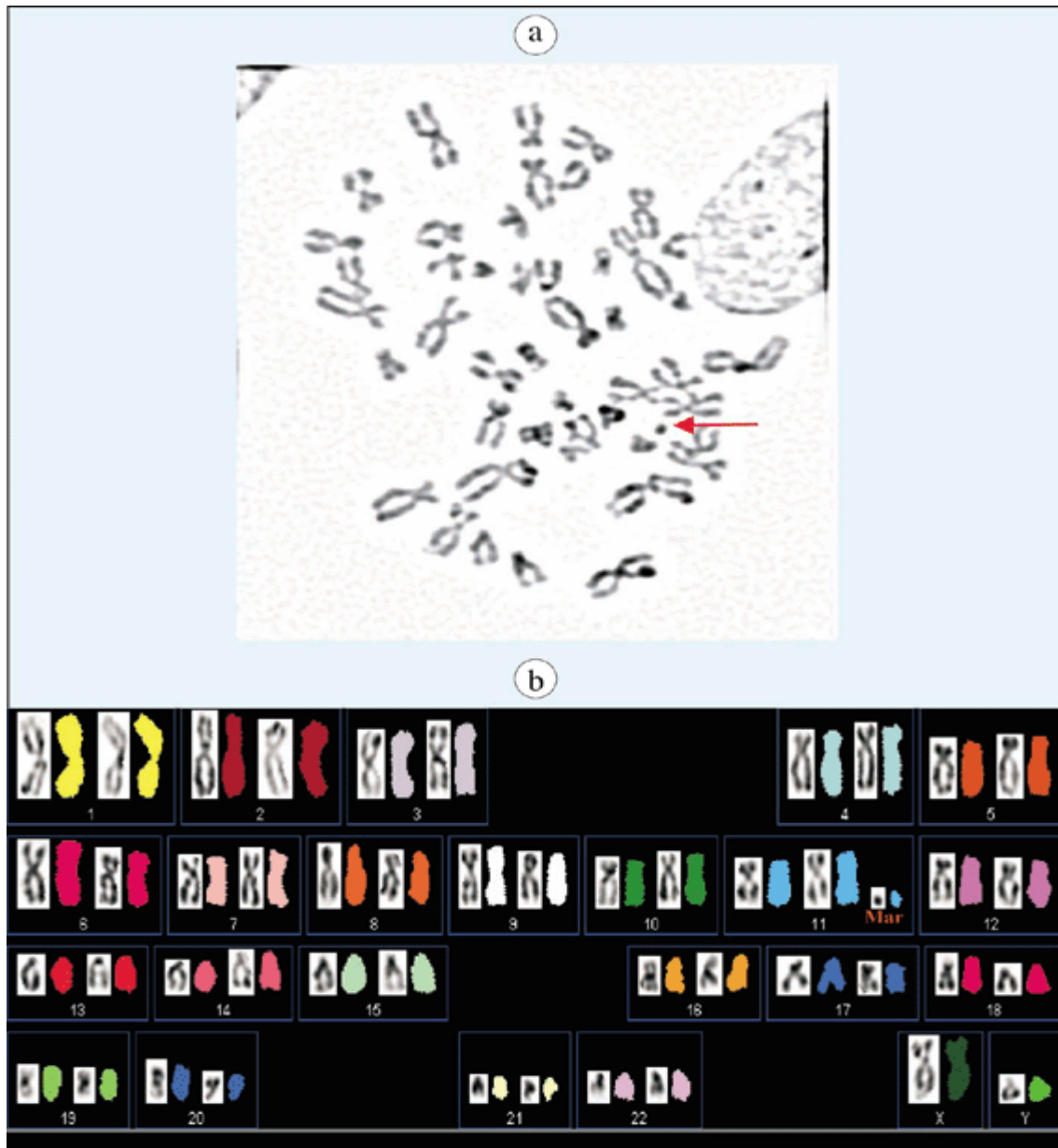
C- Détection avec une sonde télomérique du chromosome 22 d'une monosomie 22qtel.

### **1.8. Dérivées de la FISH : La FISH multi-couleurs [61,62,63]**

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

Le principe de FISH multi-couleurs repose sur la co-hybridation de 24 sondes de peintures (spécifiques des 22 autosomes et des deux gonosomes) marquées chacune avec une combinaison spécifique de 5 fluorochromes [60]. Après hybridation sur des chromosomes métaphasiques. Les différences entre les deux techniques apparaissent lors de l'analyse microscopique des lames hybridées. En effet deux approches sont possibles : l'analyse successive, par vidéomicroscopie, des lumières de fluorescence émises (M-FISH) et l'analyse spectrale de la lumière émise (SKY).

A la différence des autres approches d'hybridation in situ en fluorescence ciblées, elle ne nécessite pas d'avoir une idée préalable sur les chromosomes impliqués pour détecter des remaniements chromosomiques ambigus et complexes, mettre en évidence des remaniements cryptiques et identifier des chromosomes marqueurs non identifiés. Cependant, elle ne permet pas de reconnaître avec précision les régions chromosomiques impliquées. C'est la raison pour laquelle une image en contre-coloration DAPI, donnant un marquage de type bandes G, est toujours acquise (Figure 13) [64]. De plus c'est une technique qui demeure chère et accessible à un nombre réduit de laboratoires [65].



**Figure 13** : Caryotype montrant la présence d'un marqueur [63]

a : caryotype conventionnel par la technique des bandes ;

b : caryotype en multifuorescence par analyse spectrale (SKY).

## **2. Hybridation génomique comparative (CGH) et dérivées :**

### **2.1 CGH : [41,53,66,67]**

Récemment, la méthode d'hybridation in situ du génome entier, l'hybridation génomique comparative (CGH), a été développée. Elle permet une détection plus précise de l'amplification (gain) ou de la délétion (perte) chromosomique, anomalies qui ne sont pas toujours détectables par l'analyse cytogénétique conventionnelle, surtout lorsqu'elles font partie d'un caryotype complexe. La CGH est basée sur l'hybridation comparative in situ entre de l'ADN tumoral et de l'ADN normal, marqués avec des fluorochromes différents, sur des chromosomes métaphasiques humains normaux (Figure 14). Les profils d'hybridation de l'ADN tumoral et normal le long de chaque chromosome sont ensuite analysés par examen du rapport des deux fluorochromes. Son principe consiste à cohybrider la même quantité d'ADN provenant d'un malade et d'un témoin, marquée chacune par un fluorochrome différent, sur les chromosomes d'un sujet normal. Les signaux générés par les deux fluorochromes sont numérisés et un rapport de leur intensité respective (reflétant le rapport de la quantité d'ADN du patient par rapport à celle du témoin) est établi au niveau des bandes de chacune des paires chromosomiques. L'hybridation de l'ADN normal sur la lame de contrôle est étudiée en premier. Seules des différences dans le rapport de marquage supérieures aux valeurs de fluctuations normalement vues dans le contrôle d'hybridation, sont considérées comme un signe de gain ou de perte dans le matériel tumoral. La CGH peut être appliquée à tout type d'échantillons, sans la nécessité de culture cellulaire in vitro. Ne dépendant pas de la présence de mitoses tumorales, la CGH permet la détection d'anomalies clonales dans les échantillons pour lesquels les cellules en mitoses sont difficiles à obtenir ou pour lesquels la morphologie chromosomique est complexe. De

plus, cette méthode n'est pas basée sur l'analyse d'une région chromosomique particulière, étant une méthode globale qui fournit une image des gains ou pertes du matériel génétique sur l'ensemble du génome, même dans le cas de caryotypes très complexes. Le caryotype généré par CGH, défini comme le caryotype à nombre de copies (*copy number karyotype*) est bien adapté à l'analyse des lymphomes. Cependant, elle ne peut se substituer à la cytogénétique conventionnelle et aux études de FISH, car elle ne peut détecter de réarrangements chromosomiques équilibrés dans lesquels il n'y a ni perte, ni gain de matériel chromosomique.

## **2.2 CGH array : [67,68]**

La CGH-array repose sur le même principe que la CGH classique, à la différence que l'hybridation n'a plus lieu sur des métaphases mais sur des séquences connues, fixé sur une lame de verre (appelé puce) [69]. Une fois que la possibilité de réaliser des CGH sur des fragments d'ADN fut démontrée, différentes équipes utilisèrent les outils générés par le séquençage du génome humain pour développer des lames sur les quelles furent fixés des fragments d'ADN séquencés et dont la position sur le génome était connue avec précision. Ces lames sont appelées puces à ADN ou array d'ADN. Deux types principaux de puces ADN existent : BACs/PACs (tailles de sondes : 100 à 200 kb) et puces oligonucléotides (tailles de sondes : 70 à 20 nt) [70]. Enfin, d'autres systèmes, conçus à l'origine pour détecter des polymorphismes génomiques n'impliquant qu'une seule paire de base (SNPs) sont également utilisés pour la détection de déséquilibres génomiques avec une résolution de quelques kilobases. Toutes ces méthodes d'exploration des microremaniements génomiques ont été appelées «caryotype moléculaire».

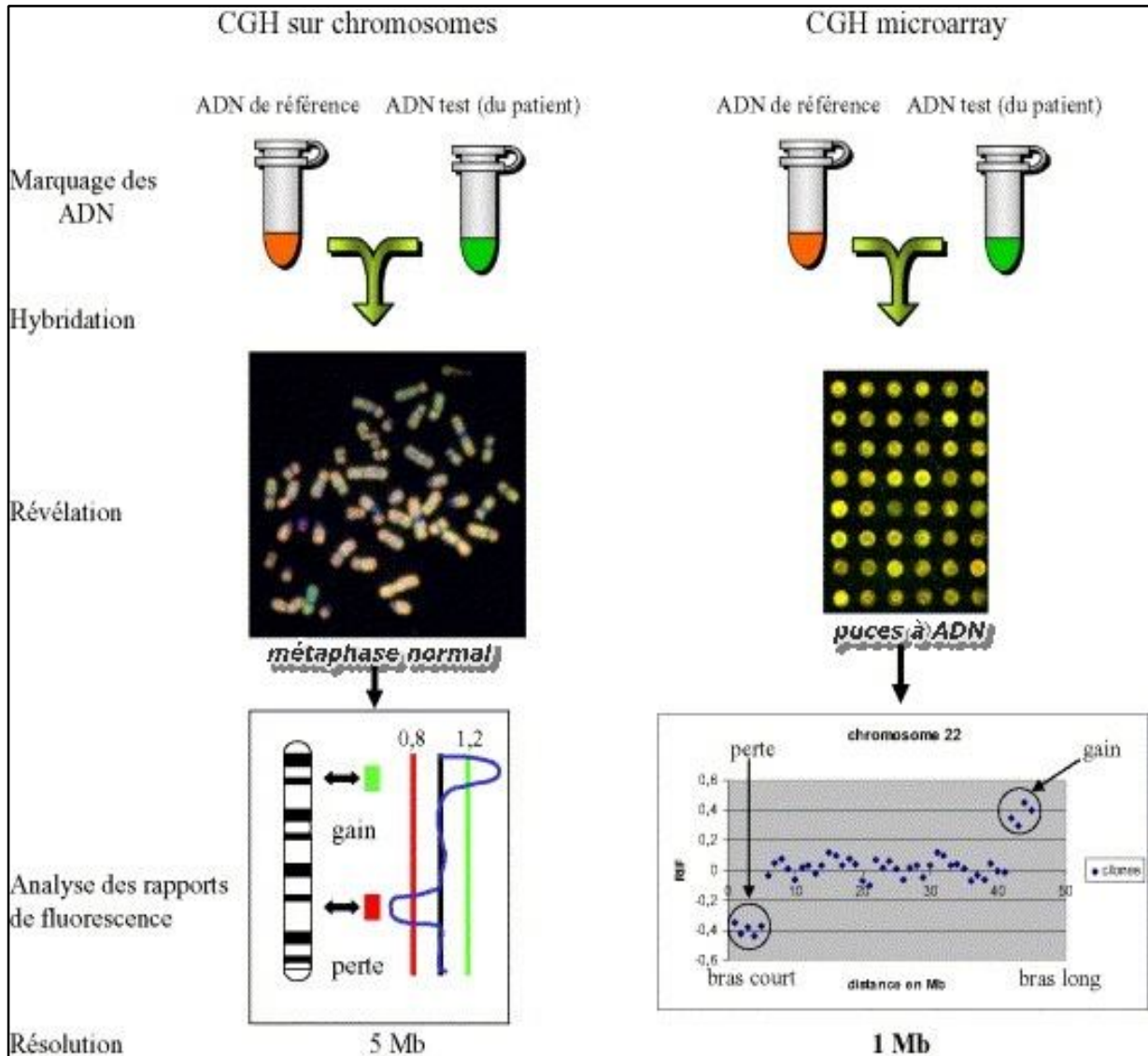


Figure 14: Principe de CGH classique et de CGH array [68]

