



UNIVERSITE SIDI MOHAMMED BEN ABDELLAH
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
FES



Année 2015

Thèse N° 186/15

LES ASPECTS CLIQUES ET CYTOGENETIQUES DE LA LEUCEMIE MYLOIDE CHRONIQUE

THESE

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 15/12/2015

PAR

Mme. EL MOUHDI GHIZLAN

Née le 15 AVRIL 1986 à OUZZANE

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MEDECINE

MOTS-CLES :

Leucémie myéloïde chronique – La cytogénétique – Les aspects cliniques

JURY

M. AMRANI HASSANI MONCEF..... Professeur d'Hématologie	PRESIDENT
M. OULDIM KARIM..... Professeur agrégé de Génétique	RAPPORTEUR
Mme. RABHI SAMIRA..... Professeur agrégé de Médecine interne	JUGE

PLAN

PARTIE THEORIQUE.....	8
I-Introduction.....	9
II- Epidémiologie	12
III – Historique	13
IV- Les facteurs étiologiques	14
V-Physiopathologie	14
1- Translocation t(9,22)(q34,q11)	15
2- Gènes impliqués dans la translocation	16
2-1- Gène ABL et sa protéine.....	16
2-2- Gène BCR et sa protéine	17
2-3- Gène BCR/ABL et protéine de fusion	19
3-Mécanismes d'action de la protéine de fusion	21
VI - Diagnostic positif.....	22
1- Etude clinique de la maladie à la phase chronique	22
1-1- Circonstances de découverte	22
1- 2- Examen clinique.....	23
2 – Examens paracliniques.....	24
2-1- Hémogramme	24
2-2 – Myélogramme.....	25
2-3 - Les examens cytogénétiques	26
2-4-Les examens moléculaires	26
2-5 -Autres examens biologiques.....	29
VII –L'évolution.....	30
A-Phase chronique	30
B- Phase d'accélération	30

C- Phase d'acutisation.....	31
VIII- Diagnostic différentiel	34
1- La phase chronique.....	34
a- Myélémies réactionnelles.....	34
b- Autres syndromes myéloprolifératifs	34
c- leucémie myélomonocytaire chronique	35
2- La phase aiguë.....	36
IX -Complications	36
1- La thrombocytose.....	36
2- La leucostase.....	36
3- L'hyperuricémie.....	36
4-L'insuffisance médullaire	37
X-Evaluation pronostique.....	37
XI- Traitement.....	42
A- Moyens	42
1- Chimiothérapie conventionnelle	42
2- L'allogreffe	43
3- L'interféron alpha	43
4- Les inhibiteurs de la tyrosine kinase.....	44
5- Les traitements adjuvants.....	49
B -La prise en charge de la LMC	50
C-Suivi du traitement de la LMC.....	51
PARTIE PRATIQUE	55
I- Matériel et méthodes.....	56
1-Type et Population de l'étude.....	56

2-Méthodes	56
3-Techniques.....	57
II- Résultats	71
A -Profil épidémiologique	72
1- Prévalence	72
2-Répartition géographique	72
3- Répartition selon la profession.....	73
4-Répartition selon L'âge	74
5- Répartition selon le sexe.....	75
6-Les données étiologiques.....	76
B-Profil clinique	76
1- Splénomégalie	76
2- Syndrome hémorragique.....	76
3- Hépatomégalie	76
4 - Adénopathies	76
5- Autres	77
C-Profil biologique	77
C-1-Hémogramme.....	77
a- Globules blancs.....	77
b- Myélémie	78
c- Anémie.....	78
d -Les plaquettes.....	79
C-2- Le myélogramme	79
C-3-Examens cytogénétiques.....	80
D- Evaluation pronostique	86

III- Discussion	87
A - Données épidémiologiques	88
1-L'âge	88
2- Le sexe.....	89
3 -Origine géographique	89
4-Répartition selon la profession.....	90
5-Facteurs étiologiques.....	90
B-Données cliniques :	91
1-Splénomégalie	91
2- Syndrome hémorragique.....	91
3- Hépatomégalie	91
4- Les adénopathies.....	91
C-Données paracliniques :	92
1-L'Hémogramme :	92
2-Le myélogramme :	95
3-Caryotype	96
4-FISH.....	97
5-RT-PCR	98
D- Evaluation pronostique	99
RESUME	100
BIBLIOGRAPHIE.....	104

LISTE DES ABREVIATIONS

ABL	: gène d'Abelson.
ACA	: anomalie cytogénétique additionnelle
ADN	: acide désoxyribonucléique.
ADNc	: ADN complémentaire
AEG	: alteration de l'état général.
ARN	: acide ribonucléique.
ARNm	: acide ribonucleique messenger
ATP	: adénosine triphosphate. BCR : breackpoint cluster region.
EDTA	: acide éthylène diamine tétra-acétique.
EI	: effet indésirable
ELN	: European LeukemiaNet.
FISH	: fluorescence in situ hybridation.
IFN- α	: interféron alpha.
IM	: imatinib mésylate.
ITK	: inhibiteur de la tyrosine kinase.
LAL	: leucémie aigue lymphoblastique.
LAM	: leucémie aigue myéloblastique.
LMC	: leucémie myéloide chronique.
M-BCR	: major breakpoint cluster region
m-BCR	: minor BCR
K-BCR	: micro-BCR
MDR	: multi-drug resistance
MGG	: May-Grünwald-Giemsa.
MO	: moelle osseuse.

NFS	: numération-formule sanguine
OMS	: organisation mondiale de santé.
PEG	: polyéthylène glycol.
PFS	: progression-free survival.
Ph-	: philadelphie négatif.
Ph+	: philadelphie positif.
RCyC	: Réponse cytogénétique complète.
RCym	: Réponse cytogénétique minime ou mineure.
RCyP	: Réponse cytogénétique partielle.
RMM	: réponse moléculaire majeure.
RQ-PCR	: real-time quantitative polymerase chain reaction.
RT-PCR	: reverse transcriptase chaine polymerase réaction.

PARTIE THEORIQUE

INTRODUCTION

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est un syndrome myéloprolifératif prédominant sur la lignée granuleuse, résulte d'une dysrégulation de la production de la tyrosine kinase induite par la protéine BCR/ ABL produite à partir du gène de fusion de la translocation (9, 22) caractéristique de la maladie.

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

Nous rapportons les résultats d'une étude rétrospective sur 53 patients porteurs de la LMC.

Le premier objectif de ce travail est de définir, de la façon la plus précise possible, les aspects cliniques et cytogénétiques de la LMC. Le second objectif est d'analyser et comparer les résultats de notre étude avec les données de la littérature et les autres études publiées

I- GENERALITES:

La Leucémie myéloïde chronique (LMC) est un syndrome myéloprolifératif affectant les cellules souches hématopoïétiques et prédominant sur la lignée granuleuse, évoluant spontanément en trois phases: phase chronique, phase accélérée inconstante et transitoire, et phase finale de transformation blastique.

Elle possède une signification historique considérable en hématologie, car, elle est la première hémopathie maligne où une anomalie cytogénétique acquise spécifique

le chromosome Philadelphie (Ph) correspondant à une translocation 9 ; 22 a été mise en évidence [1].

La LMC est causée par une modification de l'ADN d'une cellule souche dans la moelle osseuse.

Dans les cellules de la LMC, une partie d'un chromosome (numéro 9) est échangée avec une partie d'un autre chromosome (numéro 22), conduisant à la formation d'un chromosome appelé «Philadelphie». Par conséquent, un gène appelé ABL, qui se trouve normalement sur le chromosome 9, se déplace pour se joindre au gène appelé BCR, qui se trouve normalement sur le chromosome 22.

La fusion des gènes BCR et ABL produit un gène anormal qui code une protéine ayant une activité tyrosine kinase accrue et non contrôlée convenablement, jouant un rôle majeur dans le développement de la maladie. [2]

Le diagnostic de certitude repose sur la mise en évidence du chromosome Ph et/ou de son équivalent moléculaire : le réarrangement BCR-ABL grâce à l'étude cytogénétique (caryotype, FISH) et la biologie moléculaire (RT-PCR). [1]

Le traitement destiné à bloquer l'activité tyrosine kinase de la protéine codée par le gène BCR-ABL a révolutionné le traitement de la LMC au cours des 15 dernières années.

De nos jours, La Leucémie Myéloïde Chronique (LMC) est passée d'une maladie potentiellement fatale, à une maladie dont la prise en charge est satisfaisante pour la plupart des patients.

Depuis que l'imatinib a été autorisée en 2001, les médecins ont fait des progrès significatifs dans le traitement de la LMC. Non seulement de nombreux patients survivent à long terme, mais en plus, ils profitent d'une bonne qualité de vie. [2]

II- EPIDEMIOLOGIE

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est une maladie rare, Son incidence dans le monde varie en fonction des pays, la plus basse incidence est de 0.7 retrouvée en Suède et en Chine, la plus haute est de 1.7 retrouvée en Suisse et aux Etats Unis. [3]

En Algérie, elle était de 0,4 /100 000 habitants en 2004. [4]

Cette incidence a été évaluée à un nouveau cas pour 100.000 habitants par an en France, avec une incidence annuelle de 600 nouveaux cas et une prévalence de 1 sur 17.000 français.

Sa fréquence représente 2 à 5 % des leucémies de l'enfant et 7 à 15 % des leucémies de l'adulte.

L'âge médian au diagnostic est de 50 ans. Chez l'adulte, elle concerne en moyenne les personnes de 30 à 60 ans avec un pic de fréquence entre 40 et 50 ans.

Cette maladie touche préférentiellement les hommes, avec un sex-ratio proche de 2 : entre 1,4 et 2,2 hommes sont touchés pour une femme. On note une

surmortalité supérieure pour les hommes durant les quatre premières années, puis l'évolution devient similaire pour les deux sexes. [5,6]

Il n'existe pas de spécificité géographique prouvée à ce jour. Il semble y avoir peu de spécificité ethnique même si la race blanche apparaît légèrement plus touchée que la race noire. [7]

III - HISTORIQUE :

La LMC a été premièrement décrite par Hughes Bennett, qui pensait que la maladie était une infection [8]. Quelques semaines plus tard, R. Virchow a estimé que la cause de la maladie était une altération dans l'hématopoïèse. Il a ainsi inventé le terme descriptif

« Weisses blut » ou « sang blanc » qui va devenir en allemand « Leukämie » [9].

Avec l'apparition de la cytogénétique, deux chercheurs de Philadelphie ; Peter Nowell et David Hungerford ont identifié un chromosome de petite taille dans les cellules tumorales des patients atteints de la LMC, auquel ils ont donné le nom de la ville d'origine de sa découverte: le chromosome Philadelphie (Ph) [10].

Ensuite, en 1973, Janet Rowley a reconnu que le chromosome Philadelphie était, en effet, le produit d'une translocation réciproque avec échange de matériel chromosomique entre les bras longs des chromosomes 9 et 22 [11].

En 1977, Philip J. Fialkow et al. Ont mis en évidence la nature clonale de la maladie [12].

Grâce à la biologie moléculaire, le début des années 1980 a vu l'identification de deux gènes: BCR et ABL, qui encadrent le point de fusion de la translocation [13].

Dernièrement, les recherches ont tendance à se focaliser essentiellement sur le développement du traitement de la LMC :

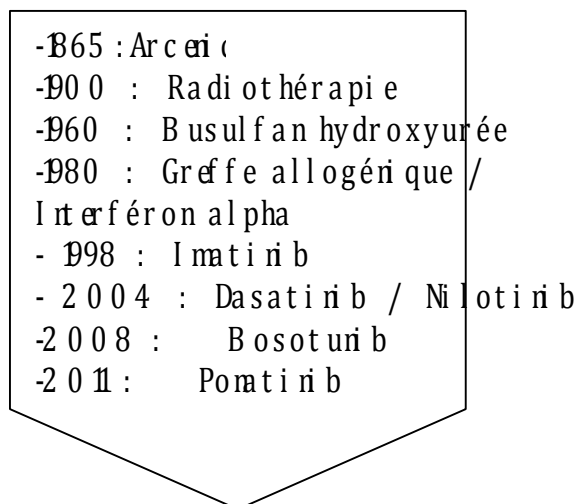


Figure 1 : Les grandes étapes de l'évolution du traitement de la LMC [14, 15, 16].

IV- LES FACTEURS ETIOLOGIQUES :

Dans la grande majorité des cas, aucune étiologie n'est retrouvée.

Cependant, les personnes exposées au benzène d'une manière chronique et les patients traités par des agents chimiothérapeutiques ou des immunosuppresseurs, semblent présenter un risque de développer une LMC [17].

L'exposition à des radiations ionisantes pourrait aussi jouer un rôle favorisant.

Cette hypothèse, suggérée par l'augmentation de l'incidence de la LMC chez les survivants de la bombe atomique d'Hiroshima, est confortée in vitro par l'augmentation de la fréquence de détection du réarrangement BCR-ABL après irradiation de lignées cellulaires initialement BCR-ABL négatives [18].

V-PHYSIOPATHOLOGIE :

La LMC est une maladie de la cellule souche hématopoïétique : le chromosome Ph et son équivalent moléculaire sont présents dans toutes les lignées hématopoïétiques [5] : myélomonocytaires, mégacaryocytaires, érythroblastique,

lymphocytaire B et même les cellules natural killer [20,21], tandis que les lymphocytes T4 sont en général Ph- [22].

1- Translocation t(9 ;22)(q34 ;q11) :

Le chromosome Philadelphie correspond à une translocation réciproque et équilibrée (sans perte de matériel génétique) entre les bras longs des chromosomes 9 et 22 :

la t(9;22)(q34;q11) qui se traduit au caryotype par un chromosome 22 plus court et un chromosome 9 plus long (figure 2).

La conséquence est une fusion de deux gènes : le gène ABL (homologue cellulaire de l'oncogène rétroviral v-ABL) localisé en 9q34 et le gène BCR localisé en 22q11, qui génère un gène hybride BCR-ABL codant pour une protéine chimérique de 210KDa (P210 BCRABL) douée d'une activité tyrosine kinase dérégulée et jouant un rôle majeur dans le développement de la maladie. [1]

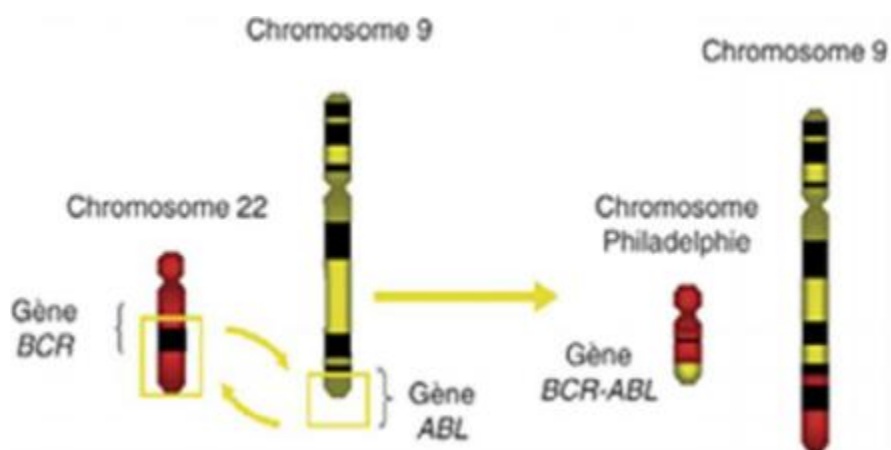


Figure 2 : La translocation réciproque t(9;22) responsable de la formation du chromosome Philadelphie [5].

2- Gènes impliqués dans la translocation :

2-1 Gène ABL et sa protéine :

L'oncogène Abelson (c-ABL) est localisé sur le chromosome 9 en position 9q34. Il comporte onze exons dont deux exons alternatifs (1A et 1B) séparés par un intron de 200kb et dix autres exons qui sont moins espacés. Le locus ABL occupe 230kb. Ce gène est transcrit en deux ARNm de 6 ou 7kb selon que la transcription se fait à partir de l'exon 1A ou 1B (figure 5 "A").

La protéine ABL qui en dérive, contenant l'exon 1b est « myristoylée » (c'est-à-dire, modifiée par un groupement lipide de type acide gras saturé sur un résidu glycine), ce qui entraîne sa localisation à la membrane plasmique. L'absence de ce résidu glycine dans la forme 1a (majoritaire) entraîne une localisation nucléaire prédominante [5].

La structure de la protéine cellulaire ABL est hautement conservée. Comme la plupart des protéines induisant un signal intracellulaire, la protéine ABL possède des domaines d'homologie SH (Src homology).

Le domaine SH3 est un régulateur négatif du domaine SH2, qui est pour sa part un régulateur positif du domaine SH1, support de l'activité tyrosine kinase de la protéine ABL (Figure 3). Dans la partie C-terminale de la protéine, il existe une séquence de localisation nucléaire (NLS pour nuclear localization signal) ainsi que des domaines lui permettant de se fixer aux filaments d'actine et à l'acide désoxyribonucléique (ADN). [5]

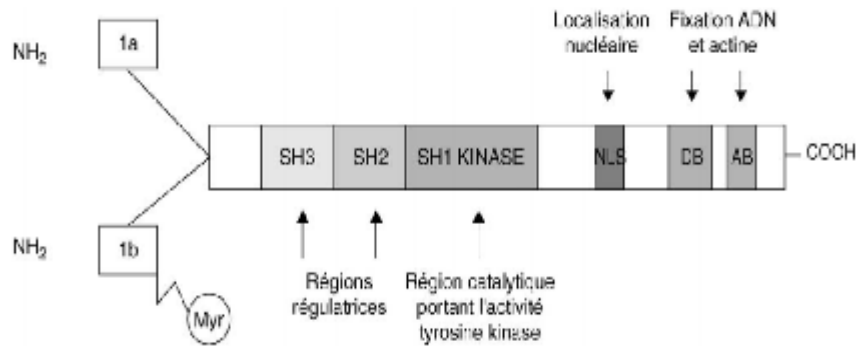


Figure 3 : Représentation schématique de la protéine ABL. [5]

La forme 1b possède un groupement myristoyl (Myr), qui joue un rôle important dans l'auto-inhibition de la protéine. NLS est un domaine de localisation nucléaire, DB (DNA Binding) est un domaine de fixation de l'acide désoxyribonucléique (ADN) et AB (Actin Binding) de fixation de l'actine [5].

Cette protéine est impliquée dans la régulation du cycle cellulaire, la réponse au stress génotoxique, et la transmission de l'information passant par les intégrines [23, 24, 25].

En plus, La protéine ABL peut induire l'apoptose en stabilisant la protéine p73 et/ou la protéine p53 [24,26].

2-2- Gène BCR et sa protéine :

Le gène BCR, positionné sur le bras long du chromosome 22, s'étend sur 135 kb, comprend 23 exons [5]. Il code pour deux protéines de 160 et de 130 kDa, provenant de la traduction de deux ARNm de 6,7 et de 4,5 kb.

La protéine BCR a une expression ubiquitaire avec des quantités élevées au niveau des cellules hématopoïétiques et du cerveau [27].

Elle est essentiellement cytoplasmique mais, dans certaines phases du cycle, elle est aussi détectable dans le noyau où elle pourrait se lier à l'ADN [108].

Les fonctions biologiques normales de la protéine BCR sont encore mal connues (figure 5 "B").

La protéine BCR possède plusieurs domaines importants. On reconnaît la partie N-terminale, où se situe le domaine 1B, permettant plus tard la dimérisation de la protéine BCR-ABL conduisant à l'ouverture de l'activité tyrosine kinase.

Le domaine 2B comprend deux sites de liaison aux domaines SH2 et a Grb2.

La partie centrale de BCR présente un domaine d'homologie avec les protéines Dbl : facteur d'échange GTP (guanosine triphosphate)/GDP (guanosine diphosphate). Et enfin, la partie C-terminale a une fonction GAP (GTPase activating protein) et joue un rôle dans la bactéricidie des polynucléaires. Néanmoins, cette partie est absente dans la protéine de fusion (figure 4).

La région 1B correspond aux 63 premiers acides aminés de BCR, et elle est nécessaire à la dimérisation de la protéine [5].

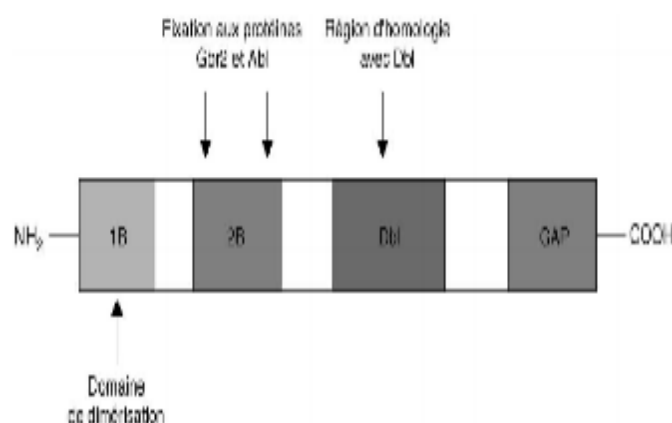


Figure 4 : Représentation schématique de la protéine BCR. [5]

2-3 Gène BCR/ABL et protéine de fusion :

La translocation aboutit à un chromosome 22 très court (Ph1) sur lequel se trouve le gène BCR-ABL, formé du début de BCR et la fin d'ABL [28]. La conservation du cadre de lecture permet la synthèse d'ARN messagers hybrides comportant des séquences BCR en 5' et ABL en 3'.

L'ARN est traduit en une protéine de fusion BCR-ABL ayant un pouvoir oncogénique avec activité tyrosine kinase constitutive.

Les points de cassure sont souvent regroupés sur une seule région d'ABL (souvent entre les régions Ib et a2), alors qu'il existe plusieurs régions de cassure sur BCR dont la majorité surviennent dans les régions introniques (Figure 5) :

- La région M BCR (pour major BCR) est majoritairement impliquée dans la LMC dont le transcrite est b3a2 (60% des cas) ou b2a2 (35% des cas), qui produisent la protéine p210.
- La région m BCR (pour minor BCR) est impliquée dans 0.4 % des LMC et environ 65% des LAL Ph+ dont le transcrite est e1a2, qui produit la protéine p190.
- La région μ BCR (pour micro BCR) est impliquée dans < 0.1 % des LMC dont le transcrite est e19a2, qui produit la protéine p230 [29,30].

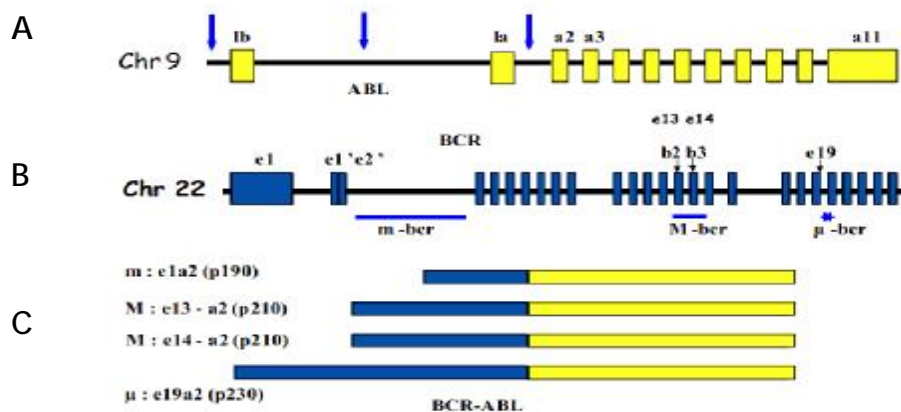


Figure 5 : Gène BCR/ABL et différentes fusions BCR-ABL [30].