### **2.3 Avantages et limites :**

La CGH offre l'avantage d'être un examen rapide, sensible et automatisable permettant une meilleure fiabilité et reproductibilité des résultats ainsi qu'une étude d'un plus grand nombre de patients. Cette technique a cependant des limites car elle ne détecte pas les remaniements chromosomiques équilibrés c'est-à-dire sans perte ni gain de matériel chromosomique (tels que les translocations ou les inversions) ni les anomalies chromosomiques en faible mosaïque (inférieures à 10–20 %). En plus c'est une technique coûteuse qui nécessite un appareil d'analyse et un environnement technique onéreux, ainsi qu'un bon niveau d'expertise [71]. Alors que les techniques de microarray permettent déjà quelques incursions en physiopathologie, elles se substituent encore difficilement aux étapes conventionnelles du diagnostic morphologique, cytogénétique et moléculaire.

### **3. Approches techniques [57]**

Les approches techniques en cytogénétique moléculaire sont multiples. Le choix du type de l'analyse dépend de l'application pratique et des objectifs diagnostiques. Ainsi, deux catégories d'approches peuvent être distinguées : les approches ciblées et les approches globales (**Tableau VII**).

**Tableau VII** : Les approches techniques de la FISH et les sondes correspondantes [57].

<u><i>FISH ciblée</i></u>	<u><i>Type de sonde</i></u>
<b>Peinture chromosomique</b>	Sonde de peinture d'un chromosome entier Sonde de peinture d'un bras chromosomique
<b>FISH spot (chaque hybridation donne un signal fluorescent distinct)</b>	Sondes spécifiques de loci ou de gènes Sondes spécifiques des gènes de fusion en oncohématologie Sondes spécifiques des séquences centromériques $\alpha$ -satellites Sonde alphasatellite tous centromères Sondes spécifiques des régions subtélomériques Sonde tous télomères Sondes spécifiques des séquences $\beta$ -satellites (Yqh par exemple)
<u><i>FISH globale</i></u>	<u><i>Type de sonde utilisée</i></u>
<b>CGH</b>	ADN génomique testé + ADN génomique témoin
<b>M-FISH/sky</b>	24 sondes de peinture chromosomiques spécifiques des 22 autosomes et les chromosomes X et Y

### **\*Les techniques ciblées**

Ces techniques, rendues possibles par la disponibilité de sondes spécifiques, nécessitent d'avoir une idée préalable sur les chromosomes impliqués pour détecter les remaniements chromosomiques. On peut distinguer d'une part l'approche FISH locus spécifique permettant d'obtenir un signal fluorescent correspondant à une région limitée et particulière de l'ADN : un gène, une séquence unique ou répétée centromérique ou télomérique et ce, en utilisant une sonde de séquence complémentaire à la cible. D'autre part, il y a la peinture chromosomique permettant de mettre en évidence un chromosome particulier en entier (ou seulement un bras chromosomique) par hybridation sur toute sa longueur.


### **\*Les techniques globales**

Ces techniques d'hybridation in situ permettent au contraire d'analyser le génome entier en une seule étape et de mettre en évidence les remaniements les plus ambigus et les plus complexes. Cependant elles ne permettent pas de reconnaître avec précision les régions chromosomiques impliquées.

Il peut s'agir de la FISH en 24 couleurs sous ses deux aspects qui diffèrent au niveau de la méthode d'acquisition des images permettant la classification des chromosomes métaphasiques : la M-FISH (multiplex-FISH) et le caryotype spectral ou le SKY (spectral karyotyping). Ces deux techniques permettent l'identification et l'analyse simultanées de tous les chromosomes en attribuant à chaque paire d'autosomes, à l'X et à l'Y une couleur propre et distincte.

Il peut s'agir aussi de l'hybridation génomique comparative (CGH) qui consiste en l'hybridation simultanée et compétitive, sur des métaphases lymphocytaires normales, de l'ADN test et d'un ADN témoin normal, marqué chacun par un fluorochrome différent. La CGH permet ainsi de détecter et de localiser sur les chromosomes métaphasiques normaux les différences relatives du nombre de copies de séquences d'ADN entre les deux génomes, test et témoin en calculant le rapport d'intensité de fluorescence le long de chaque chromosome. Cette approche permet l'analyse globale des anomalies déséquilibrées survenant dans l'ensemble du génome sans la nécessité d'avoir des mitoses. Cependant, elle ne permet en aucun cas de déceler les remaniements chromosomiques équilibrés.

La cytogénétique conventionnelle et moléculaire ainsi que les techniques de biologie moléculaire, forment les maillons forts de l'approche diagnostique et pronostique et de la surveillance évolutive des LA [72].



*Troisième partie :  
Apport de la cytogénétique  
dans les LAM*

## **I. APPORT DE LA CYTOGENETIQUE AU DIAGNOSTIC DES LAM**

### **1. Diagnostic des LAM [73]**

Le diagnostic de LAM nécessite un examen des frottis sanguins et médullaires par des cytologistes entraînés.

#### **1.1. Examens indispensables**

##### **▪ *Hémogramme***

C'est sur la base d'un hémogramme (NFS), avec examen du frottis sanguin, que le diagnostic est évoqué. Les automates détectent généralement, mais pas toujours, les blastes par des « alarmes » qui nécessitent un examen cytologique du frottis. Ces alarmes peuvent manquer, les blastes étant comptés parmi les monocytes ou les lymphocytes. Le frottis sanguin, coloré au May Grunwald Giemsa, doit être attentivement lu pour reconnaître les cellules leucémiques : l'existence d'un « hiatus » leucémique (pas d'éléments intermédiaires entre les polynucléaires et les blastes) orientera plus vers une leucémie aiguë que vers un syndrome myéloprolifératif, en cas d'hyperleucocytose. En cas de leucopénie, il est important de parcourir la lame pour détecter ne serait-ce qu'une cellule blastique, qui orienterait, avant le myélogramme, vers une leucémie aiguë.

##### **▪ *Le myélogramme***

Le myélogramme est indispensable pour le diagnostic de LAM. Celui-ci doit objectiver une infiltration blastique supérieure à 20 %. Il peut exister, de façon associée, des signes de dysmyélopoïèse sur les 3 lignées. Les corps d'Auer (inclusions allongées azurophiles) sont pathognomoniques d'une hémopathie myéloïde. Ils sont retrouvés dans les types M1, M2, M3 et M4. Une éosinophilie

médullaire est présente dans les M4Eo, et parfois les LAM2. L'existence d'hématies en larme fait évoquer une fibrose médullaire, à affirmer par une biopsie. Elle est fréquente dans les LAM7 où elle est secondaire à la sécrétion de TGF- $\beta$  et de PDGF par les blastes. Ces derniers ont un aspect pseudolymphoïde (L2) et leur identification doit faire appel à la recherche des myéloperoxydases plaquettaires, à l'immunophénotype et à la microscopie électronique.

▪ ***Cytochimie***

La réaction des myéloperoxydases (MPO) permet de confirmer, en cas de positivité des blastes (présence de 3 % de cellules positives) la nature myéloïde de la prolifération blastique. Les proliférations monoblastiques, certaines LAM très peu différenciées (M0) et les leucémies mégacaryoblastiques sont cependant MPO négatives. Il est alors nécessaire d'avoir recours au phénotypage.

• Complément cytochimique : la réaction des estérases avec le naphthol ASD acétate (NASDA), peu spécifique en soi, prend sa valeur par son inhibition par le fluorure de sodium, qui n'est retrouvée que dans la lignée monoblastique (résultat positif dans les types M4 et M5).

▪ ***Cytogénétique et biologie moléculaire***

La cytogénétique, faite de préférence sur le myélogramme mais possible sur le sang en cas de blastose circulante notable est un élément indispensable du diagnostic en raison de ses implications pronostiques, et donc, thérapeutiques. Les études en biologie moléculaire utilisent les techniques de FISH, de Southern blot ou de PCR pour mettre en évidence les réarrangements géniques résultant des anomalies chromosomiques (translocations, insertions, délétions,

duplications, mutations). Ainsi peuvent être mis en évidence les transcrits résultant de translocations spécifiques : CBF\MYH11, PML\RAR, AML1\ETO, les réarrangements de MLL et les duplications de FLT3 ou de MLL pour ne citer que les anomalies ayant une valeur pronostique.

### **1.2. Examens parfois nécessaires**

L'étude de l'immunophénotype des LAM a moins d'importance pratique que dans le cas des LAL. Elle a un intérêt diagnostique dans les cas des LA peu différenciées ou possiblement biphénotypiques. L'immunophénotypage peut se faire sur lames mais actuellement on utilise le plus souvent la cytométrie de flux. Il permet, en s'aidant d'un nombre restreint d'anticorps, d'affirmer le caractère myéloïde (CD13, CD33, CD117, MPO intra-cytoplasmique), monoblastique (CD14), érythroblastique (GlycophorineA) ou mégacaryoblastique (CD42 et CD61) des formes peu différenciées de LA. Ce phénotypage permet aussi de reconnaître les formes biphénotypiques. La détermination de l'expression du CD33 est utile en cas de recours à un traitement ciblé par anticorps monoclonal anti-CD33.

## **2. Les anomalies cytogénétiques**

Les anomalies observées dans les LAM sont des anomalies acquises, restreintes aux cellules du clone tumoral. Depuis la découverte du chromosome Philadelphie dans la leucémie myéloïde chronique (LMC) en 1960 de très nombreuses anomalies récurrentes ont été décrites dans la quasi-totalité des hémopathies malignes dont les LAM.

Des anomalies chromosomiques clonales acquises sont trouvées dans 50–70 % des patients présentant une leucémie aiguë myéloïde (LAM) de novo [74], et chez les enfants ce pourcentage est de 59% [75]. Les principales anomalies chromosomiques dans les LAM :

**a. Translocations équilibrées**

Quelques-unes sont fréquentes :  $t(8;21)$  souvent présente au cours des leucémies M2 dans la classification FAB,  $t(15;17)$  (LAM3),  $inv(16)$ , observée au cours des leucémies M4 éosinophiles dans la classification FAB,  $t(9;11)$  dans les LAM5. Les autres sont plus rares. Dans la majorité des cas, les gènes impliqués dans ces translocations sont connus. Il existe fréquemment une corrélation avec un type morphologique dans la classification FAB. L'existence d'un réarrangement génique donné dans ces translocations peut permettre, dans certains cas d'échec du caryotype, la mise en évidence de la translocation par des techniques de biologie moléculaire (FISH).