(A) le gène ABL situé sur le bras long du chromosome 9, s'étend sur 230 kb et comprend, de l'extrémité 5' centromérique vers l'extrémité 3', deux exons alternatifs (la et lb) séparés par un intron de 200 kb, et dix exons numérotés de a2 à a11.

(B) le gène BCR situé sur le bras long du chromosome 22, s'étend sur 135 kb et comprend 23 exons.

(C) les différentes fusions BCR-ABL.

La protéine BCR/ABL de 210 kDa comprend les trois domaines : SH1, SH2, SH3, et tous les autres domaines d'ABL.

Du côté BCR, le motif de dimérisation est la partie la plus importante. Cette partie de BCR conduit à la dimérisation de la protéine BCR/ABL et à son auto-activation par transphosphorylation.

De plus, la perte de la partie N-terminale d'ABL supprime son auto-inhibition.

Ces deux modifications protéiques expliquent l'activation permanente de la tyrosine kinase de BCR/ABL.

La protéine tyrosine kinase Abl physiologique est autorégulée de manière physique, c'est-à-dire par modification conformationnelle. Sa fusion à Bcr modifie cette auto-inhibition et active en permanence la kinase [5].

3- Mécanismes d'action de la protéine de fusion :

La protéine Bcr-Abl induit une phosphorylation d'un nombre très important de substrats, ce qui est responsable des propriétés de la cellule leucémique (Figure 6).

Cette phosphorylation excessive active différentes voies de signalisation cellulaire. Ainsi, les conséquences vont être multiples au niveau hématologique :

- Altération des propriétés d'adhésion des cellules tumorales immatures au stroma médullaire et à la matrice extracellulaire.
- Activation des signaux mitotiques par l'induction d'un signal prolifératif et antiapoptotique.
- Inhibition de l'apoptose.
- Dégradation des protéines par le protéasome. Parmi ces protéines, celles qui participent à la réparation de l'ADN, ce qui pourrait expliquer en partie l'instabilité génétique que présentent les cellules leucémiques BCR-ABL positives.
- Instabilité génomique ou génétique, et apparition d'une activité mutationnelle très intense. [6, 31, 32] (figure 6)

Une étude des voies intracellulaires responsables de l'autorenouvellement cellulaire a montré que les progéniteurs des patients en phase blastique pouvaient s'autorenouveler propriété qui concerne exclusivement la cellule souche [33].

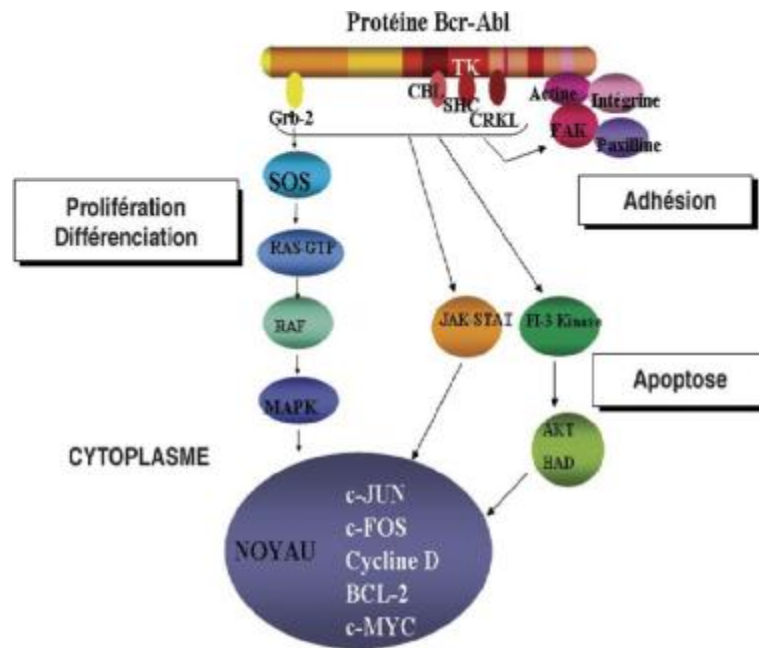


Figure 6 : Voies de signalisation cellulaire. [5]

La protéine BCR-ABL active différentes voies de signalisation.

Pour simplifier, les principales conduisant à la leucémogénèse sont représentées ici

VI – DAIGNOSTIC POSITIF :

1- Etude clinique de la maladie à la phase chronique :

1-1 Circonstances de découverte:

Le développement lent et insidieux explique que la LMC est découverte fortuitement devant une splénomégalie ou des perturbations hématologiques [34].

De manière plus rare, la maladie peut être découverte à l'occasion d'une complication inaugurale telle que la thrombose veineuse, la crise de goutte, l'infarctus splénique, des troubles visuels, ou une insuffisance respiratoire par leucostase. [35, 36, 37]

1- 2 Examen clinique :

De nombreux patients sont asymptomatiques ou peu symptomatiques à ce stade (tableau1). Néanmoins, trois grands syndromes peuvent se rencontrer :

- Une altération de l'état général, liée à l'hypermétabolisme, associant une asthénie, un amaigrissement, et plus rarement, une fébricule et des sueurs.
- Un syndrome tumoral, largement caractérisé par une splénomégalie.
- Des signes de leucostase, avec en particulier un priapisme, sont aujourd'hui assez exceptionnels. [5]

Tableau 1 : Incidence des symptômes de la LMC en phase chronique [5, 38, 39]

SYMPTOMES	INCIDENCE
<u>Signes généraux :</u>	83 %
Asthénie	61 %
Amaigrissement	11 %
Fièvre.	
<u>Signes en rapport avec la splénomégalie :</u>	50 % à 70 %
Splénomégalie	48 %
Hépatomégalie	38 %
Apesanteur abdominal	33 %
Douleurs abdominales (ballonnement)	

Moins de 10 % des malades se plaignent également de maux de tête ou d' infections.

2 – Examens paracliniques :

2-1. Hémogramme

L'hémogramme ou numération-formule sanguine (NFS) est l'examen clé, car il permet, à lui seul, d'évoquer le diagnostic de la LMC.

Une hyperleucocytose, une anémie et une thrombocytose, sont les anomalies sanguines les plus souvent rencontrées.

- L'hyperleucocytose est franche, comprise entre 20.10⁹ et 500.10⁹ leucocytes/L. Elle est en moyenne de 120.10⁹ leucocytes/L (N : 4-10 G/L ou 4-10.10⁹ leucocytes/L), majoritairement composée de polynucléaires neutrophiles (30% à 40%), une éosinophilie plus discrète (5% à 10%) et une basophilie plus marquée (3% à 10%) [36].

La myélémie (c'est-à-dire le passage dans le sang de cellules myéloïdes à tous les stades de différenciation) est constante et harmonieuse, sans hiatus de différenciation, constituée de métamyélocytes, de myélocytes et quelques promyélocytes et plus rarement de myéloblastes. [5]

- L'anémie (normocytaire et normochrome) est peu courante et modérée.
- La thrombocytose est habituelle, et souvent supérieure à 500 000/mm³. Parfois très élevée ; elle est rarement responsable d'incidents thrombotiques par thrombopathie associée. [5]

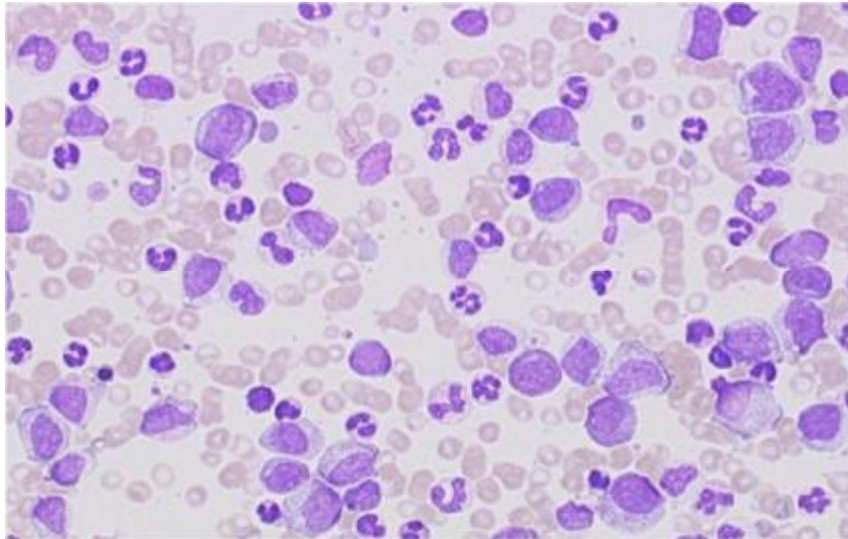


Figure 7 : Frottis sanguin : LMC en phase chronique [98].

2-2 - Myélogramme :

Il affirme le syndrome myéloprolifératif en montrant une moelle extrêmement riche, faite essentiellement de cellules granuleuses qui sont des myélocytes, des métamyélocytes, et des polynucléaires, avec tous les stades de la maturation représentés (absence d'hiatus de maturation), et une blastose médullaire inférieure à 10 % en phase chronique.

On peut trouver comme dans le sang, une basophilie, voire, une éosinophilie.

Les mégacaryocytes sont souvent en nombre augmenté et de petite taille.

Les érythroblastes sont très diminués en pourcentage, de même que les lymphocytes. Parfois, on voit des cellules histiocytaires de surcharge résultant d'une accumulation de glycolipides provenant d'une excessive destruction leucocytaire.

Inutile pour le diagnostic de la LMC, le myélogramme permet cependant de confirmer la phase de la maladie et de réaliser le caryotype initial. [5, 34, 40]

2-3 Biopsie ostéoméduillaire :

Inutile au diagnostic de la LMC, elle affirme le diagnostic de syndrome myéloprolifératif, caractérisé par une hyperplasie du tissu hématopoïétique et de la lignée myéloïde en particulier, comblant la totalité des espaces médullaires, avec disparition des cellules adipeuses.

Une fibrose réticulinique discrète peut s'observer, mais rarement dès le diagnostic.

L'apparition d'une fibrose fait partie des signes d'accélération de la maladie. [5]

2-4 -Les examens cytogénétiques :

Bien que le tableau clinique et les données biologiques soient, la plupart du temps, très évocateurs, le diagnostic de la LMC nécessite actuellement d'être confirmé, soit par la recherche du chromosome Ph en cytogénétique, ou par la biologie moléculaire à travers la RT-PCR qualitative, qui permet de détecter avec certitude le transcrit de fusion bcr/abl. [2]

2-4-1. La cytogénétique conventionnelle : Le caryotype

C'est un examen indispensable au diagnostic de la LMC, il est réalisé sur un échantillon médullaire, ou sur un prélèvement du sang si la myélémie est importante. [41]

Le caryotype permet de mettre en évidence le chromosome Ph dans 95 % des cas, et de détecter les anomalies caryotypiques additionnelles au chromosome Ph qui peuvent être présentes au diagnostic, ou apparaître au cours de la progression de la maladie, et qui semblent avoir un impact sur l'évolution des patients et sur la qualité de la réponse au traitement. [2]

Il permet aussi d'évaluer la réponse cytogénétique par la détermination du pourcentage des cellules résiduelles Ph1. [5,42]

Dans 5% des cas, le gène de fusion BCR-ABL résulte soit : d'une translocation variante complexe, impliquant un 3^{ème}, voire plusieurs chromosomes, ou d'une insertion cryptique de matériel chromosomique, indétectable par les techniques de cytogénétique conventionnelle.

Dans ce cas, la LMC est dite Ph négative, BCR-ABL positive, et seules les techniques d`Hybridation in Situ en Fluorescence (FISH) et de biologie moléculaire (RT-PCR) permettront la détection du gène hybride et du transcrit (ARN) BCR-ABL respectivement. [1]



Figure 8 : L'anomalie Ph1 : translocation $t(9;22)(q34;q11)$.[98]

Caryotype médullaire montrant un chromosome 22 raccourcis correspondant au chromosome Philadelphie et un chromosome 9 plus long (der9).

2-4-2 la cytogénétique moléculaire : FISH

La FISH est un examen ciblé qui ne visualise pas tout le génome ; elle met en évidence le signal de fusion bcr-abl sur les noyaux (FISH interphasique) et sur les mitoses

(FISH métaphasique) en particulier en cas de Ph1 négatif (Ph1 masqué).

Elle révèle les anomalies cryptiques (insertions, micro délétions du bras long du dérivé 9).

Elle aurait une sensibilité supérieure au caryotype conventionnel dans le suivi de la réponse thérapeutique (meilleure définition de la réponse cytogénétique complète) et une meilleure corrélation avec la réponse moléculaire. Elle ne permet pas, en revanche, de mettre en évidence des anomalies cytogénétiques additionnelles. [1,5]

FISH n'est pas recommandée de manière systématique pour diagnostiquer la LMC ou pour évaluer sa réponse cytogénétique au traitement, mais cet examen reste indispensable dans le cas de la LMC Ph-négative BCR-ABL positive (5 % des cas) où le caryotype ne permet pas de mettre en évidence le chromosome Ph. Elle peut parfois être un complément utile quand le nombre de cellules (sanguines ou médullaires) en métaphases obtenu est insuffisant, voire absent. [43,44]

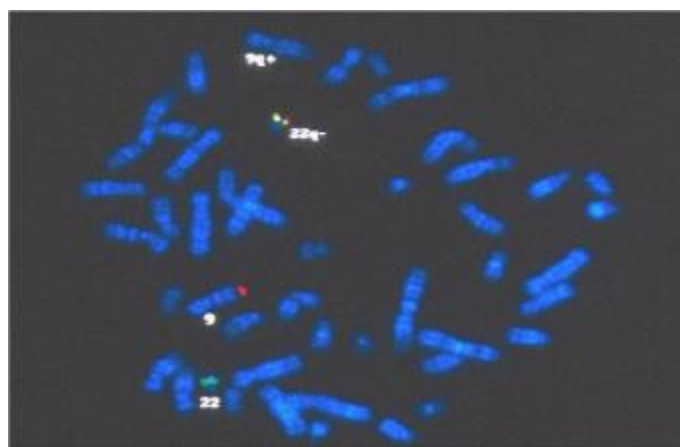


Figure 9 : Sonde 5' BCR- 3'ABL : FISH sur chromosomes
(FISH métaphasique) LMC Ph1 [99].

La sonde de BCR : fluorescence verte. La sonde d'ABL : fluorescence rouge rosé.

La séquence chromosomique appartenant aux gènes BCR-ABL : les deux sondes se retrouvent l'une à côté de l'autre et donnent une couleur tirant vers le jaune [45].

2-5-Les examens moléculaires :

- la RT-PCR, examen qualitatif : permet de mettre en évidence l'ARN (acide ribonucléique) de fusion bcr-abl avec une extrême sensibilité. Cette technique montre que plus de 50 % des patients pour lesquels la cytogénétique était négative sont en fait bcr/abl+ [46].

L'examen peut être techniqué à partir d'un prélèvement sur un simple tube à numération de type éthylène diamine tétra-acétique (EDTA), et même après 36 heures à température ambiante.

- la RT-Q-PCR (Real-Time Quantitative PCR), examen quantitatif : permet la détection et la quantification du transcrit de fusion BCR-ABL, et aussi la mise en évidence du sous-type moléculaire produit.

Il constitue un moyen efficace pour la mesure quantitative de la maladie résiduelle pour évaluer la réponse moléculaire aux traitements et son niveau (complète ou majeure). [1,5, 32].

2-6 -Autres examens biologiques:

- Hyperuricémie et hyperuraturie sont fréquentes.
- La vitaminémie B12 est élevée, corrélée à l'hyperleucocytose.
- Le lysozyme sérique et urinaire peut être élevé.
- L'exploration fonctionnelle des plaquettes montre une thrombopathie acquise.
- Les cultures des progéniteurs hématopoïétiques montrent une augmentation des précurseurs pluripotents et granulomonocytaires. On trouve également ces progéniteurs en nombre élevé dans le sang [46].

VII- L'EVOLUTION :

La leucémie myéloïde chronique évolue en trois phases : la phase chronique, la phase d'accélération, et la phase de transformation en leucémie aiguë.

A- La Phase chronique

La phase chronique est celle du moment du diagnostic. Elle est d'abord favorable, sauf si la maladie a été d'emblée révélée par des complications.

En dehors de ces cas, la maladie est contrôlable par la thérapeutique. L'hémogramme se corrige totalement en un à trois mois. La splénomégalie disparaît. Le chromosome Ph disparaît du sang, mais il persiste souvent dans la moelle. Le myélogramme montre une cellularité normale et une disparition de l'hyperplasie granuleuse.

Selon les résultats du suivi hématologique, on pourra parler de rémission complète. En cas de rechute, on pourra modifier la thérapeutique afin de tenter de retrouver une bonne réponse. [46]

B. La phase d'accélération :

Elle correspond à la transition entre la phase chronique et la phase blastique. Sa durée est de 12 à 18 mois en moyenne et se caractérise par une résistance progressive au traitement. Les signes les plus caractéristiques de cette phase sont : l'altération de l'état général et l'augmentation du volume splénique. La phase d'accélération peut être quasi inexistante (environ 20 % des cas), la phase d'acutisation étant alors « explosive ». [5]

Tableau 2 : Définition de la progression de la maladie selon l'OMS [47].

Caractéristiques	OMS
Blastes sanguins ou médullaires (%)	10-19
Basophilie sanguine (%)	≥ 20 %
Plaquettes (x10 ⁹ /L)	< 100 (thrombopénie non liée au traitement) ou > 1000 (thrombocytose persistante, non sensible au traitement)
Cytogénétique	Evolution clonale
Autres	↑ splénomégalie et ↑ nombre de leucocytes non sensibles au traitement

C-Phase d'acutisation ou crise blastique :

La phase de transformation aiguë, quant à elle, est l'aboutissement de la leucémie myéloïde chronique après plusieurs années d'évolution naturelle. Les nouvelles thérapeutiques ont permis une diminution très significative de l'évolution de la maladie vers cette phase. [46]

Elle s'accompagne en général d'une majoration des signes cliniques d'accélération (altération de l'état général, splénomégalie, anémie, thrombopénie, fibrose médullaire) et parfois d'une symptomatologie propre : fièvre, hépatomégalie, adénopathies et douleurs osseuses. Comme toute leucémie aiguë, elle peut être accompagnée d'un syndrome tumoral, de signes d'insuffisance médullaire, d'une atteinte méningée, ou des chloromes des tissus mous. [5]

Biologiquement, une anémie et/ou une thrombopénie sont constatées. Une thrombocytose persistante est parfois observée. La leucocytose et le pourcentage des blastes sont variables. La polynucléose persiste, ainsi que la myélémie, et les basophiles augmentent. Une fibrose médullaire apparaît. Des anomalies cytogénétiques surajoutées au Ph apparaissent (trisomie 8, 19,...) aussi .

Le plus souvent, la transformation aiguë est généralisée, avec des blastes dans le sang, et la moelle en pourcentage supérieur à 20%. Elle se caractérise par la présence de blastes myéloïdes dans 70 % des cas identiques à ceux des leucémies aiguës granuleuses. Dans 30 % des cas, elle est constituée de blastes lymphoblastiques .

Parfois, la découverte de la maladie est faite devant une transformation aiguë en l'absence de la LMC antérieurement connue. [46]

Tableau 3 : Critères du diagnostic de la phase blastique selon l'OMS [47].

Caractéristiques	OMS
Blastes sanguins ou médullaires (%)	> 20 %
Prolifération blastique	Extra-médullaire
Biopsie ostéomédullaire	Larges foyers de blastes
Remarques	70 % LAM et 30 % de LAL

Tableau 4 : Récapitulation de la symptomatologie clinique de la LMC [48]

Phase de la LMC Symptômes	Phase chronique	Phase d'accélération	Phase blastique
	Altération de l'état général(AEG)	Fièvre Pâleur Perte de poids Asthénie	↑ Fièvre ↑ ± marquée des autres signes
Syndrome tumoral	Splénomégalie	↑ Splénomégalie	Splénomégalie+++ Hépatomégalie Adénopathies Douleurs osseuses
Autres manifestations cliniques	- Leucostase pulmonaire ou cérébrale, - Hyperviscosité : confusion mentale, - Accident vasculo- cérébral, - Hyperuricémie : crise de goutte.	- Début de l'évolution cytogénétique , - Début de la résistance au traitement.	-Lésions hémorragiques - Proliférations blastiques extramédullaire.

↑: Augmentation ; ± : Plus ou moins ; +++ :

Tableau 5 : Les différents stades de la LMC en fonction des variations des taux des blastes selon l'OMS :

	Phase chronique	Phase d'accélération	Phase blastique
Taux sanguin ou médullaire des blastes	< 10 %	10 – 19 %	≥ 20 %

VIII- DAIGNOSTIC DIFFERENTIEL:

1- La phase chronique:

Avant la mise en évidence de la translocation t(9;22) par analyse cytogénétique (caryotype) ou par la mise en évidence du transcrit de fusion Bcr-Abl en biologie moléculaire, les diagnostics différentiels sont ceux d'une hyperleucocytose associée à une myélémie. [49]

a-Myélémies réactionnelles :

Elles sont secondaires à une infection, souvent grave, à une corticothérapie ou à des métastases médullaires. Elles sont caractérisées par l'absence de blastes circulants, et, par le faible nombre de promyélocytes. Par contre, on n'observe jamais de chromosome Ph. [49]

b- Autres syndromes myéloprolifératifs :

- Splénomégalie myéloïde ou myélofibrose primitive :

Elle se développe plus couramment chez des sujets âgés de plus de 60 ans.

Elle se caractérise par une hyperleucocytose avec myélémie, et surtout par une érythroblastose sanguine aboutissant à l'érythromyéémie très caractéristique.

La moelle est le siège d'une fibrose plus ou moins importante, rendant difficile la réalisation du myélogramme. Le chromosome Philadelphie n'est jamais retrouvé à l'analyse cytogénétique. [40]

- Thrombocytémie essentielle :

Elle se caractérise par une thrombocytose importante avec hyperleucocytose modérée. C'est un diagnostic d'élimination, les autres syndromes myéloprolifératifs doivent être d'emblée éliminés par l'absence de chromosome Philadelphie. Pas de myélofibrose (splénomégalie myéloïde primitive) et pas d'augmentation de la masse sanguine (polyglobulie vraie) [49].

- La maladie de Vaquez ou polyglobulie primitive :

Son diagnostic porte sur l'augmentation du volume globulaire total, la splénomégalie, l'hyperplasie myéloïde à prédominance érythroblastique. Le caryotype montre l'absence du chromosome Philadelphie [50].

c- leucémie myélomonocytaire chronique :

C'est probablement l'un des diagnostics différentiels les plus difficiles : il s'agit d'une entité frontalière entre le syndrome myéloprolifératif et le syndrome myélodysplasique.

Il existe une hyperleucocytose avec myélémie dont l'élément caractéristique est une monocytose (plus de 1000 éléments/mm³). Des signes cytologiques de myélodysplasie sont également présents. Le diagnostic de la LMC peut être exclu par l'absence de chromosome Philadelphie et surtout par l'absence de transcrite de fusion BCR-ABL en biologie moléculaire [49].

2- La phase aigue:

Les leucémies aiguës lymphoblastiques à chromosome Ph constituent un problème de diagnostic différentiel avec la LMC en phase de transformation aiguë de phénotype lymphoïde. Si la présence d'une splénomégalie et d'une myélémie associée à une basophilie oriente plutôt vers un diagnostic de la LMC accutisée, seul le caryotype réalisé lors de la rémission après chimiothérapie d'induction permettra de trancher, en montrant dans le cas d'une LMC accutisée la persistance du chromosome Ph dans toutes les métaphases analysées [49].