**b. Gains chromosomiques**

Il s'agit généralement du gain d'un chromosome entier. Le plus fréquent est la trisomie 8, suivie de la trisomie 21 acquise, les autres (trisomies 4, 14, 15, 19 et 22) étant plus rares. Identifiées dans 10 % des LAM avec anomalies cytogénétiques, les trisomies isolées comme les trisomies 8, 11, 13 et 21 représentent un facteur pronostique indépendant.

### **c. Délétions chromosomiques**

Il s'agit de la délétion d'un chromosome entier, ou de la délétion interstitielle d'un bras chromosomique qui peut être isolée ou survenir dans le cadre de translocations déséquilibrées.

La perte d'un chromosome entier concerne surtout la monosomie 7 ; les autres pertes chromosomiques sont rarement isolées et généralement le fait de caryotypes complexes.

Les délétions partielles touchent le chromosome 5 (5q-), et plus rarement les chromosomes 9, 11, 12, 17 (9q-, 11q-, 12p- ou 17p-). Cette dernière est très fréquemment le fait de translocations déséquilibrées (t(5;17), t(7;17) etc.) et s'accompagne généralement d'une mutation du gène p53 non délété (gène situé en 17p).

### **3. Apports de la cytogénétique au diagnostic des LAM**

Les études de cytogénétique classique au cours des hémopathies malignes ont permis de montrer que certains remaniements chromosomiques récurrents sont caractéristiques et parfois même spécifiques. Ces remaniements ont pu être directement ou indirectement reliés à des altérations de gènes, oncogènes ou suppresseurs de tumeurs. La caractérisation moléculaire de certains réarrangements a permis d'envisager l'utilisation de l'hybridation in situ en fluorescence dans ces hémopathies malignes pour le diagnostic. Cette technique permet la détection des cellules porteuses de la translocation sur métaphases et/ou noyaux interphasiques sous la forme d'une fusion des deux gènes par des sondes spécifiques. Les sondes peuvent aussi correspondre à un seul gène ou à la région localisée entre deux points de cassures.

Les moyens à mettre en œuvre pour détecter les anomalies chromosomiques dépendront donc de leur fréquence, de leur importance pronostique, de la pathologie considérée mais aussi de l'âge du sujet.

### **3. Les moyens à mettre en œuvre au diagnostic de LA [76]**

#### **3.1. Hyperdiploïdie > 50 chromosomes**

Le caryotype, qui permet une analyse globale du génome, est le meilleur moyen pour identifier simultanément plusieurs trisomies (et tétrasomies). La combinaison du caryotype et de l'analyse du contenu en ADN par cytométrie en flux (index en ADN > 1,16 dans la majorité des hyperdiploïdies) permet une détection de ce type d'aneuploïdies dans 99 % des cas. La FISH interphasique (recherche des trisomies récurrentes) représente une bonne stratégie de suppléance en cas de non-informativité ou de résultats discordants entre caryotype et index ADN. Plusieurs combinaisons de sondes centromériques sont possibles incluant au moins 4 chromosomes. La stratégie double-couleur associant un chromosome fréquemment (8, 21) impliqué et un chromosome rarement trisomique (11, 13, 4, 14, 15, 19 et 22) dans les hyperdiploïdies > 50 peut faciliter l'interprétation des résultats.

#### **3.2. 11q23/MLL**

Les remaniements 11q23 sont, dans la majorité des cas, des translocations impliquant MLL. Toutefois, certains d'entre eux, essentiellement des délétions, sont MLL-négatif et n'ont pas de valeur pronostique particulière. Il importe donc de préciser pour les remaniements 11q23 si MLL est réarrangé, et pour les translocations MLL-positif, d'identifier le partenaire car l'impact pronostique

est différent selon les translocations. Les différentes translocations 11q23/MLL sont identifiables par CC mais, alors que certaines sont aisément identifiables telle la  $t(4;11)(q21;q23)$ , d'autres nécessitent une très bonne qualité de préparation chromosomique pour être détectées. Le caryotype peut alors être utilement complété par technique FISH. En pratique, plusieurs stratégies sont envisageables pour détecter les réarrangements MLL.

La FISH interphasique avec une sonde double couleur (signaux 3'MLL et 5'MLL de couleur différente, co-localisés en 11q23 en situation normale et séparés en cas de réarrangement MLL) détecte tous les réarrangements MLL et peut être considérée comme ayant la même efficacité de détection que le Southern blot, le seul réarrangement MLL non détecté par la FISH étant la duplication en tandem MLL.

La FISH métaphasique permet d'identifier le partenaire dans les translocations. Si nécessaire, les techniques moléculaires préciseront le type de transcrit, confirmant ainsi l'hypothèse cytogénétique.

Compte tenu de leur haute fréquence dans les LA du nourrisson (< 1 an), les remaniements 11q23/MLL doivent être systématiquement recherchés dans toutes les LAM survenant dans ce groupe d'âge.

### **3.3. $t(15;17)(q22;q12-21)/PML-RAR$**

La translocation  $t(15;17)$  standard est observée dans 92 % des M3, mais le remaniement est cryptique dans 4 % des M3 (PML-RAR généré par insertion indétectable par CC) et masqué dans une translocation variante (simple ou complexe) dans 2 % des M3. Donc, toute M3 sans  $t(15;17)$  au caryotype ou

présentant un remaniement chromosomique impliquant un des 2 points de cassure de la t(15;17), soit 15q22, soit 17q12, doit faire l'objet d'une exploration complémentaire par FISH à la recherche d'un gène de fusion PML-RAR. Outre une confirmation du diagnostic, la présence d'un gène de fusion PML-RAR permet de prédire une bonne réponse à l'ATRA (acide tout-trans-rétinoïque) et à l'arsenic.

Un faible pourcentage de leucémie d'aspect promyélocytaire est caractérisé par d'autres remaniements chromosomiques qui tous impliquent RAR : t(11;17)(q23;q21)/PLZF/RAR (0,8 %), t(5;17)(q35;q21)/NPM/RAR (0,2 %), t(11;17)(q13;q21)/NUMA/RAR (< 0,1 %) et STAT5b/RAR (< 0,1 %). Le meilleur outil de mise en évidence de ces anomalies est la CC, capable de visualiser la totalité du génome.

#### **3.4. t(8;21)(q22;q22)/AML1-ETO**

Translocation aisément identifiable au caryotype, elle peut être masquée dans un remaniement complexe impliquant l'un des 2 points de cassure de la translocation, 8q22 ou 21q22, dans un faible pourcentage de cas (1 %). La recherche moléculaire du gène hybride ou du transcrit AML1-ETO ne semble donc justifié que dans des cas particuliers : remaniements 8q22 ou 21q22 au caryotype, échec de la CC ou morphologie médullaire très évocatrice de t(8;21). Le gène de fusion AML1-ETO est en règle générale localisé sur le dérivé 8.

### **3.5. Inv(16)/t(16;16)/CBF/MYH11**

L'inversion du chromosome 16, inv(16)(p13q22), ou son variant cytogénétique t(16;16)(p13;q22), sont détectées par CC, mais nécessitent une bonne qualité de préparation chromosomique pour être authentifiées au caryotype. De plus, des inv(16) peuvent être masquées dans des remaniements complexes impliquant soit 16p13, soit 16q22, et d'authentiques inv(16) cryptiques (2,8 %), avec gène de fusion CBF-MYH11 généré par insertion moléculaire sans remaniement cytogénétiquement visible, ont été rapportées.

La FISH peut donc utilement compléter la CC. La distinction entre inv(16) et t(16;16) ne peut se faire que sur métaphases car les images sur cellules interphasiques sont identiques pour les 2 types de remaniement. Toutes les inv(16) sont ainsi aisément détectables par FISH, le seul écueil des sondes commerciales (de grande taille) sont les très rares insertions de petite taille qui nécessitent des cosmides locus-spécifiques pour être détectées. Cette efficacité en fait un outil de choix pour systématiser la recherche de l'anomalie. Cette recherche paraît justifiée dans les groupes d'âge qui bénéficieront d'une thérapie stratifiée sur la présence de l'inv(16) mais le groupe morphologique à analyser reste à définir. En effet, les inv(16) sont trouvées dans des LA à composante monocyttaire dans 90 % des cas, le plus souvent M4 variante éosinophiles, mais aussi rapportées dans des M2 (6 %), M1 (3 %) et exceptionnellement M7(< 1 %).

### **3.6. Mutations génétiques actuellement recherchées au diagnostic**

les mutations de CEBP $\alpha$ , NPM1 et FLT3 (FLT3-ITD,FLT3-TKD) dans les LAM ont un impact décisionnel majeur au plan thérapeutique, d'où la nécessité de la recherche de ces mutations. Ceci est surtout important chez les sujets âgés : Près de 40% des sujets dans cette tranche d'âge ont un examen cytogénétique normal avec un devenir hétérogène et se pose pour eux la place de l'allogreffe géno-identique [77].

## **II. APPORT DE LA CYTOGENETIQUE A LA CLASSIFICATION DES LAM :**

Il est possible de classer les LAM en fonction de leurs caractéristiques cytologiques, immunologiques, cytogénétiques et parfois moléculaires. Parmi ces caractéristiques, ce sont surtout les caractéristiques cytogénétiques qui ont une valeur pronostique pour la réponse au traitement et la survie.

### **1. Classification morphologique des LAM :**

La classification cytomorphologique FAB (**Tableau VIII**) semble apporter quelques informations pronostiques supplémentaires, indépendamment des données cytogénétiques et moléculaires. Les LAM de type MO (indifférenciées), M6 (érythroblastique) et M7 (mégacaryoblastiques) sont de plus mauvais pronostic [26].