IX- COMPLICATIONS :

1- La thrombocytose

Elle accompagne tout syndrome myéloprolifératif, et peut être la cause de thromboses veineuses et d'hémorragies, parfois révélatrices de la maladie.

La thrombopénie est possible, elle augmente le risque hémorragique.

2- La leucostase

Elle est due à l'hyperleucocytose, et peut provoquer une insuffisance respiratoire aiguë. Le fond d'œil peut montrer une rétinite leucémique.

3- L'hyperuricémie

C'est une conséquence de l'hyperleucocytose, elle peut se manifester par des crises de goutte, ou par des coliques néphrétiques.

4-L'insuffisance médullaire

Elle est secondaire à la myélofibrose, se manifestant par une pancytopénie.

L'insuffisance médullaire peut être due également à un envahissement médullaire par des cellules immatures (blastes) au cours de la phase accélérée, ou de la phase aiguë de la maladie. [51]

IX-EVALUATION PRONOSTIQUE AU MOMENT DU DAIGNOSTIC :

Les statistiques montrent que les patients atteints de la LMC ont une moyenne de survie comprise entre 58 et 69 mois, soit environ 5 ans et même plus depuis l'avènement des inhibiteurs de la tyrosine kinase qui ont amélioré le pronostic de cette maladie.

Les deux scores les plus utilisés, pour leur pouvoir pronostic discriminant avant la mise en route d'un traitement par l'INF alpha et avant l'imatinib mésylate, sont le score de Sokal et le score de Hasford. Le premier étant plus discriminant pour le traitement par l'IM seul [52].

Pour les patients chez qui une greffe allogénique est envisageable, le score de Gratwohl est extrêmement utile pour l'appréciation pronostique de l'évolution post greffe.

Il existe d'autres facteurs, dont la présence au moment du diagnostic, indique un pronostic moins favorable. Ils incluent certaines modifications faisant apparaître une ou des anomalies chromosomiques additionnelles dans les cellules possédant le chromosome Philadelphie, telles que les trisomies 8 et 19, qui sont appelées anomalies additionnelles majeures. [2]

- Score de Sokal :

Les paramètres majeurs sont :

- L'âge exprimé en année
- La taille de la rate en centimètres du rebord costal
- Le taux de plaquettes en Giga/l
- Le pourcentage de blastes circulants.

Un calcul logarithmique à partir de ces facteurs pronostics indépendants permet, pour chaque malade, d'avoir une valeur appelée indice de Sokal.

$$\text{Indice} = \exp \{0,0116 (\text{âge} - 43,4) + 0,0345 (\text{rate} - 7,51) + 0,188$$
$$[(\text{plaquettes}/700) \times 2 - 0,563] + 0,0887 (\text{blastés} - 2,1)\}$$

Le score de Sokal a subi par la suite une légère modification pour l'adapter aux patients de moins de 45 ans, cette modification tient en compte l'hématocrite et le sexe du patient.

$$\text{Indice} = \exp \{0,0255 (\text{rate} - 8,14) + 0,0324 (\text{blastés} - 2,22) + 0,1025$$
$$[(\text{plaquettes}/700) \times 2 - 0,627] - 0,0173 (\text{hématocrite} - 34,2) - 0,2682 (\text{sexe} - 1,40)\}$$

Ce score permet de séparer la population des malades en trois groupes dont la médiane de survie est significativement différente :

Tableau 6 : Score pronostic de sokal :

Risque	Indice calculé	survie médiane
Faible risque	inférieur à 0,8	60 mois
Risque intermédiaire	entre 0,8 et 1,2	44 mois
Haut risque	supérieur à 1,2	32 mois

Même si d'autres scores ont été proposés, le score de Sokal reste l'indice le plus utilisé à l'heure actuelle, par ce qu'il est le plus discriminant concernant l'indication des inhibiteurs de la tyrosine kinase. [53,54]

- Score européen de Hasford :

Hasford et al. ont proposé un nouvel indice (Indice de Hasford ou Euroscore) permettant de discriminer mieux les patients traités par les (INF)- α en terme de survie [55].

Cet indice est calculé à partir de :

- L'âge : en années
- La taille de la rate : en cm sous le rebord costal
- Le pourcentage de blastes circulants
- Le pourcentage d'éosinophiles circulants
- La basophilie : 0 si basophilie < 3 % et 1 dans les autres cas
- Le taux de plaquettes : 0 si taux de plaquettes < 1 500 Giga/l et 1 dans les autres cas

$$\text{Indice} = [(0,6666 \text{ âge}) + (0,0420 \text{ rate}) + (0,0584 \text{ blastes}) + (0,0413 \text{ éosinophiles}) + (0,2039 \text{ basophiles}) + (1,0956 \text{ plaquettes})] \times 1\,000$$

Le score de Hasford permet de séparer, à nouveau, les malades en trois groupes statistiquement différents en ce qui concerne la survie globale :

Tableau 7 : Score de Hasford :

Risque	Indice calculé	survie médiane
Faible risque	inférieur à 780	98 mois
Risque intermédiaire	entre 780 et 1 480	65 mois
Haut risque	supérieur à 1 480	42 mois

- Le score de Gratwohl :

Le score de Gratwohl permet d'estimer la survie à 5 ans des patients qui sont candidats à une allogreffe de moelle osseuse.

Il dépend de l'âge, du stade de la LMC, de l'intervalle entre la greffe et le diagnostic, du sexe du receveur, et du type de donneur (tableau 6). Sept cotes ont été ainsi établies de 0 à 6, sachant que 0 représente le pronostic le plus favorable [56].

Tableau 8 : Score de Gratwohl :

Score	0	1	2
Age	< 20 ans	20 à 40 ans	> 40 ans
Stade	Phase chronique	Phase d'accélération	Crise blastique
Délai diagnostic/greffe	< 1 an	> 1 an	
Sexe du receveur	Autre	Femme ou homme	
Type de donneur	Géno-identique	Non apparenté	

- Score d'Eutos :

En 2011 le groupe européen Leukemia Net a créé un nouveau score pronostic (score EUTOS).

Ce score est basé sur deux facteurs simples : le pourcentage des basophiles, et le volume de la rate, il permet de délimiter deux groupes de patients : un groupe à faible risque, et un groupe à haut risque, avec des différentes probabilités cumulées d'atteindre RCyC dans 18 mois et de survie sans progression à 5 ans (PFS).

Il a été suggéré que la puissance pronostic du score Eutos est supérieure à celle de Sokal.

En raison de la nature rétrospective de tous les rapports publiés, il reste de valider définitivement ce nouveau score par des études prospectives élargies sur un nombre important de patients atteints de la LMC [57].

- Autres : Score de Hammersmith hôpital :

C'est un score créé pour prédire de réponse aux inhibiteurs de la tyrosine kinase de deuxième génération [58].

X- LE TRAITEMENT DE LA LMC

A- Les moyens

1- Chimiothérapie conventionnelle :

1-1- Busulfan :

Le busulfan est un agent alkylant utilisé à la dose de 0,1 mg/kg/j. Il a permis l'obtention de réponses hématologiques complètes dans 23 à 54 % des cas, mais de très rares réponses cytogénétiques majeures ont été rapportées (1 à 2,5 %) [59].

Cette thérapeutique est connue par sa toxicité hématologique retardée et durable prédominante sur les polynucléaires [61]. Le busulfan est abandonné après la découverte de l'hydroxyurée [62].

1- 2-Hydroxyurée :

L'hydroxyurée est prescrite à la posologie de 40 mg/kg/j, c'est un inhibiteur de la ribonucléotide réductase, il diminue la synthèse d'ADN. Elle permet l'obtention de rémissions hématologiques complètes dans 39 à 53 % des cas, avec des effets indésirables moins sévères que le busulfan [61].

Aujourd'hui, l'hydroxyurée n'est utile qu'en cas d'hyperleucocytose symptomatique, ou de thrombocytose supérieure à 1000 Giga/l. Elle est aussi indiquée en cas d'espérance de vie limitée, ou d'intolérance aux autres thérapeutiques [5].

1-3- Cytarabine :

La cytarabine est un antimétabolite pyrimidique, qui inhibe la synthèse de l'ADN en s'incorporant à ce dernier, il inhibe aussi directement l'ADN polymérase. Il est indiqué en cas de transformation aigue de la LMC en association avec l'IFN en seconde intention, après résistance à l'imatinib, à une dose de 120 mg/m²/semaine [61].

2- Allogreffe de cellules souches hématopoïétiques :

L'allogreffe conventionnelle ou à conditionnement atténué, reste toujours le seul traitement curatif démontré de la LMC [63]. Cependant, malgré les progrès qui ont permis de réduire la toxicité et la mortalité reliées à la greffe, elle s'accompagne toujours d'un taux de mortalité non négligeable qui limite ses indications. Il existe un consensus général pour éviter l'allogreffe en première ligne dans les phases chroniques naïves de tout traitement, sauf pour les patients jeunes de moins de 20 ans à score de risque à la greffe (score de Gratwohl) bas [64]. Par contre, en phase avancée, l'allogreffe conserve toute sa place en cas de non-réponse, ou d'échappement aux inhibiteurs de la tyrosine kinase ou en cas de mutation BCR-ABL T315I notamment [65].

3-Interféron alpha :

L'INF- α est une cytokine possédant une action antiproliférative sur les cellules normales et tumorales. L'INF « interfère » dans le système immunitaire mais son mécanisme d'action dans la LMC demeure largement inconnu. Elle permet d'obtenir des réponses hématologiques dans 50 à 80 % des cas [66] et aussi des réponses cytogénétiques dans 20 à 50 % des cas [67].

Une dose de 5 MU/m²/j administrée par voie sous-cutanée est habituellement préconisée, elle s'accompagne d'effets secondaires gênants, pouvant conduire à une diminution de la posologie dans 30 à 50 % des cas, voire à un arrêt du traitement dans 15 à 20 % des cas [82]. Actuellement, quelques firmes pharmaceutiques ont développé une forme retard d'INF- α en le combinant à du polyéthylène glycol (PEG).

Le rythme d'administration de cette forme « PEGINF- α » est d'une fois par semaine, mais l'efficacité et la tolérance ne sont pas toujours définies [5].

4- Les inhibiteurs de la tyrosine kinase :

4-1- Inhibiteurs de la tyrosine kinase de première génération :

a- Imatinib Mesylate (STI571) ou GLivec®

- Mécanisme d'action :

Il repose sur la neutralisation de l'activité tyrosine kinase de la protéine BCR-ABL par inhibition compétitive de l'ATP au niveau du site catalytique de celle-ci.

Il en résulte une inhibition de l'autophosphorylation, une inhibition de la prolifération et l'induction de l'apoptose.

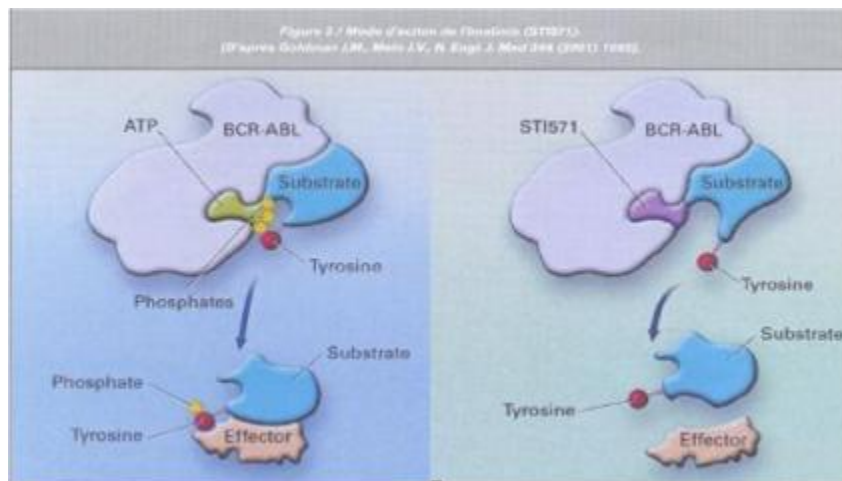


Figure 10 : mécanismes d'action de l'imatinib mésylate. [68]

-Gauche : oncoprotéine BCR /ABL, avec le site de fixation de l'ATP : le substrat est phosphorylé sur un résidu tyrosine, ce qui lui permet d'activer d'autres molécules effectrices.