**Tableau VIII** : Caractéristiques morphologiques et cytochimiques de la classification FAB des LAM [73].

Types/sous types	Morphologie	% de blastes	Cytochimie
<b>Myéloblastique sans maturation (M1)</b>	Blastes de taille variable, cytoplasmes basophiles, sans grains (B1) ou avec quelques grains (B2)	± 90 %	Myéloperoxydase ± 3 %
<b>Myéloblastique avec maturation (M2)</b>	Blastes B1 + B2 avec différenciation granuleuses (> 10 %) ± corps d'Auer. Peut s'accompagner de myélodysplasie, Si gros corps d'Auer, granulations pseudo-Chediak : t(8;21)	± 30 %	Myéloperoxydase ++
<b>Promyélocytaire (M3)</b>	Promyélocytes dystrophiques, avec granulations volumineuses et fagots de corps d'Auer.	± 30 %	Myéloperoxydase +++
<b>Variant (hyperleucocytose) :</b>	Noyaux bilobés, majorité des blastes sans corps d'Auer.		
<b>Myélo-monocytaire (M4)</b>	Mélanges de blastes myéloïdes (B1 et B2) et de monocytes à tous stades, dystrophiques ;	± 30 %	Myéloperoxydase +
	dans le sang, monocytes à tous stades ; peut s'accompagner de PN éosinophiles à granulation basophiles (inv16)	> 5 × 10 <sup>9</sup> /l	NASDA Inhib. NaF
<b>Monoblastique (M5)</b>	Monoblastes ± maturation monocytaire	± 80 %	NASDA InhibNaF
	M5a : non différenciée	± 80 %	
	M5b : différenciée	< 80 %	
<b>Erythroleucémie (M6)</b>	Myéloblastes médullaires (hors Eb)	± 30 %	Myéloperoxydase +
	Erythroblastes médullaires	± 50 %	
	Dysérythropoïèse		
<b>Mégacaryoblastique (M7)</b>	Myélofibrose + mégacaryoblastes/cytes	Biopsie	Myéloperoxydase (--)
	très dystrophiques (micro-mégaK, blastes toute taille, à « oreilles »)	Moelle	Phénotypage essentiel (CD42, CD61)
<b>Myéloïde « indifférenciée » (M0)</b>	Blastes non différenciés (B1)	> 30 %	Myéloperoxydase < 3 % NASDA InhibNaF : 0 Phénotype essentiel anticorps anti-MPO)  (CD13, CD33, CD117)

## **2. Classification cytogénétique**

Des anomalies cytogénétiques sont retrouvées dans environ 60 % des LAM. On distingue schématiquement : les translocations équilibrées, les délétions chromosomiques, et les gains chromosomiques (essentiellement trisomies). L'incidence pronostique de ces anomalies cytogénétiques (**Tableau IX**) impose que tout prélèvement médullaire dans le cadre d'une suspicion de leucémie aiguë chez un patient en âge de recevoir une chimiothérapie, comporte un caryotype. En effet, les traitements d'induction (pour les LAM3) et les intensifications (indications d'allogreffes) sont en grande partie conditionnés par le caryotype.

**Tableau IX** : Principales anomalies chromosomiques dans les LAM [73].

Anomalies		Fréquence	Gènes impliqués	Corrélation avec la morphologie	Pronostic
Translocations équilibrées	fréquentes	t(8 ;21) 5-10% t(15 ;17) 5-10% inv(16) 5% t(9 ;11) 3-4%	ETO, AML1 PML; RAR MYH11,CBF AF9;MLL	M2 M3 M4eo M4,M5 LAM induites	Favorable Favorable Favorable intermédiaire
	Peu fréquentes	t(8;16) t(6;9) t(6;11) t(10 ;11) t(11 ;19) t(3 ;3)/ inv(3)(q21 ;q26)	MOZ, CBP DEK, CAN AF6, MLL AF10, MLL MLL, ELL EVI1, MDS	M5 b M1 M4 ; M5 LAM induites M4 ;M5 LAM induites M4 ; M5 LAM induites M2 ; M7	Défavorable Défavorable Intermédiaire Intermédiaire Intermédiaire défavorable
	rares	Autres anomalies de 11q23 t(12)(p13) t(1 ;22)		M7 enfant	Défavorable
trisomies	fréquentes	+8 3-4% +21 1-3% +11 1%	? ? ?		Défavorable Intermédiaire intermédiaire
	rares	+4 +13			? ?
Pertes chromosomiques	fréquentes	-7 5-10% -5q 5-10%	? ?		Défavorable défavorable
	rares	-11q -17p -9q	MLL P53 ?		Défavorable défavorable

### **3. Place de la cytogénétique dans la nouvelle classification des LAM**

Il est avéré que certaines anomalies cytogénétiques et moléculaires récurrentes dans les LAM sont associées à des aspects cytologiques spécifiques chez des patients possédant des caractéristiques cliniques propres (âge, sensibilité aux traitements). Ces entités sont le plus fréquemment suspectées sur les critères morphologiques. Chez un patient, la confirmation (cytogénétique et/ou moléculaire) de l'existence d'une de ces anomalies récurrentes possède une forte valeur notamment pronostique et va conduire le plus souvent à des options thérapeutiques ajustées. Depuis 2001, la classification OMS a donc choisi d'intégrer l'apport des données cytogénétiques et moléculaires et la réalité clinique et thérapeutique qui en découle.

Cette orientation se manifeste alors par la décision de créer une catégorie de « LAM avec anomalies génétiques récurrentes » ; cette catégorie a subi de nombreuses modifications dans la nouvelle édition 2008:

- ✧ **Pour les LAM avec anomalies génétiques récurrentes t(8;21), inv(16) ou t(16;16) et t(15;17), une blastose inférieure à 20 % n'est pas un critère d'exclusion du diagnostic** et sont donc considérés LAM, indépendamment du taux de blastes. Pour tous les autres altérations génétiques, y compris LAM avec t (9; 11), LAM est diagnostiquée seulement si le taux de blastes est supérieur à 20%.
- ✧ **Individualisation de LAM avec anomalies cytogénétiques particulières dans un sous-type dédié :**

Les LAM avec t(9 ;11)(p22 ;q23) ou MLLt3-MLL sont clairement individualisées des autres LAM comportant des anomalies impliquant le gène MLL ( il existe 80 autres translocations impliquant le gène MLL).

L'utilisation de la technique de FISH à l'aide d'une sonde couvrant le gène MLL est donc très intéressante pour dépister les cas positifs. Les translocations chromosomiques qui impliquent des gènes partenaires autres que *MLLT3* devraient être précisées dans le diagnostic.

La t(9;11) a été individualisée car son pronostic (intermédiaire-II) est meilleur que celui des LA qui comportent d'autres anomalies de MLL (mauvais pronostic).

✧ **Ajout de trois nouvelles entités distinctes cytogénétique :**

LAM avec t (6; 9) (p23; q23) / *DEK-NUP214*, LAM avec inv (3) (q21q26.2) ou t (3; 3) (q21; q26.2) / *RPNI-EVII*, et LAM (mégacaryoblastique) avec t (1; 22) (p13; q13) / *RBM15-MKLI*. Bien que rares, ces anomalies doivent être reconnus comme ils sont généralement caractérisés par de survie à court, à moins allogreffe de cellules souches est effectuée.

✧ **Introduction d'entités provisoires :**

Parmi les leucémies aiguës myéloïdes à caryotype normal, un nombre sans cesse croissant d'anomalies moléculaires a été rapporté, conduisant à une segmentation très importante de ce sous-groupe. Les trois marqueurs les plus solides (NPM, *CCAAT* et FLT3-ITD) ont été retenus pour former les entités dites provisoires : LAM avec mutations de (NPM) ; LAM avec mutations de la *CCAAT*, toutes les deux de pronostic favorable quand elles sont isolées ; et LAM avec mutations de FLT3-ITD de pronostic défavorable.

Un autre impact important de la découverte de nouvelles anomalies moléculaires (notamment mutation de NPM1, de C/EBP $\alpha$  et de FLT3) est la réduction considérable du nombre de LAM non spécifiées qui renfermait tous les LAM-CN et constituaient 50 à 60% de tous les LAM.

### **III. APPORT DE LA CYTOGENETIQUE AU PRONOSTIC DES LAM :**

#### **1. Les principaux facteurs pronostiques : [78]**

Les principaux facteurs pronostiques des LAM clairement reconnus sont :

L'âge : Il est clairement établi que plus le patient est âgé, plus le risque d'échec de la chimiothérapie est important [79].

Taux de leucocytes : L'hyperleucocytose initiale représente un facteur de mauvais pronostic et s'associe à un taux de mortalité plus élevé [80].

Caractéristiques cytogénétiques : à l'heure actuelle, l'élément pronostique le plus performant dans les LAM est la cytogénétique. Il permet de faire un choix thérapeutique initial ciblé et de définir des sous-groupes de pronostic variable en fonction des anomalies chromosomiques clonales présentes ou non au diagnostic [26].

Les antécédents de syndrome myélodysplasique ou de syndrome myéloprolifératif, l'expression du gène de résistance multiple aux chimiothérapies (MDR) et une absence de réponse ou une réponse seulement partielle à une première cure de chimiothérapie d'induction sont aussi des facteurs défavorables [81]. L'importance pronostique de l'immunophénotype des cellules blastiques est plus discutée, à l'exception possible de l'expression de CD34. Récemment, a été mise en évidence la valeur pronostique des duplications des gènes FLT3 et MLL qui confère un risque de rechute significativement élevé.

## **2. Apport de la cytogénétique à l'évaluation pronostique des LAM [82,83,84,85,86]**

En analyse multivariée, la cytogénétique est le seul facteur qui ressort pour expliquer les différences entre les taux de RC et de survie globale [57,87]. L'utilisation de la cytogénétique standard est donc indispensable : on distingue trois groupes cytogénétiques définis par leur sensibilité aux traitements par chimiothérapie conventionnelle (favorable, intermédiaire et défavorable) (*Tableau X*). Le taux de RC varie significativement selon les 3 groupes cytogénétiques (84 % pour le groupe favorable, 76 % pour le groupe intermédiaire, 55 % pour le groupe défavorable). Il est important de noter que cette stratification est, de fait, une classification également moléculaire, compte tenu de l'intégration dans les groupes pronostiques d'un certain nombre d'anomalies cytogénétiques atypiques ou cryptiques mais amenant à la transcription d'un gène de fusion équivalent à l'anomalie princeps définissant le groupe [38]. Les anomalies cytogénétiques sont observées dans environ 50 à 60 % des leucémies aiguës myéloïdes. Les translocations t(8;21), inv(16) (groupe CBF) et t(15;17) sont associées au groupe de LAM de bon pronostic et sont préférentiellement observées dans les LAM du sujet jeune. L'identification de ces anomalies est réalisée le plus souvent par technique de cytogénétique conventionnelle, mais d'autres techniques telles que la technique FISH ou RT-PCR permettent de détecter certaines formes de translocations variantes cryptiques, en particulier pour les inv(16) ou t(15;17). L'identification de ces patients appartenant au groupe de LAM de bon pronostic est important, puisque la majorité de ces patients ne seront pas allogreffés en première rémission

complète RC1 et qu'un traitement plus ou moins spécifique leur est associé : L'ATRA dans les LAM3 ou aracytine à forte dose dans les LAM du groupe CBF (Core Binding Factor). Le taux de rémission complète dans ce sous-groupe est proche de 90 % et le taux de survie à 5 ans de 60 à 70% [26].

À l'opposé, la cytogénétique permet d'identifier un groupe de patients de mauvais pronostic incluant : t(6;9), t(9;22), t(8;16), inv (3) ou t(3;3), monosomie 5 ou 7, del 5q, del 7q, anomalies complexes (3 anomalies ou plus) ainsi que les anomalies 11q23 incluant les anomalies du gène MLL. Pour cette catégorie de patients de mauvais pronostic, le taux de rémission complète est compris entre 60 et 70 % et le taux de survie à 5 ans entre 10 et 20 % justifiant l'indication d'allogreffe en première rémission complète et pour les formes les plus graves, des essais de thérapies innovantes. Les LAM avec t(9;11) sont séparées des autres anomalies du gène MLL ou anomalies 11q23 du fait de leur pronostic nettement plus favorable que celles avec autres anomalies du gène MLL.

Toutes les autres anomalies caractérisent le groupe de LAM de risque intermédiaire des LAM.

**Tableau X** : influence du profil cytogénétique sur les résultats des traitements de première ligne des LAM. Les définitions des groupes cytogénétiques intègrent les données de la révision de l'OMS 2008 [38].

<b>GROUPE</b>	<b>Anomalies cytogénétique</b>	<b>Equivalent moléculaire</b>	<b>% de rémission complète</b>	<b>Survie sans maladie à 5 ans</b>
Favorable 10 à 15% des cas	t(15 ;17) t(8 ;21)(q22 ;q22) inv(16 ;13q22) /t(16 ;16)(p13 ;q22)	PML-RARA RUNX1-ETO CBF $\square$	90-95%	50- 60%
Intermédiaire 60-70% des cas	Caryotype normal +Y/+8/+11/+13/+21 t(9 ;11)(p22 ;q23)	MLLT3-MLL	70-85%	25-45%
Défavorable 20-25% descas	Caryotype complexe Inv3 (q21q26)/t(3 :3)(q21 ;q26) t(6 ;9)(q23 ; q34) t(6 ;11)(q27 ; q23) -5/-7	EV11 DEK-CAN MLLT4-MLL MLL-ELL	25-50%	0-20%

Les patients présentant un caryotype normal constituent le sous-groupe le plus vaste dans la classification cytogénétique (environ 50 %). Les grandes études qui se sont intéressées à l'impact clinique d'anomalies cytogénétiques dans les LAM ont classé les LAM-CN dans un groupe de pronostic intermédiaire, avec des taux de survie à 5 ans voisin de 30%. Mais il est maintenant clair que le groupe des LAM-CN est très hétérogène sur le plan moléculaire, avec des devenir cliniques variables selon la présence ou l'absence d'anomalies moléculaires, ou encore selon le profil d'expression génique. Au sein de ce

groupe, des études récentes ont identifié différentes anomalies moléculaires le plus souvent des mutations géniques: FLT3 (30%), NPM (50%), CEBPA (15%).

Les prédictions pronostiques dans le groupe de CN-LAM sont actuellement basées sur la détection de mutations de FLT3-ITD, NPM1 et CEBPA [31], orientant vers l'adoption de stratégies thérapeutiques adaptées [**Tableau XI**].

L'apport de la CGH-array pangénomique à haute résolution pourrait chez ces patients être intéressant dans la mise en évidence d'anomalies non détectables par les techniques de cytogénétique conventionnelle.

**Tableau XI** : Intégration du statut mutationnel dans la prise en charge des leucémies aiguës myéloïdes (adapté des propositions de l'European Leukemia Net [ELN, Dohner et al, 2007]) [38].

Profil cytogénétique	anomalies	Fréquence des anomalies	traitement	
favorable	t(15 ;17) t(8 ;21)(q22 ;q22) inv(16)(p13 ;q22) NPM1 mut / FLT3-ITD neg (CN) CEBPA mut (CN)	5 - 10% 10% 10% 5%	Pas de greffe allogénique en première ligne	
Intermédiaire-1	NPM1 mut / FLT3-ITD pos (CN) NPM1 wt / FLT3-ITD pos (CN) NPM1 mut / FLT3-ITD neg(CN)	10% 5% 20%	Greffe allogénique recommandée	
Intermédiaire-2	T(9 ;11)(p22.q23) Autres anomalies cytogénétiques	15%	Greffe allogénique recommandée	
défavorable	Inv(3)(q21q26.2) T(6 ;9)(p23 ;q34) Réarrangement de MLL -5 ou del(5q) ; _7 ; abnl (17p)	20 -25%	Greffe allogénique recommandée	

*NPM : nucleophosmin ; mut : présence de mutation ; neg : négatif ; CN : caryotype normal ; CEBPA : CCAAT/ enhancer bindingprotein (C/EBP) ; FLT3 : FMS-like-tyrosine-kinase-3 ; ITD : internal tandem duplication ; pos : positif ; MLL : mixed lineage leukemia.*

Il faut noter que les patients âgés atteints de LAM de génotype NPM1-MUT/FLT3-neg ont considérablement amélioré les résultats par rapport aux patients avec d'autres génotypes NPM1/FLT3 lorsque traités par une chimiothérapie cytotoxique [88].

La place de l'allogreffe de moelle en consolidation des LAM en première rémission complète (RC1) est assez bien définie pour les groupes de pronostic défavorable. Par contre, aucun avantage n'a pu être démontré en faveur de l'allogreffe en première rémission complète (RC) pour les LAM à cytogénétique favorable. Certaines anomalies cytogénétiques favorables, telles que la translocation (8;21) et l'inversion du chromosome 16, ont été associées à une excellente réponse à la chimiothérapie incluant l'utilisation de doses fortes d'aracytine [89]. Pour les leucémies aiguës promyélocyaires, bien que des survies longues aient été obtenues après une allogreffe en RC1 [90], l'introduction de l'acide tout-*trans* rétinoïque dans le traitement de ce type de leucémie a permis d'obtenir des résultats identiques au prix d'une toxicité moindre. Le bénéfice de cette procédure par rapport à une consolidation intensive à base d'aracytine haute dose (AracHD) reste débattu dans le groupe intermédiaire, représenté essentiellement par les caryotypes normaux (**Tableau XII**).

En effet, si les taux de survie sans rechute DFS (*disease free survival*) restent supérieurs après allogreffe, cette activité antileucémique ne se traduit pas par un bénéfice en survie globale, en raison de la toxicité de la greffe, et de la possibilité de réaliser l'allogreffe en RC2 aux patients rechutant après consolidation par AracHD. Il paraît donc important de définir, parmi les patients présentant un caryotype normal, lesquels pourraient réellement bénéficier d'une allogreffe en RC1. Dans ce dernier groupe, l'identification d'une mutation de type FLT3-ITD constitue probablement le facteur pronostique le plus important. En effet, les études s'accordent pour dire que cette mutation est associée avec un risque de rechute plus important et constitue ainsi une indication d'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) en présence d'un donneur compatible. La mutation du gène NPM1 est le deuxième paramètre important dans les LAM-CN : elle est associée à un pronostic favorable mais seulement en absence de FLT3-ITD. Les mutations du gène CEBPA, même si elles sont moins fréquentes, représentent également un facteur de bon pronostic dans les LAM-CN. Ainsi, le dépistage de mutations de NPM1, FLT3, CEBPA est un élément important du bilan initial de toute LAM du sujet jeune.

Il semble que l'allogreffe en RC1 ne bénéficie pas aux patients NPM1 muté/FLT3 non dupliqué, mais double la DFS des autres patients (mutation de CEBPA exclue).

**Tableau XII** : recommandations de greffe allogénique pour les leucémies aiguës myéloïdes (LAM) (Recommandations du groupe Ouest-Est d'étude des leucémies aiguës et autres maladies du sang GOELAMS 2008) [38]

<b>Profil de risque cytogénétique et moléculaire</b>	<b>LAM en 1ere RC</b>	<b>LAM RC2 et au delà</b>
Favorable	Non recommandée	Recommandée Géno, Phéno 10/10
Intermédiaire	Recommandée Géno, Phéno 10/10	Recommandée : tout type de greffe
défavorable	Recommandée : tout type de greffe	Recommandée : tout type de greffe

*RC : rémission complète ; Géno : existence d'un donneur intrafamilial géno-identique ; Phéno 10/10 : existence d'un donneur volontaire de cellules souches hématopoïétiques avec compatibilité HLA complète sur 2 \*5 allèles testés (10/10) ; « tout type de greffe » : inclut les types de greffe précédents, les donneurs volontaires avec compatibilité moindre (9/10) et les greffons issus de sangs placentaires.*

Devant les fréquences relatives des mutations évoquées, la conduite à tenir serait donc la suivante : des altérations des gènes NPM1 et FLT3 sont à rechercher pour toute LAM-CN, en sachant que seul les patients NPM muté/FLT3-ITD négatif présentent un pronostic favorable. Si ces deux altérations sont absentes, il convient de faire un dépistage des mutations du gène CEBPA pour stratifier le risque de rechute. Enfin, la valeur potentiellement péjorative des mutations du gène WT1, MLL-PTD ou de l'hyperexpression de EVI1, BAALC, MN1 ou PRAME pourrait affiner le pronostic et permettre de

mieux comprendre l'implication de ces gènes. Une « sous-classification » du groupe intermédiaire, en particulier les LAM-CN, semble ainsi de plus en plus applicable aux adultes de moins de 60 ans, avec deux attitudes thérapeutiques selon le pronostic établi :

- un groupe favorable pour les patients avec LAM-CN, NPM1 muté et/ou CEBPA muté sans FLT3-ITD, dont l'évolution est proche des LAM CBF, et qui ne semblent pas bénéficier d'une ACST ;
- un groupe défavorable pour les patients FLT3-ITD ou triple négatif, dont le pronostic est médiocre et qui pourront bénéficier d'une allogreffe en RC1.

Ces anomalies génétiques, de par leur importance pour la prise en charge thérapeutique des patients, sont ainsi prises en compte dans la classification OMS de 2008.

Dans les LAM-CBF, plusieurs études reconnaissent les mutations FLT3 et c-KIT comme des facteurs de risque de rechute accru. Il est donc indispensable de les rechercher également au diagnostic de LAM-CBF, pour identifier les patients qui pourraient bénéficier d'une greffe de CSH ou de thérapies alternatives incluant les drogues dirigées contre les nouvelles cibles.

Les mutations des gènes IDH1 et IDH2 sont parmi les plus fréquentes des LAM, après NPM1m et FLT3-ITD. Elles sont détectées chez 12% à 17% des patients à LAM, ce pourcentage peut atteindre 22% à 33% chez patients à caryotype normal [91]. Il semblerait qu'une mutation du gène IDH1 entraîne de moins bonnes réponses aux chimiothérapies à long terme avec un risque accru

de rechute notamment dans le groupe de patient défini comme « de bon pronostic » sur des caractéristiques moléculaires, soit de phénotype LAM-CN/NPM1mut/FLT3neg et pour les adultes de moins de 60 ans. Cette entité « provisoire » dans la classification OMS de 2008 ne semblait pas bénéficier d'une allogreffe en première RC. Boissel et al. proposent un nouveau profil génotypique dit « favorable », sur un modèle à quatre gènes, selon les statuts mutationnels de NPM1, C/EBP, FLT3 et IDH1 au sein des LAM-CN avec un groupe de « bon pronostic » pour les patients présentant une mutation de NPM1 ou de C/EBP sans mutation de IDH1 ou de type FLT3-ITD et un groupe de « mauvais pronostic » en cas de mutation de IDH1 ou de FLT3-ITD. Il semblerait donc important de rechercher les mutations du gène IDH1 notamment sur le codon R132 qui est de loin le plus fréquemment concerné.

Les équipes qui se sont intéressées aux mutations d'IDH2 en étudiant séparément les mutations R172 et R140 ont observé des impacts pronostiques différents : notamment la mutation IDH2 R172 qui est associée à une leucopénie et est exclusive dans près de 100 % des cas avec les autres mutations, confère un pronostic sombre au patient. Au contraire, les mutations situées en IDH1R140 semblent de bon pronostic. Cependant, ces résultats sont controversés et méritent confirmation avant d'associer cette mutation à une quelconque prise en charge thérapeutique [83].

Ces mutations récurrentes identifiées peuvent être impliquées dans la pathogénicité de la maladie [92]. La découverte de celles-ci et sûrement d'autres dans l'avenir devrait élargir encore nos connaissances sur ce groupe de pathologies, sur les mécanismes impliqués dans la survenue de la maladie et sur l'évaluation du risque de rechute.