-Droite : l'imatinib occupe le site de l'ATP ; inhibant l'action de l'ATP et donc la phosphorylation du substrat.

- Pharmacocinétique

Sa biodisponibilité par voie orale est de 98 % et permet une absorption quasiment complète. La concentration maximale est obtenue en 2 à 4h [69].

Sa distribution tissulaire est élevée, et son métabolisme hépatique est intense.

Son élimination et de son métabolite sont majoritairement biliaires, avec une grande variabilité pharmacocinétique interindividuelle multifactorielle [70].

- Posologie

Elle varie en fonction du stade de la maladie :

- Phase chronique : 400 mg/j en une seule prise, dès la certitude du diagnostic.
- Phase d'accélération : 600 mg/j en une seule prise.
- Phase blastique : 600 mg/j en une seule prise [71].

- Effets indésirables (EI)

Les effets secondaires sont fréquents, mais d'intensité modérée. Il est cependant difficile d'attribuer avec certitude ces effets à l'imatinib en raison de la diversité des symptômes liés à la leucémie, à l'évolution de celle-ci et à l'administration concomitante d'autres médicaments [73]. L'abandon du traitement en raison des effets indésirables ne survient que très rarement.

Les effets indésirables les plus souvent signalés : nausées, vomissements, diarrhées, myalgies, crampes musculaires, œdème superficiel fréquent, souvent périorbitaire ou au niveau des membres inférieurs. Rarement des rétentions liquidiennes sévères peuvent survenir. Au point de vue hématologique, des neutropénies, des thrombocytopénies et des anémies peuvent survenir, particulièrement lors de la maladie avancée ou des doses quotidiennes supérieures à 750 mg [72].

- Les interactions médicamenteuses :

Plusieurs médicaments nécessitent une surveillance étroite lorsqu'ils sont administrés de façon concomitante avec l'imatinib [72].

Les médicaments dont la voie métabolique est inhibée par l'imatinib, exemple : les antagonistes de la sérotonine, les macrolides ou la morphine. Il faut être vigilant particulièrement avec les médicaments dont l'index thérapeutique est étroit, comme la cyclosporine et la digoxine [74].

Les médicaments qui inhibent le cytochrome 3A4, ou qui induisent le 3A4, peuvent modifier les concentrations d'imatinib.

Comme l'imatinib inhibe une des voies métaboliques de la warfarine, il est recommandé de privilégier une héparine de faible poids moléculaire chez les patients nécessitant un traitement anticoagulant [74].

- Mécanismes de résistance

Il existe des résistances dites primaires et d'autres secondaires (acquises). Les résistances primaires sont définies comme une situation de non réponse sur le plan hématologique, cytogénétique, et moléculaires après des durées de traitement précises. Celles-ci exigent alors de proposer d'autres alternatives de traitement ou d'augmenter les doses. Tandis que les résistances secondaires sont définies par une perte de la réponse initiale, ou par transformation.

Plusieurs mécanismes de résistance ont été mis en évidence : modification de la biodisponibilité intracellulaire de l'imatinib, sur-expression du gène MDR (multidrug resistance), amplification de bcr-abl, mutations du domaine kinase d'abl (>50 mutations différentes), mécanismes bcr-abl indépendants. [46]

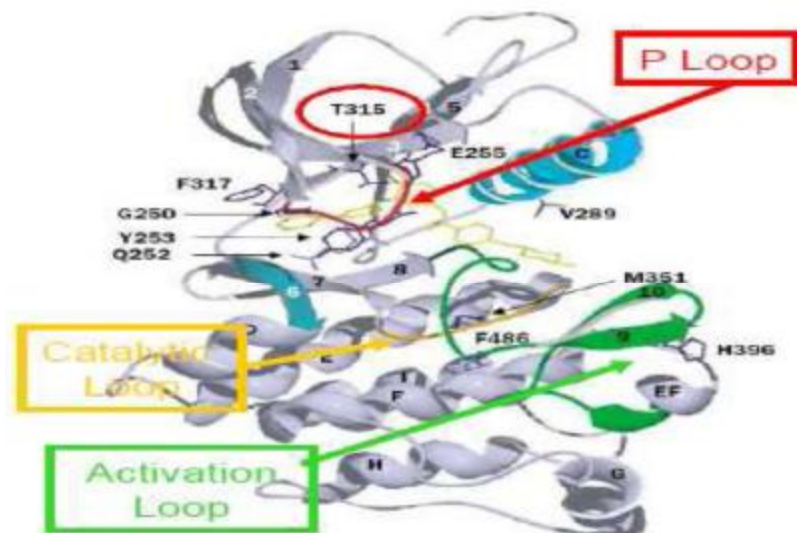


Figure 11 : Domaine BCR-ABL kinase et ses principales mutations [100].

P Loop (boucle P), Activation Loop (boucle A), Catalytic Loop (mutation de la méthionine 351), T315 (mutation de la thréonine 315).

Il est par ailleurs établi que les mutations intervenant dans la boucle P sont de très mauvais pronostic, avec un taux de progression vers la phase accélérée ou blastique de 100 % [23], et la mutation 315, dite T315I est quasiment toujours associée à une insensibilité complète à l'IM.

Les mutations empêchent la fixation de l'imatinib, sans modifier l'activité tyrosine kinase.

4-2-Inhibiteurs de tyrosine-kinase de deuxième génération :

- Dasatinib : SPRYCEL®

Le dasatinib est un composé original, indiqué dans le traitement de la LMC en phase chronique, accélérée ou blastique, en cas de résistance ou d'intolérance à un traitement antérieur incluant l'imatinib [75,76].

Le dasatinib est environ 300 fois plus puissant *in vitro* que l'imatinib, il agit sur les kinases de la famille SRC et sur les formes actives et inactives de l'oncoprotéine Bcr-abl, il conserve son activité contre la plupart des mutations de BCR-ABL sauf T315I [83, 77]. La dose recommandée est de 100 mg une fois par jour en phase chronique, et de 140 mg une fois par jour dans la phase accélérée ou blastique. Cependant, des augmentations de dose à 140 mg une fois par jour en phase chronique, ou 180 mg une fois par jour en phase accélérée ou blastique sont autorisées chez les patients ne présentant pas de réponse cytogénétique ou hématologique [75].

- Nilotinib : TASIGNA®

Un dérivé de l'imatinib, sa structure a été modifiée pour en faire un inhibiteur plus sélectif et plus puissant de la protéine Bcr-abl dont il est 25 fois plus puissant *in vitro* que l'imatinib [78].

Cette molécule se fixe uniquement sur la forme inactive de la protéine Bcr-Abl [79]. Or, ses caractéristiques et sa structure chimique lui permettent de contourner les mutations de site Abl-kinase à l'exception de la mutation T315I [80].

Le nilotinib est indiqué dans le traitement de la LMC avec une posologie de 400 mg deux fois par jour chez les patients en phase chronique et accélérée, résistants ou intolérants à l'imatinib. Les données d'efficacité chez les patients en crise blastique ne sont pas disponibles [82, 83, 76 ,81].

- Bosutinib : BOSULIF®

Une « autorisation conditionnelle » a été délivrée le 27 mars 2013 pour Bosulif qui a montré une capacité de bloquer l'action des kinases de la famille SRC et l'oncoprotéine Bcr-abl.

Bosutinib est indiqué pour le traitement de la LMC dans ses trois phases, lorsque l'imatinib et les autres inhibiteurs de la tyrosine kinase de deuxième génération ne sont pas considérés comme des traitements appropriés. La dose recommandée est de 500 mg une fois par jour, elle peut être augmentée jusqu'à 600 mg/jour ou diminuée, voire interrompue, en fonction de la réponse du patient au traitement et des effets indésirables qu'il ressent [84].

4-3- Inhibiteurs de la tyrosine kinase de troisième génération :

- Ponatinib : ICLUSIG®

C'est un nouveau médicament, qui appartient à la classe des inhibiteurs de la tyrosine-kinase Bcr-Abl, et commercialisé depuis le 1er octobre 2013 en France.

Il est indiqué chez les patients adultes atteints de la LMC en phase chronique, phase accélérée ou phase blastique, qui présentent une résistance, ou une intolérance au dasatinib ou au nilotinib, ainsi que pour ceux dont un traitement ultérieur par imatinib n'est pas cliniquement approprié, ou qui expriment la mutation T315I. La posologie initiale recommandée de ponatinib est de 45 mg une fois par jour [85, 86].

5- Les traitements adjuvants :

Tout au long de l'évolution de la maladie, on peut avoir recours à des thérapeutiques adjuvantes, pour traiter ou pour prévenir une complication :

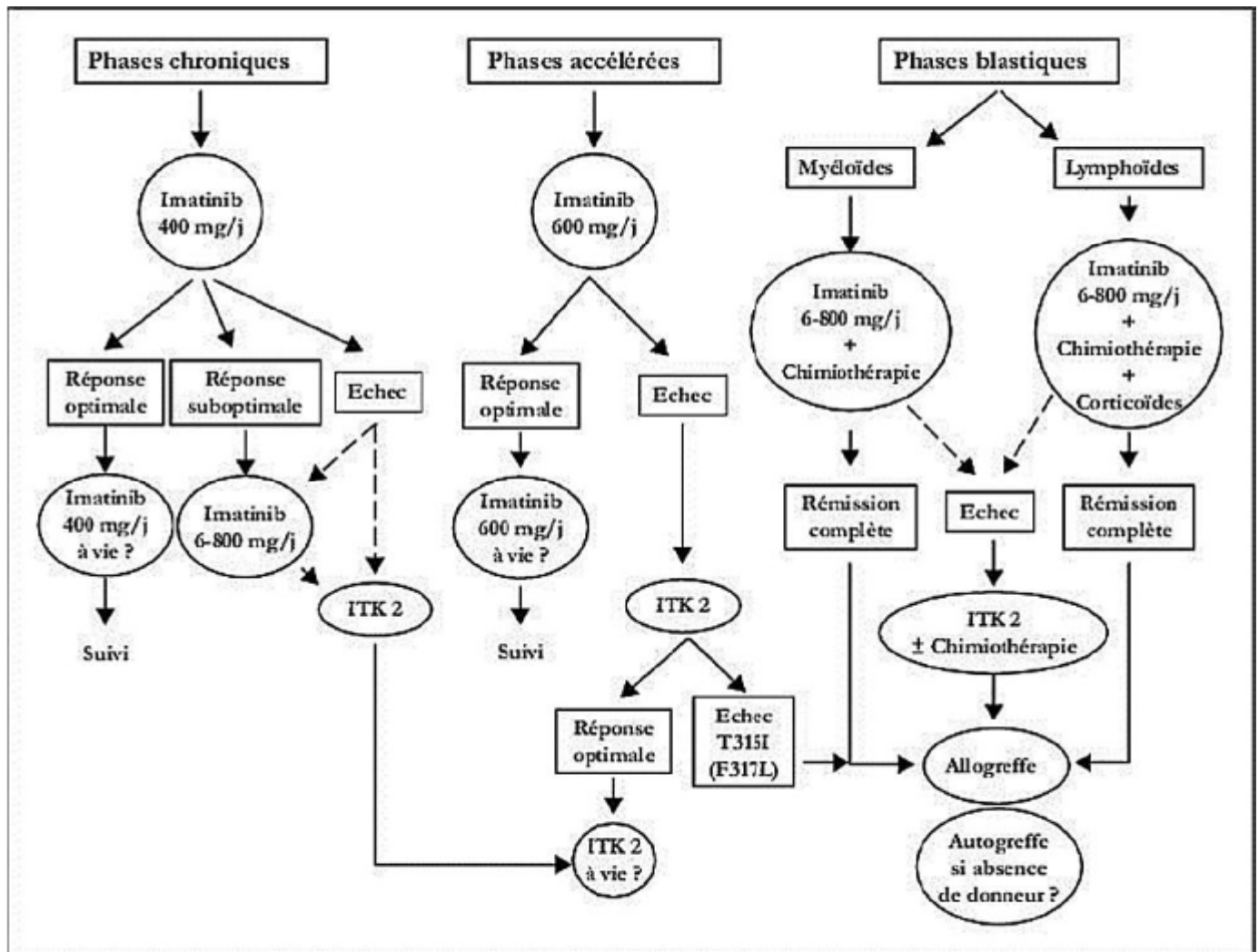
- Les boissons alcalines et un traitement hypouricémiant (allopurinol) doivent être associés tant que la leucocytose est élevée, pour éviter la survenue d'une crise de goutte, ou d'une lithiase urique, voire d'un syndrome de lyse tumoral.
- La transfusion en cas d'anémie sévère ou de thrombopénie.