#### **IV. APPORT DE LA CYTOGENETIQUE AU TRAITEMENT DES LAM**

##### **➤ Développement de thérapie ciblée [77,93,94]**

Les protocoles d'induction conventionnels associent une anthracycline à de la cytarabine. Ils permettent d'obtenir une rémission dans 60 à 90 % des cas [95]. Une rémission prolongée n'est obtenue que chez 20 à 30 % des patients [96]. Compte tenu des résultats décevants des approches classiques, notamment chez le sujet âgé et les patients à haut risque cytogénétique [97], un grand nombre de nouvelles thérapeutiques sont actuellement en cours d'investigation, qu'il s'agisse d'agents cytotoxiques, d'immunothérapie ou de thérapies dites ciblées (c'est-à-dire ciblant une anomalie moléculaire bien identifiée de la cellule leucémique) [38]. L'évolution actuelle des traitements médicaux du cancer dont les LAM voit l'émergence incontestable de la thérapeutique ciblée. L'application optimale de la thérapeutique ciblée nécessite par définition une connaissance du statut tumoral vis-à-vis de la cible moléculaire concernée (niveau de base de la cible), l'efficacité moléculaire du ciblage tumoral (preuve du concept), l'impact moléculaire du traitement avec sa pharmacodynamie (efficacité, toxicité). Le premier exemple de thérapeutiques ciblées, est le traitement de LAM3 (10 % des LAM) par acide tout-transrétinoïque ATRA, molécule qui à elle seule, est capable d'induire des rémissions complètes [98].

### FLT3 [98]

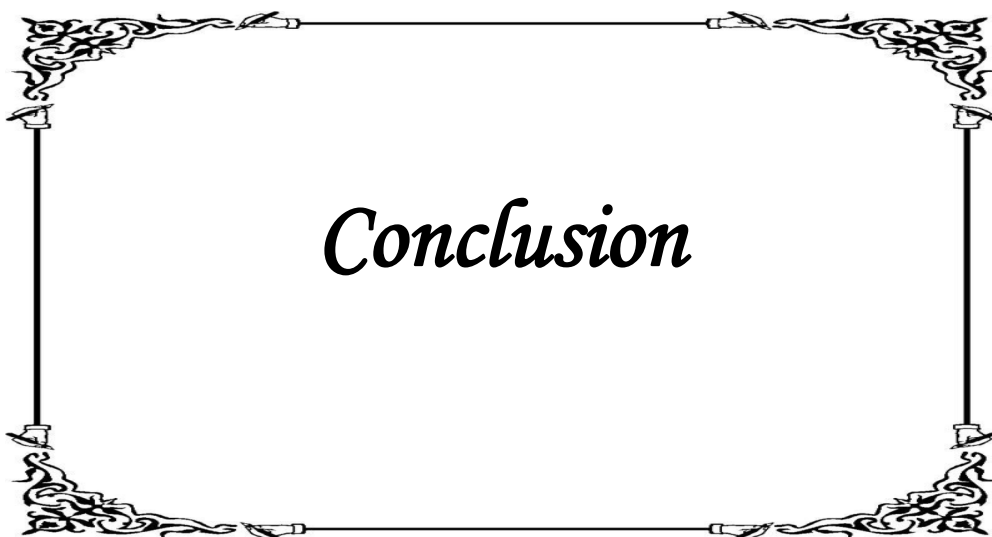
La mise en évidence de l'incidence élevée de mutations du RTK FLT3 dans les LAM a amené le développement d'inhibiteurs spécifiques de cette kinase. Plusieurs *inhibiteurs de FLT3* sont actuellement en cours d'évaluation: **PKC412** (Novartis), **CEP710** (Cephalon), **MLN518** (Millenium), **SU11248** (SUGEN). Ces inhibiteurs constituent un réel espoir d'amélioration des résultats dans le traitement des LAM [94]. Ils ont montré une activité modérée en monothérapie. L'efficacité n'est pas toujours corrélée avec le statut mutationnel de FLT3. Des résultats préliminaires d'association avec la chimiothérapie sont plus encourageants (47% de réponse au traitement avec association **CEP710-chimiothérapie** contre 23,5% de réponse pour la chimiothérapie seule).

### RAS

Environ 15 % des LAM présentent une mutation activatrice de RAS, principalement de N-RAS. Les inhibiteurs de farnesyl transférase (FTI) modulent la signalisation par cette voie en empêchant la farnesylation de RAS. Le **tipifarnib** (Zarnestra<sup>®</sup>, Johnson & Johnson) est le premier de ces inhibiteurs évalué en clinique et notamment dans les LAM. Une étude de phase I de l'association VP16-**tipifarnib** montre que 21 % des patients testés (sujets > 65 ans dont 52% ont une cytogénétique défavorable) ont obtenu une RC et la durée médiane de RC est de 7 mois [77].

### **Mtor [9]**

La kinase mTOR (*mammalian target of rapamycin*) impliquée dans la voie PI3K/Akt de la transduction du signal est activée dans de nombreux cancers y compris les LAM et des LAL. Les blastes leucémiques présentant une activation ou une tenue du relais PI3K/Akt/mTOR montrent une sensibilité très augmentée aux inhibiteurs de ces kinases, en particulier à la rapamycine (Rapamune<sup>®</sup>, Wyeth). Cette molécule suscite beaucoup d'intérêt actuellement pour ses propriétés antiprolifératives. La rapamycine se complexe à son récepteur intracellulaire (FKBP12) et cet hétérodimère se fixe sur mTOR, inhibant ainsi de façon spécifique son activité kinase. In vitro, l'effet de la rapamycine est principalement cytostatique.



*Conclusion*

Les LAM constituent un groupe très hétérogène d'hémopathies malignes myéloïdes et représentent le type de leucémie aiguë le plus fréquent chez l'adulte. Une caractérisation complète des leucémies aiguës s'avère nécessaire dans le but de définir des entités biologiquement homogènes et cliniquement pertinentes.

L'analyse cytogénétique est devenue, donc, un examen indispensable dans les LAM, faisant partie intégrante du bilan diagnostique et participant à la mise en place d'une action thérapeutique adaptée au pronostic individuel ainsi établi. L'intégration des techniques cytogénétiques et ses innovations technologiques en routine hospitalière, est donc de très grande importance pour une prise en charge optimale des LAM et de suivi de la maladie résiduelle.

L'espoir est que ces avancées techniques et les connaissances nouvelles qu'elles amènent se traduisent par le développement de traitement ciblé, donc moins toxique pour les patients, et plus efficace.



*Résumés*

## **RESUME**

**Titre :** Anomalies cytogénétiques dans les leucémies aiguës myéloïdes : données récentes.

**Auteur :** Hanane SALHANE

**Mots clés :** leucémies aiguës myéloïdes ; caryotype ; FISH ; classification OMS.

Les leucémies aiguës myéloïdes (LAM) constituent un groupe hétérogène de pathologies dues à la prolifération clonale de précurseurs hématopoïétiques immatures (blastes). La principale conséquence de cette prolifération est l'installation d'un tableau d'insuffisance médullaire associant une neutropénie fébrile, un syndrome anémique et un syndrome hémorragique.

Les LAM ont pu bénéficier du grand essor qu'a connu la cytogénétique dans les dernières années, et du développement de nouvelles techniques de cytogénétique moléculaire (FISH, M-FISH, CGH et CGH array), sur le plan diagnostique, pronostic et stratégie de traitement.

Ce travail a pour objectif de décrire les principales techniques cytogénétiques, et leur impact sur le diagnostic, la classification, le pronostic et le traitement des LAM.

## **SUMMARY**

**Title:** Cytogenetic abnormalities in acute myeloid leukemia : recent data.

**Author:** Hanane SALHANE

**Key words:** acute myeloid leukemia; karyotype; FISH; WHO classification.

Acute myeloid leukemias (AML) are an heterogeneous group of disorders caused by clonal proliferation of immature hematopoietic precursors (blasts). The main consequence of this proliferation is the installation of an array of bone marrow failure involving febrile neutropenia, an anemia syndrome and a hemorrhagic syndrome.

The AML have benefited from the large boom experienced in cytogenetic research in recent years, and the development of new molecular cytogenetic techniques (FISH, M-FISH, CGH et CGH-array) in terms of diagnostic, prognosis, classification and treatment strategy.

This work aims to describe the main cytogenetic techniques and their impact on the diagnosis, classification , prognosis and treatment of AML.

## ملخص

**العنوان :** التشوهات الوراثية الخلوية في سرطان الدم النخاعي الحاد: بيانات حديثة.

**من طرف:** حنان صلحان

**الكلمات الأساسية :** سرطان الدم النخاعي الحاد, النمط النووي, مضان التهابي في الموقع, تصنيف منظمة الصحة العالمية.

سرطان الدم النخاعي الحاد هو مجموعة غير متجانسة من الاضطرابات الناجمة عن انتشار النسيلى لسلائف مكونة للدم غير ناضجة. النتيجة الرئيسية لهذا الانتشار هو ظهور أعراض فشل نخاع العظام التي تشمل قلة العدلات الحموية و متلازمة فقر الدم ومتلازمة نزفية.

وقد عرف علم الوراثة الخلوية طفرة كبيرة في السنوات الأخيرة، تتمثل في تطوير تقنيات وراثية خلوية جزيئية جديدة، إستفاد منها سرطان الدم النخاعي الحاد على مستوى التشخيص والتصنيف واستراتيجية العلاج.

ويهدف هذا العمل إلى وصف التقنيات الوراثة الخلوية الرئيسية وتأثيرها على تشخيص وتصنيف وعلاج سرطان الدم النخاعي الحاد.



*Références*

- [1] **F. Valensi.** Classification des leucémies aiguës : apport des propositions de l'Organisation mondiale de la santé. Encycl Méd Chir (Elsevier SAS, Paris), Hématologie ,[13-018-G-05] ; 2003 : 7 p.
- [2] **M.P. Martelli , P. Sportoletti , E. Tiacci , M.F. Martelli , B. Falini.** Mutational landscape of AML with normal cytogenetics : Biological and clinical implications. Blood Reviews (January 2013) ; 27 (1) : 13–22.
- [3] **T. Leblanc, A. Baruchel, B. Girier, M.F. Auclerc, G. Schaison.** Leucémies aiguës myéloblastiques. Encycl Méd Chir (Elsevier Paris-France), Pédiatrie, [4-080-E-10], 1995 : 9 p.
- [4] **LM. Kelly, DG. Gilliland.** Genetics of myeloid leukemias. Annu. Rev. Genomics Hum Genet 2002 ; 3 : 179-198.
- [5] **JD. Rowley.** The role of chromosome translocations in leukemogenesis. Seminars in Hematology 1999 ; 36 : 59-72.
- [6] **L. Kelly, J. Clark, DG. Gilliland.** Comprehensive genotypic analysis of leukemia : clinical and therapeutic implications. Curr Opin Oncol 2002 ; 14 : 10-8.
- [7] **M. Jotterand.** Cytogénétique des hémopathies malignes ; Hématologie ; [consulté le 20/06/2012]. Disponible à partir de URL : <http://revue.medhyg.ch/article.php3?sid=22163>.
- [8] **F. Huguet, C. Récher.** Leucémies aiguës de l'adulte. EMC – Taité de Médecine Akos ; [Article 4-0100] ; 2012 ; 7(3) : 1-9.

- [9] **C. Dos Santos, C. Récher, C. Demur, B. Payrastre.** La voie PI3K/Akt/mTOR : une nouvelle cible thérapeutique dans le traitement des leucémies aiguës myéloïdes. Bull cancer Mai 2006 ; 93 (5) :445-447.
- [10] **S. Konoplev, C.E. Bueso-Ramos.** Advances in the pathologic diagnosis and biology of acute myeloid leukemia. Ann Diag pathol 2006 ; 10 : 39-65.
- [11] **F. Bauduer.** Aspects cliniques des leucémies aiguës. Encycl Méd Chir (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris, tous droits réservés), Hématologie, [13-018-G-10] ; 2002 : 8 p.
- [12] **N. Cambier ; A. Charpentier.** Les différentes leucémies. Soins 2008 ; 723 : 42-43.
- [13] **P. Chaïbi.** Traitement de l'anémie dans les hémopathies malignes chez les personnes âgées. Hématologie 2006 ; 12 (spécial 3) : 36.
- [14] **RJ. Listner, AH. Goldstone.** ABC of clinical haematology : the acute leukemias. Br Med / 1997; 314 : 733-743.
- [15] **KB. Miller.** Clinical manifestations of acute nonlymphocytic leukemia. In: R. Hoffman , EJ Jr. Benz, SJ. Shattil, B. Furie , HJ. Cohen eds. Hematology basic principles and practice. New York : Churchill Livingstone 1991 : 715-731.
- [16] **KB. Miller.** Clinical manifestations of acute nonlymphocytic leukemia». In: R. Hoffman , EJ Jr. Benz, SJ. Shattil, B. Furie , HJ. Cohen eds. Hematology basic principles and practice. New York : Churchill Livingstone 1991 : 776-784.

- [17] **N. SEPP, T. Radasiewicz, CJ. Meijer et al.** Specific skin manifestation in acute leukemia with monocytic differentiation. *Cancer* 1993 ; 71 : 124-132.
- [18] **B. Soutou, E. Wetterwald, S. Aractingi.** Manifestations cutanées des hémopathies malignes. *EMC Traité de Médecine Akos* 2012 : 7(2) : 1-7. [Article 2-0703].
- [19] **MS. Tallman, D. Hakimian, JM. Shaw et al.** Granulocytic sarcoma is associated with the (8 ;21) translocation in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 1993 ; 11: 690-697.
- [20] **O. Legrand, JY. Perrot, M.Baudard, A. Cordier, R. Laurantier, G. Simonin et al.** The immunophenotype of 177 adults with acute myeloid leukemia : proposal of a prognostic score. *Blood* 2000; 96 : 870-877.
- [21] **M. Imbert, H. Jouault et M. Tulliez.** Cytologie des leucémies aiguës. *Rev Prat* 1996 ; 46 : 23-9.
- [22] **N. Lee Harris; ES Jaffe; J. Diebold , G. Flandrin , HK. Muller-Hermelink , J. Vardiman.** The World Health Organization classification of Hematological Malignancies. *Mod Pathol* 2000 ; 13(2) : 193–207.
- [23] **JW. Vardiman, NL. Harris, RD. Brunning.** The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms. *Blood* 2002; 100: 2292-2302.

- [24] **ES. Jaffe, NL. Harris, H. Stein et JW. Vardiman.** Tumours of Haematopoietics and lymphoid Tissues : World Health Organization Classification of Tumors. Pathology and Genetics, (Lyon :IARC Press) 2001 : 351.
- [25] **B. Falini.** New classification of acute myeloid leukemia and precursor-related neoplasms : changes and unsolved issues. Discovery Medicine (October 2010) ; ISSN: 1539-6509; Discov Med 10 (53): 281-292.
- [26] **C. Predhomme, L. Liopis, N. Boissel.** Classification et facteurs pronostiques des leucémies aiguës. EMC (Elsevier SAS) ; Hématologie [13-018-G-05] ; 2012 ; 7(1) : 1-17.
- [27] **JW. Vardiman, J. Thiele, DA.Arber, RD. Brunning, MJ Borowitz et al.** The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. Blood (July 2009) ; 114(5) : 937-951.
- [28] **F. Mugneret, P. Callier, B. Favre-Audry.** Anomalies chromosomiques dans les leucémies aiguës. Encycl Méd Chir (Elsevier SAS. Tous droits réservés), Pathol Biol 2003 ; 51(6) : 314-328.
- [29] **H. Merle-Béral, M. Le Garff-Tavernier.** Immunophénotypage des hémopathies malignes par cytométrie de flux. EMC (Elsevier Masson SAS), Hématologie, [13-000-L-10] ; 2008 : 3p.
- [30] **C. Emile.** L'hématologie maligne au carrefour de la cytologie et de la biologie moléculaire. EMC ; Hématologie Pratique Option Bio (2009) ; (418-419) : 21-23

- [31] **H. Döhner, EH. Estey, S. Amadori, FR. Appelbaum, T. Büchner, AK. Burnett et al.** Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults : recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood* 2010 ; 115 : 453-474
- [32] **I. Plantier, JL. Lai, E. Wattel, F. Bauters et P. Feux.** Inv(16) may be one of the only favorable factors in acute myeloid leukemia : a report on 19 cases with prolonged follow-up. *Leukemia Research* (1994) ; 18(12) : 885-888.
- [33] **C. Preudhomme.** Biologie moléculaire et leucémies aiguës. *Rev Fr Lab* (juin 2002) ; 344 : 43p.
- [34] **A. TOUZART.** Leucémie aiguë promyélocytaire : un diagnostic d'urgence. *Cancérologie Pratique* (octobre 2009) ; 425 : 14-16. 34
- [35] **M. Roussel, M. Malet, V. Salaun, S. Cheze et X. Troussard.** Hétérogénéité des leucémies aiguës myéloïdes avec translocation t (15 ; 17). *Rev Fr Lab* (juin-juillet 2000) ; 324 : 69p.
- [36] **JL. Huret.** Chromosomes, leucémies, tumeurs, cancers héréditaires. *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol* (January 2008). [*consulté le 01/07/2013*]. Disponible à URL : [http://atlasgeneticsoncology.org/Educ/Hempat\\_t.html](http://atlasgeneticsoncology.org/Educ/Hempat_t.html)
- [37] **Y. Hayashi.** The molecular genetics of recurring chromosome abnormalities in acute myeloid leukemia. *Semin hematol* 2000 ; 37 : 368-380.

- [38] **T. Prebet, A. Etienne, N. Vey.** Prise en charge thérapeutique des leucémies aiguës myéloïdes. EMC (Elsevier Masson SAS), Hématologie, [13-018-G-50], 2012 : 1-14.
- [39] **AM. Stoppa, N. Vey, R. Bouabdallah et al.** Pronostic et traitement des leucémies aiguës myéloblastiques. EMC (Elsevier SAS, Paris) ; Hématologie 2002 ; [13-018-G-50] :13p.
- [40] **R. Berger.** Évolution d'un agent double : la cytogénétique en hématologie. (Elsevier SAS. Tous droits réservés). Pathol Biol (August 2003) ; 51(6) : 305–306.
- [41] **A. BERNHEIM et al.** De la cytogénétique à la cytogénomique des tumeurs: le point en 2004. Bull Cancer 2004 ; 91(1) : 29-43.
- [42] **R. Berger.** Cytogénétique humaine : de 1956 à 2006. Pathol Biol (Février 2007) ; 55(1) : 1-12.
- [43] **H. Avet-Loiseau.** Cytogénétique des hémopathies malignes. EMC ; Hématologie ; [13-000-K-10] ; 2000 : 7p.
- [44] **F. Mugneret, C. Charrin.** Cytogénétique conventionnelle et moléculaire des leucémies aiguës. Rev Fr Lab 2002 ; 2002 (344) : 31-40.
- [45] **L. Lodé, H. Avet-Loiseau.** Anomalies chromosomiques et géniques dans les hémopathies malignes. EMC ; Hématologie ; [13-000-K-10] ; 2007 : 2-9.

- [46] **P. Vago.** Un demi-siècle de la cytogénétique humain et médical. Morphologie (août 2009) ; 93(301) : 42-50.
- [47] **M. Lafage-Pochitaloff.** Notions de base en cytogénétique conventionnelle et moléculaire : application au diagnostic des hémopathies malignes. Pathol Biol 2003; 51 : 307–311.
- [48] **JH. Tjio, A. Levan.** The chromosome number of man. Hereditas 1956; 42 : 1-6.
- [49] **JM. Dupont.** Ultrastructure du chromosome. Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology ; [consulté le 24/07/2013]. Disponible en ligne à partir de URL : <http://atlasgeneticsoncology.org/Educ/StrucChromID30063FS.html>.
- [50] **LG. Shaffer, N. Tommerup.** ISCN 2005 : an International System for Human Cytogenetic Nomenclature (2005) : recommendations of the International Standing Committee on Human Cytogenetic Nomenclature. Basel : S. Karger AG; 2005: 4-11.
- [51] **J. Lynn-B Jorde, JC. Carey, MJ. Bamshad, RL. White.** Génétique médicale. In : notions fondamentales de biologie moléculaire : structure et fonctions des gènes et des chromosomes. Paris : Elsevier ; 2004 : 7-31.
- [52] **LG. Shaffer, N. Tommerup.** ISCN 2013 : an International System for Human Cytogenetic Nomenclature (2013) : recommendations of the International Standing Committee on Human Cytogenetic Nomenclature. Basel : S. Karger AG; 2013 : 5-12.

- [53] **K. Rack.** Apport des techniques d'hybridation fluorescente in situ dans les hémopathies malignes. EMC ; Hématologie, [13-000-K-50] ; 1997 : 1p.
- [54] **F. Pelluard-Nehme, T. Dupont, M. Turmo, JP. Merlio, MA. Belaud-Rotureau.** Application de la technique de FISH interphasique avec des sondes encadrantes dites de « split » à différents types de préparations histologiques et cytologiques. (Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés) ; Morphologie 2007 ; 91 : 52-60.
- [55] **N. Dastuque.** GFCH (Group Français de Cytogénétique Hématologique : introduction aux recommandations pour la prise en charge cytogénétique des hémopathies. Pathol Biol (2004) ; 52 : 235-237
- [56] **M. Lafage-Pochitaloff.** Apport de l'hybridation in situ en fluorescence (FISH) en cytogénétique hématologique. Hématologie (1995) ; 1 (4) : 313-328.
- [57] **N. Bouayed.** Apport de la cytogénétique moléculaire au diagnostic des anomalies chromosomiques. Ann Bio clin (2004) ; 62 (6) : 629-637.
- [58] **JP. Siffroi, S. Christin-Maitre.** Aspects moléculaires des anomalies génétiques rencontrées dans l'infertilité humaine : des chromosomes aux gènes. Méd Thér Mdecine Reprod (Septembre-Octobre 2006) ; 8(5) : 311-319.
- [59] **N. Chevassus-au-Louis.** FISH : la renaissance de la cytogénétique. Biofutur (May 2000) ; 200 : 18.