- La fréquence des infections au cours de la LMC justifie l'utilisation des antibiotiques.
- Les antalgiques et les anti-inflammatoires peuvent être bonnes en cas de douleurs osseuses. [34]

B- La prise en charge de la LMC :

L'imatinib est le traitement de première intention pour les patients de risque « standard » c'est-à-dire ayant un score de sokal faible ou intermédiaire [87].

Pour les patients résistant aux inhibiteurs de la tyrosine kinase et ayant progressé vers une phase d'accélération ou une phase blastique, l'allogreffe médullaire constitue le seul traitement efficace actuellement [88]. Le recours à l'allogreffe médullaire est encore justifié par l'apparition de la mutation T315I (20 % de toutes les mutations) qui représente un problème important conduisant, pour l'instant, à une impasse thérapeutique [89, 90]. Si l'allogreffe est impossible, le patient peut être inclus dans une étude de phase II de nouvelles molécules actives contre la mutation T315I [91]. (Figure12)



ITK 2 : inhibiteur tyrosinase de deuxième génération

Figure 12 : Propositions thérapeutiques possibles pour la LMC en 2007 [92].

C- Suivi du traitement de la LMC :

Trois niveaux de contrôle de la maladie peuvent être définis dans la LMC [93] :

- Réponse hématologique : repose sur les données de l'hémogramme (taux des plaquettes, des leucocytes, des basophiles et de la myélémie) et la taille de la rate.
- Réponse cytogénétique : se base sur la proportion de cellules portant le chromosome Philadelphie issue de l'analyse du caryotype médullaire.
- Réponse moléculaire : s'appuie sur le ratio « BCR-ABL/gène de contrôle » calculé à partir des résultats de l'examen moléculaire.

Tableau 9 : Critères de réponses au traitement, et modalités de surveillance [2]

Réponse hématologique complète (RHC)	Réponse cytogénétique (RCy)	Réponse moléculaire (RM)
-Plaquettes < 450Giga/l -Leucocytes < 10Giga/l -Pas de myélémie -Basophiles < 5 % -Pas de splénomégalie	Complète (RCyC) Ph+ 0 % Partielle (RCyP) Ph+ 1-35% Mineure (RCym) Ph+ 36-65% Minime Ph+ 66-95 % Aucune Ph+ > 95% Majeure = complète+partielle (RCyM)	Ratio BCR-ABL/gène de contrôle -Réponse majeure $\leq 0,10$ % (EI) - Rémission moléculaire profonde : Ø la RM4 < 0, 01% (EI) Ø la RM4.5 < 0,0032% (EI) Ø Indétectable : aucun gène BCR-ABL ne peut être détecter.
Suivi : -Au moment de diagnostic -Tous les 15 jours jusqu'à obtention de la RHC -Puis tous les 3 mois	Suivi : -Au diagnostic à 3 et 6 et 12 mois jusqu'à RCyC -Au bout de 12 mois, si une RMM - En cas de signes d'alerte, refaire toutes les analyses tous les mois -En cas d'échec ou d'évolution de la maladie, une cytogénétique, PCR, et une analyse mutationnelle doivent être réalisées.	Suivi : -Tous les 3 mois jusqu'à RMM -Puis tous les 3 à 6 mois
L'analyse mutationnelle : est recommandée seulement en cas d'évolution de la maladie, d'échec du traitement ou de signes d'avertissement.		

Un suivi régulier des patients atteints de la LMC est nécessaire. Des analyses hématologiques, cytogénétiques et moléculaires doivent être régulièrement effectuées pour identifier ceux qui ne répondent pas au traitement.

Le tableau 10 résume les réponses à l'imatinib selon les définitions de l'European Leukemia Net (ELN) en 2013 :

Tableau 10 : Définition des réponses initiales au traitement par l'imatinib d'après ELN 2013 [2] :

Moment	Réaction optimale	Alerte	Échec
Au moment du diagnostic	NA	Haut risque et /ou ACA/Ph+	NA
3 mois	BCR-ABL \leq 10%, et/ou Ph+ \leq 35%	BCR-ABL > 10 %, et/ou Ph+ 36 à 95%	Pas de RHC, et/ou Ph+ > 95%
6 mois	BCR-ABL < 1 %, et/ou Ph+ 0	BCR-ABL 1 et 10 %, et/ou Ph+ 1 35%	BCR-ABL > 10 % et/ou Ph+ > 35%
12 mois	BCR-ABL \leq 0,1 %	BCR-ABL 0,1 et 1 %	BCR-ABL > 1 % et/ou Ph+ > 0%
A tout moment	gène BCR-ABL \leq 0,1%	ACA/Ph-(-7ou-7q)	-Perte de RHC -Perte de RCYC -Perte confirmée de la RMM* -Mutations -ACA/PH+

- NA : Non applicable
- RHC : réponse hématologique complète
- RCy : réponse cytogénétique.
- RcyC : réponse cytogénétique complète.
- RMM : réponse moléculaire majeure
- ACA /Ph+ : anomalie cytogénétique additionnelle dont les cellules Ph+
- ACA /Ph- : anomalie cytogénétique additionnelle dont les cellules Ph-

D'autres critères ou signes d'alarme pouvant survenir à tout moment, ont également été précisés. Ces critères définissent une résistance ou une réponse suboptimale à l'imatinib mésylate (Tableau 11).

Tableau 11 : Signaux d'alarme chez les patients traités par l'imatinib [94,95] :

Lors du diagnostic	<ul style="list-style-type: none">- Risque élevé selon les scores de Sokal- Anomalies chromosomiques clonales dans les cellules Ph1 positives.
12 mois	Absence de réponse moléculaire majeure (BCR-ABL/ABL \geq 0,1 %).
A n'importe quel moment au cours du traitement	<ul style="list-style-type: none">- Augmentation du taux de transcrit BCR-ABL- Anomalies chromosomiques clonales dans les cellules Ph1 positives.

PARTIE PRATIQUE

I-Matériels et Méthodes :

1-Type et Population de l'étude

Il s'agit d'une étude rétrospective sur 53 cas colligés au laboratoire de génétique médicale, au service de médecine interne du CHU Hassan II de Fès, et au service d'hématologie clinique hôpital El Ghassani de Fès, sur une période allant de Janvier 2011 à Mai 2015.

Nous avons inclus dans notre étude tous les patients suivis pour LMC chez qui l'étude génétique objective la présence du chromosome Philadelphie.

2-Méthodes :

Les renseignements sont recueillis, pour la réalisation de cette étude, à partir des dossiers des patients suivis ou hospitalisés au service de médecine interne du CHU Hassan II, et au service d'hématologie clinique de l'hôpital El Ghassani.

Tous ces patients ont été adressés au laboratoire de génétique médicale pour étude cytogénétique.

Ces renseignements comportent :

- Les données démographiques : On y inclut les informations concernant l'âge du patient, le sexe, l'origine géographique, la profession, ainsi que les antécédents personnels et familiaux.
- Les données cliniques : Nos patients ont bénéficié, pour la plupart, d'un examen clinique complet, et d'un suivi au service de médecine interne du CHU Hassan II ou au service d'hématologie clinique de l'hôpital El Ghassani de Fès.
- Les données paracliniques notamment :
 - Une numération formule sanguine (NFS) + Frottis sanguin
 - Un myélogramme.

- Un caryotype.
- Une Fish
- Une RT-PCR

3-Techniques

A-Prélèvements :

A.1- Prélèvement sanguin(NFS) :

En pratique, cet examen est réalisé sur échantillon de sang veineux prélevé sur anticoagulant sec (EDTA calcique), Lors du prélèvement, le tube doit être agité par retournements successifs pour éviter la formation de micro-caillots, Le sang

peut-être conservé jusqu'à 24h à +4°C sans modification notable de la numération, mais la cytologie des cellules peut évoluer.

Il est réalisé par un automate d'hémogramme de façon suffisamment fiable. Cependant, cet appareil ne détecte pas toujours les cellules dont la présence dans le sang est anormale. En conséquence, en cas d'anomalie quantitative ou qualitative détectée par l'automate, une étude morphologique du frottis de sang est indispensable, réalisée par étalement d'une goutte de sang sur une lame de verre et coloration au May-Grünwald-Giemsa.

Dans le cas d'un envahissement de blastes supérieur à 20%, le sang périphérique sera mis en culture.

A.2- Prélèvement médullaire :

La ponction de moelle osseuse, effectuée au niveau du manubrium sternal ou des épines iliaques, est un moyen d'investigation de routine en hématologie. Après étalement de la moelle sur lame, l'observation microscopique des cellules colorées au May-Grünwald Giemsa (myélogramme) permet l'étude morphologique, indispensable

au diagnostic et au suivi des hémopathies. L'aspiration de moelle permet, en outre, d'effectuer d'autres examens spécialisés, comme l'étude immunophénotypique et cytogénétique, la culture de progéniteurs médullaires ou l'analyse microbiologique.

Il est impératif que la ponction médullaire soit faite dans un environnement médicalisé, permettant une prise en charge rapide du patient en cas d'incident [109].

- Le protocole :

- Le patient se positionne en décubitus dorsal.
- Après la désinfection repérer le point de la ponction. Si anesthésie locale, attendre l'effet de l'analgésie (2- 3 minutes), (en sachant que le moment le plus douloureux, celui de l'aspiration, n'est jamais correctement couvert) puis introduire le trocart.
- Traverser les tissus mous pour atteindre le plan osseux. Exercer une pression perpendiculaire maîtrisée par rapport à la table externe de l'os, jusqu'au passage de la corticale, avec rotations possibles en fonction de la dureté de l'os (sensation de ressaut caractéristique qui permet de s'arrêter entre les 2 tables de l'os).
- Retirer le mandrin, adapter la seringue, et aspirer quelques gouttes de moelle ; ne pas aspirer trop sinon la moelle ponctionnée sera diluée dans le sang, et l'étude en sera donc faussée.
- Retirer la seringue et le trocart : (figure13)
- Huit gouttes de ce prélèvement seront étalées immédiatement sur des lames pour effectuer le myélogramme, et le reste sera mis dans un tube sec ou EDTA de 5ml puis transporté vers le laboratoire de génétique pour le caryotype ou la FISH.



Figure 13 : prélèvement médullaire chez un enfant de 19 ans suspect de LMC au service de MI CHU de Fès.

B-Culture cellulaire :

On cultive les cellules sanguines pendant 24 à 48 heures sur Marrow Max™ qui est un milieu de culture complet constitué de sérum fœtal bovin, sulfate de gentamicine et de la L-glutamine.

Dans notre culture on n'a pas besoin d'un mitogène tel que la phytohémagglutinine (PHA) qui transforme les lymphocytes en cellules de type blastes, nous avons déjà les blastes.

C- Cytogénétique classique

C` est la technique de référence pour la mise en évidence de la $t(9;22)(q34;q11)$, dans sa forme classique ou variante.

Le caryotype permet l'observation et la classification des chromosomes au stade de la métaphase ou de la prométaphase de la mitose. [1]

C-1-Le caryotype normal :

Chaque chromosome est constitué de deux chromatides sœurs reliées par le centromère ou constriction primaire qui définit un bras court (p) et un bras long (q).