- [60] **SP. Romana, P. Gosset, et al.** Apport de la cytogénétique moléculaire au diagnostic des anomalies chromosomiques constitutionnelles. *Méd Thér - Pédiatrie* (Juillet - Août 2001) ; 4(4) : 284-290.
- [61] **N. Douet-Guilbert, et al.** Stratégies d'identification des marqueurs chromosomiques surnuméraires en cytogénétique constitutionnelle. *Pathol Biol* 2008, 56 : 362–367.
- [62] **JY. Jaffray, M. Giollant, B. Perissel, P. Vago.** Du caryotype « monocouleur » au caryotype « multicouleur » : applications de la M-Fish en hématologie et en oncologie. *Bull Cancer* (février 2002) ; 89(2) : 174 -180.
- [63] **MA. Belaud-Rotureau, et al.** Le caryotype spectral (SKY) : principe, avantages et limites en cytogénétique constitutionnelle et tumorale. *Ann Biol Clin* (Mars - Avril 2003) ; 61(2) ; 139-46.
- [64] **NA. Bouayed, MF. Portnoi, F. Vialard, A. Amouri, J. Van Den Akker et JL. Taillemite.** Les techniques de cytogénétique moléculaire : principes et progrès. *Médecine Science* (2000) ; 16 : 1405-1411.
- [65] **B. Keren, D. Sanlaville.** Nouveaux outils diagnostiques du retard mental . *Méde Thér –Pédiatrie* (juillet-août 2008) ; 11(4) : 230-241. 65
- [66] **H. Avet Loiseau.** Caryotype multi-couleur : quelle utilisation en hématologie?. *Hématologie* (Avril 2004) ; 10(2) : 159-62.
- [67] **L. Gouas, C. Goumy, L. Véronèse, A. Tchirkov et P. Vago.** Gene dosage methods as diagnostic tools for the identification of chromosome abnormalities. *Pathol Biol* (2008) ; 56 : 345-353.

- [68] **V. Malan, JM. Lapierre, M. Vekemans, SP. Romana.** La CGH array : un bouleversement de la pratique hospitalière en cytogénétique. IRBM / November–December 2007 ; 28 ; 5–6 : 245-251.
- [69] **J. Andrieux.** Puces à ADN (CGH-array) : application pour le diagnostic de déséquilibres cytogénétiques cryptiques. Pathol Biol (2008) ; 56 : 368-374.
- [70] **MH. Kim, J. Stewart, C. Devlin, YT. Kim; E. Boyd, M. Connor.** The application of comparative genomic hybridization as an additional tool in the chromosome analysis of acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes. Cancer Genetics and Cytogenetics (2001); 126 ; 1 : 26-33.
- [71] **B. Benzacken AC. Tabet et al.** Apport de la CGH-array au diagnostic prénatal d'anomalies génomiques chez des fœtus présentant des signes malformatifs, avec un caryotype apparemment équilibré. ITBM-RBM 2007 ; 28 : 239–244.
- [72] **PA. Bryon.** Les leucémies aiguës, modèle exemplaire des avancées de l'oncologie. Rev Fr Labo (2002) ; (344) : 17-18.
- [73] **S. Castaigne.** Recommandations pour le diagnostic et le traitement des leucémies aiguës myéloblastiques. Hématologie 2004 ; 10(1) : 80-96.
- [74] **N. Dastugue, C. Payen, M. Lafage-Pochitaloff, P. Bernard, D. Leroux, F. Huguet-Rigal et al.** Prognostic significance of karyotype in de novo adult acute myeloid leukaemia. Leukaemia (1995) ; 9 : 1491–1498.

- [75] **SC. Raimondi, MN. Chang, Y. Ravindranath, FG. Behm, MV. Gresik, CP. Steuber et al.** Chromosomal abnormalities in 478 children with acute myeloid leukaemia : clinical characteristics and treatment outcome in a Cooperative Pediatric Oncology Group Study – POG 8821. *Blood* (1999); 94(11) : 3707–3716.
- [76] **N. Dastugue.** Place de la cytogénétique conventionnelle et moléculaire dans l'étude des leucémies aiguës. (Elsevier SAS), *Pathol Biol* (2003) ; 51(6) : 337-345.
- [77] **S. De Botton.** Leucémie aiguë myéloblastique. (John Libbey Eurotext) *Hématologie* 2007 ; 13(Numéro spécial) ; 31-37.
- [78] **S. De Botton, P. Fenaux, B. Quesnel.** Facteurs pronostiques des leucémies aiguës et des lymphomes. (Elsevier SAS) ; *Réanimation* (juillet 2002) ; 11(5) : 306-316.
- [79] **B. Löwenberg, S. Suci, E. Archimbaud, H. Haak, P. Stryckmans, R. de Cataldo et al.** Mitoxantrone versus daunorubicin in induction-consolidation chemotherapy--the value of low-dose cytarabine for maintenance of remission, and an assessment of prognostic factors in acute myeloid leukemia in the elderly: final report. *J Clin Oncol* (1998) ; 16 : 872-881.
- [80] **B. Löwenberg.** Treatment of the elderly patient with acute myeloid leukaemia. *Baillieres Clin Haematol* 1996 ; 9 : 147-159.

- [81] **CP. Leith, KJ. Kopecky, J. Godwin, TS. McConnell, ML. Slovak, IM Chen et al.** Acute myeloid leukemia in the elderly: assessment of multidrug resistance (MDR1) and cytogenetics distinguishes biologic subgroups with remarkably distinct responses to standard chemotherapy. A southwest oncology group study. *Blood* 1997 ; 89 : 3323-3329.
- [82] **L. Llopis, N. Boissel, O. Nibourel, M. Wemeau, A. Renneville, H. Dombret, C. Preudhomme.** Place de la biologie moléculaire dans l'évaluation pronostique des patients atteints de leucémie aiguë myéloïde. (John Libbey Eurotext) ; *Hématologie* 2009; 15(6) :426-443.
- [83] **L. Llopis, OR. Nibourel, N. Boissel, P. Huchette, A. Renneville, E. Abdelhamid, H. Dombret, C. Preudhomme.** Implication des mutations des gènes *IDH1* et *IDH2* dans les leucémies aiguës myéloïdes. (John Libbey Eurotext) ; *Hématologie* 2011 ; 17(2) : 132-144.
- [84] **C. Emile.** Diagnostic et pronostic des leucémies aiguës de l'adulte. (communiqué de D. Sainty JIB 2009) *Option Bio* (juin 2010) ; 438 : 14p.
- [85] **JP. Radich.** Classification moléculaire de la leucémie myéloïde aiguë: Are We There Yet?. *Am Soc Clin Oncol* ; 2008. *JCO* Octobre 2008 26(28) : 4539-4541.
- [86] **C. Preudhomme, H. Leroy, S. De Botton.** Facteurs biologiques du pronostic des leucémies aiguës myéloïdes. (John Libbey Eurotext) ; *Hématologie* 2004 ; 10(1) : 59-67.

- [87] **C. Terré.** Le caryotype est le facteur pronostique primordial dans les LAM. Hématologie. [consulté le 20/06/2012]. Disponible à partir de URL :  
**<http://www.jle.com/fr/revues/medecine/hma/edocs/00/00/04/2B/breve.phtml>**
- [88] **N.Daver, T. Liu Dumlao, F. Ravandi, S. Pierce, G. Borthakur et al.** Effect of NPM1 and FLT3 mutations on the outcomes of elderly patients with acute myeloid leukemia receiving standard chemotherapy. *clinical lymphoma myeloma and leukemia* (august 2013) ; 13(4) : 435-440.
- [89] **H. Kantarjian, M. Beran, J. Cortes, S. O'Brien, F. Giles, S. Pierce et al.** Long-term follow-up results of the combination of topotecan and cytarabine and other intensive chemotherapy regimens in myelodysplastic syndrome. *Cancer* 2006; 106 : 1099-1109.
- [90] **EL. Sievers, RA. Larson, EA. Stadtmauer, E. Estey, B. Lowenberg, H. Dombret et al.** Efficacy and safety of gemtuzumab ozogamicin in patients with CD33-positive acute myeloid leukemia in first relapse. *J Clin.Oncol* 2001 ; 19 : 3244-3254.
- [91] **TA. Graubert, ER. Mardis.** Genomics of acute leukemia. *Cancer J* (November 2011) ; 17(6) : 487-491.

- [92] **ER. Mardis, L. Ding, DJ. Dooling et al.** Mutations récurrentes dans la leucémie myéloïde aiguë. *OptionBio* 2010 ; (434). *In* : Recurring mutations found by sequencing an acute myeloid leukemia genome. *NEJM*. 2009 ; 361 : 1058-1066.
- [93] **ML. Tallman.** New agents for the treatment of acute myeloid leukemia. *Best Pract Res Clin Haematol* 2006 ; 19 ; 2 : 311-320.
- [94] **N. Boissel.** Thérapeutiques ciblées dans les leucémies aiguës. (Elsevier Masson SAS) ; *Réanimation* (août 2006) ; 15(4) : 278-284
- [95] **MS. Tallman, DG. Gilliland, JM. Rowe.** Drug therapy for acute myeloid leukemia. *Blood* 2005; 106: 1154-1163.
- [96] **N. Boissel.** Leucémies aiguës myéloïdes. *Hématologie* ;  
[consulté le 24/06/2012]. Disponible à partir de URL :  
<http://www.jle.com/fr/revues/medecine/hma/edocs/00/04/01/3D/article.phtml>
- [97] **E. Estey.** New drugs in acute myeloid leukemia. *Semin Oncol* 2008 ; 35 : 439-448.
- [98] **MA. Sanz, D. Grimwade, MS.Tallman et al.** Management of acute promyelocytic leukemia: recommendations from an expert panel on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood* (26 Feb 2009) ; 113(9): 1875-1891.

## *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 le respect de la vie humaine dès la conception.*
- *Même sous la menace, je n'userai pas de mes connaissances médicales d'une façon contraire aux lois de l'humanité.*
- *Je m'y engage librement et sur mon honneur.*

# قسم أبقراط

بسم الله الرحمن الرحيم

## أقسم بالله العظيم

في هذه اللحظة التي يتم فيها قبولي عضوا في المهنة الطبية أتعهد علانية:

- ◀ بأن أكرس حياتي لخدمة الإنسانية .
- ◀ وأن أحترم أساتذتي وأعترف لهم بالجمل الذي يستحقونه .
- ◀ وأن أمارس مهنتي بواجب من ضميري وشر في جاعلا صحة مريض هدي في الأول .
- ◀ وأن لا أفشي الأسرار المعهودة إلي .
- ◀ وأن أحافظ بكل ما لدي من وسائل على الشرف والتقاليد النبيلة لمهنة الطب .
- ◀ وأن أعتبر سائر الأطباء إخوة لي .
- ◀ وأن أقوم بواجبي نحو مرضاي بدون أي اعتبار ديني أو وطني أو عرقي أو سياسي أو اجتماعي .
- ◀ وأن أحافظ بكل حزم على احترام الحياة الإنسانية منذ نشأتها .
- ◀ وأن لا أستعمل معلوماتي الطبية بطرق يضر بحقوق الإنسان مهما لاقيت من تهديد .
- ◀ بكل هذا أتعهد عن كامل اختياري ومقسما بشري في .

والله على ما أقول شهيد .

جامعة محمد الخامس - السويسي  
كلية الطب والصيدلة بالرباط

أطروحة رقم: 94

سنة: 2013

## التشوهات الوراثية الخلوية في سرطان الدم النخاعي الحاد: بيانات حديثة

### أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم: .....

من طرف

الآنسة: حنان صلحان

المزداة في: 10 نونبر 1981 بالدار البيضاء

### لجبل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

الكلمات الأساسية: سرطان الدم النخاعي الحاد - النمط النووي - مضان التهجين في الموقع -  
تصنيف منظمة الصحة العالمية.

#### تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس

السيد: عبد القادر بلمكي

أستاذ في علم الدم

مشرف

السيد: عز العرب مسرار

أستاذ في علم الدم البيولوجي

أعضاء

السيد: عبد الله دامي

أستاذ مبرز في الكيمياء الإحيائية

السيدة: سعاد بنكيران

أستاذة مبرزة في علم الدم البيولوجي