La taille du chromosome, la position centromérique et les différentes bandes permettent son identification.

Le caryotype normal comporte 46 chromosomes identiques 2 à 2, répartis en 22 paires d'autosomes numérotés de 1 à 22 par ordre de taille décroissante, et une paire de chromosomes sexuels (gonosomes) XY chez l'homme et XX chez la femme.

La formule chromosomique s'écrit : "Nombre de chromosomes ", "Formule gonosomique", "Anomalie chromosomique éventuelle" .Exemple :

-Caryotype masculin normale : 46,X .

-Caryotype féminin normale : 46,XX.

Il faut signaler que les anomalies chromosomiques sont dites clonales lorsque :

- 2 métaphases au moins ont le même chromosome surnuméraire ou la même anomalie de structure (translocation, délétion...)
- 3 métaphases au moins ont perdu le même chromosome [1].

C-2-Protocole :

a-Matériel :

- ü Microscope inverse ;
- ü Hotte à flux laminaire vertical ;
- ü Hotte chimique ;
- ü Centrifugeuse ;
- ü Etuve à 37°C ;
- ü Bain-marie ;
- ü Humidificateur ;
- ü Balance ;
- ü Plaque chauffante pour lames ;
- ü Boite de rangement des lames ;

- ü Pipettes Pasteur ;
- ü Poires ;
- ü Pissette pour fixateur ;
- ü Flacon de 100 ml pour conserver la solution du choc ;
- ü Cônes jaunes ;
- ü Micropipettes 10 µl ;
- ü Lames ;
- ü Bêchers et papier filtre pour paillasse.

b-Réactifs :

Tableau12 : Les réactifs indispensables à la réalisation du caryotype

Réactifs	Volume	Rôle
Colchicine	10 mg/ml	Elle bloque la mitose
KCl	0,065 M	Il provoque le choc hypotonique pour disperser les chromosomes
Fixateur (Carnoy I)	3V Méthanol + 1V	Il fixe les chromosomes en les préparant à être étalés
Eau distillée	V nécessaire pour les dilutions	Elle est utilisée pour diluer le KCl et Giemsa
Earl	100 ml	C'est un tampon phosphaté à pH 5,6 qui dénature les liaisons A=T
Giemsa	100 ml	Colorant dilué à 5% qui colore les liaisons G≡C en bandes sombres

c- Etapes de la technique :

- Accumulation des cellules en métaphase :

Après avoir effectué un prélèvement de la moelle osseuse, on prend 2ml et on y ajoute sous hôte 11ml d'un milieu de culture prêt à l'emploi (MARROW MAX™ Karyotyping middle Invitrogen). La culture cellulaire dure 24h à 48h, à l'intérieur d'une étuve, sous une température de 37°C en position inclinée.

- Blocage des cellules en métaphase :

Après 24h de culture, on ajoute sous hôte 0,25 ml de colchicine pour chaque tube. Après avoir bien mélangé le contenu des tubes, on les remet dans l'étuve à 37°C en position inclinée pendant 30 minutes.

- Choc hypotonique :

Après 50 min d'incubation. On centrifuge les tubes à 1500 tr/mn à 25°C pendant 10 min avant d'ajouter dans chaque tube quelques gouttes de la solution hypotonique KCl, on suspend le culot à l'aide d'une pipette Pasteur, puis on complète avec 7ml de solution hypotonique de KCl.

- Fixation :

Le fixateur est mis dans un flacon propre et sec en verre, stocké à 4°C. Il faut toujours prévoir 300ml de fixateur par tube :

- Préfixation : On ajoute 2,5ml de fixateur frais dans chaque tube et on centrifuge à 1500 tr/min pendant 10 minutes.
- Première fixation : On remet le culot en suspension dans quelques gouttes de Carnoy I préparé extemporanément puis on complète avec 7ml de fixateur. On centrifuge immédiatement 1500tr/min pendant 10min.

- Deuxième fixation : On recommence les fixations jusqu'à ce que le culot cellulaire soit propre (3 fixations minimum). On remet le culot en suspension dans quelques gouttes de Carnoy I et on complète à 7ml.

- Etalement :

- Etaler la lame dans une pièce à température de 22°C (+/-2°C) et à 45% (+/-5).
- Remettre le culot en suspension dans du Carnoy I
- Aspirer dans l'effilure de la pipette et mettre deux gouttes par lame à côté de l'humidificateur, puis laisser sécher à température ambiante.

Finalement, on observe au microscope inverse la richesse des lames en mitose.

- Dénaturation-coloration :

Au quatrième jour après l'étalement, on effectue la dénaturation thermique dans la solution Earl à 87°C pendant 45mn. Puis, on colore avec du Giemsa 5% pendant 8 minutes, pour obtenir des bandes R (reverses) c'est la technique RHG.

d-Lecture :

On laisse sécher la lame pour la lire sous un microscope relié à un ordinateur appelé cytoscan qui va permettre à l'aide du logiciel "Applied Imaging CytoVision™ 3.6" (Figure 19) d'organiser les chromosomes sous la forme du caryotype classique.

Les liaisons A=T dénaturées par l'Earl ne peuvent plus absorber le colorant et apparaissent claires sous microscope, alors que les liaisons G≡C qui sont restées intactes absorbent le colorant et apparaissent sombres sous microscope.



Figure 14: cytoscan "Applied Imaging CytoVision™ 3.6"

D-LA FISH

L'hybridation in situ fluorescente (FISH) permet de visualiser directement le gène de fusion BCR-ABL sur les noyaux, cet examen reste indispensable dans le cas de la LMC Ph-négative BCR-ABL positive (5 % des cas) où le caryotype ne permet pas de mettre en évidence le chromosome Ph [1]. La FISH peut être un complément utile quand le nombre de cellules (sanguines ou médullaires) en métaphase obtenu est insuffisant, voire absent.

Les résultats de la FISH interphasique ne sont pas superposables à ceux de la FISH métaphasique. La FISH métaphasique explore, comme le caryotype, le compartiment des cellules en division, alors que la FISH interphasique explore le compartiment des cellules quiescentes.

D-2- Protocole :

a)-Matériel et réactifs

Tableau13 : Le matériel et Les réactifs indispensables à la réalisation de la FISH.

Matériel	Réactifs
<p>Avant toute manipulation, on vérifie la disponibilité et le bon fonctionnement des instruments suivants :</p> <ul style="list-style-type: none"> -Agitateur magnétique -Bain-marie -Balance de précision -Microcentrifugeuse - Chronomètres -Microscope à Epifluorescence -Pipette 0.5-10μl -Pipette 10-100μl -Pipette 100-1000μl -pH mètre -Thermomètre calibré -Agitateur Vortex et platine d'hybridation Thermobrite (Abbott 7J9120). 	<ul style="list-style-type: none"> -Solution de 1XPBS pH 7-7.5 -2X SSC pH 7-7,5 -20X SSC (Sodium chloride, 0.3M sodium citrate, pH 5 .3) -Tampon de lavage Post-hybridation 1 (t°ambiante) (2X SSC / 0.1% NP₄₀) -Tampon de lavage Post-hybridation 2 -(73 \pm1°C) (0,4X SSC / 0.3% NP₄₀) -Dilutions d'Ethanol : Ethanol éthylique absolu ; Ethanol 70% ; Ethanol 85%. -Pepsine diluée : Utiliser la pepsine préparée pour les tissus et la diluer au 10^{ème} ; -Contre colorant DAPI II (ref. Abbott 6J5001). -Sonde «Vysis LSI BCR/ABL Dual Color, Single Fusion Translocation Probe Set».

b- Les étapes de la technique:

- Préparation des lames pour la FISH :

Mettre au bain marie les solutions utilisées à chaud.

- Prétraitement :

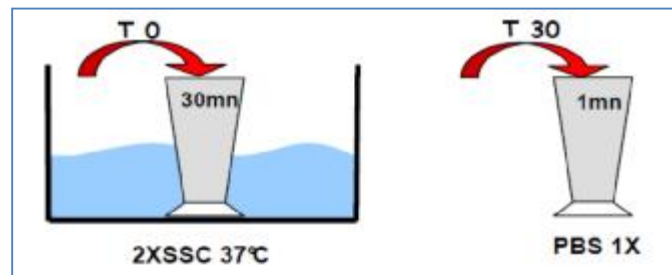


Figure 15 : Prétraitement par le 2XSSC et le PBS 1X

-Immerger les lames dans la solution 2XSSC, 70% Formamide à 37°C pendant 30 min;

-Immerger les lames dans du PBS 1X pendant 1 minute.

- Traitement à la pepsine :

Placer les lames sur le ThermoBrite (Abbott 7J9120) à 37°C et recouvrir la section avec la pepsine diluée

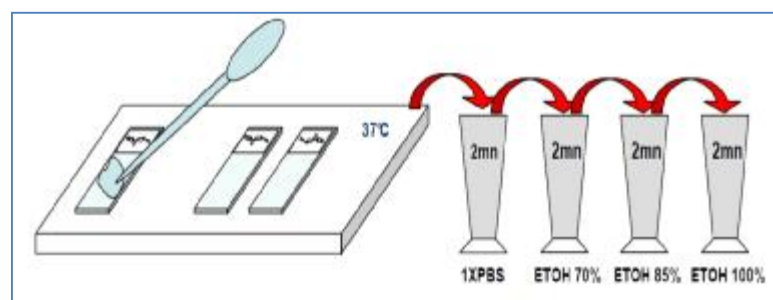


Figure 16 : Traitement des lames par la pepsine.

Laisser incubé entre 10 et 20 minutes avant d'immerger les lames dans du PBS 1X 2 minutes puis déshydrater les lames dans un gradient d'ETOH 70, 85, 100% 2 minutes chaque'un, et enfin laisser sécher les lames avant de procéder à l'étape d'Hybridation.

- Hybridation des échantillons :

Sortir la sonde et le tampon d'hybridation du congélateur et les laisser atteindre la température ambiante



Figure 17 : Centrifugation et vortex de la sonde



Figure 18 : Ajout de la sonde sur la lamelle

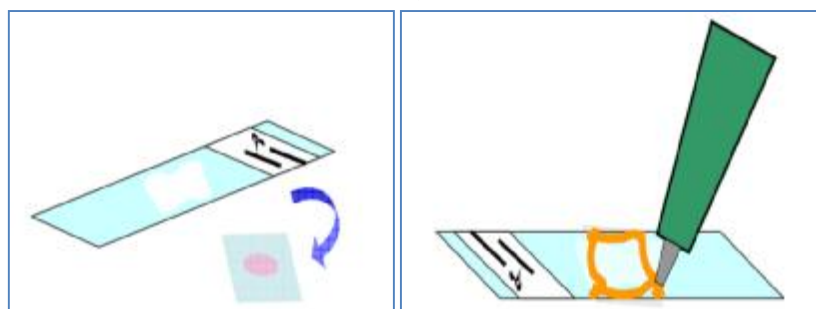


Figure 19 : Retourner la lame échantillon sur la lamelle, puis les sceller par la colle

-Placer la lame dans le ThermoBrite et laisser incuber à 37°C pendant environ 5 minutes avant de lancer le programme de dénaturation/hybridation

- Lavage post-hybridation :

A partir de cette étape, il faut travailler en lumière réduite pour préserver les fluorochromes des sondes présentes sur les lames.

- Sortir les lames du ThermoBrite
- Placer la lame dans la solution de lavage 2XSSC/0,1% NP40 à t° ambiante
- Transférer les lames dans la solution 0,4XSSC/0,3% NP40 à 73°C. Agiter rapidement et lancer le chronomètre réglé à 2 minutes
- Rincer à t° ambiante 30s à 1 minute ;
- Mettre les lames à sécher à l'obscurité et sortir le DAPI du congélateur.
- Contre coloration des noyaux au DAPI

d- Lecture :

- Placer les lames à 4°C pendant au moins 5min avant de procéder à la lecture sous microscope.
- Observation des résultats de FISH dans l'obscurité sur cytoscan.

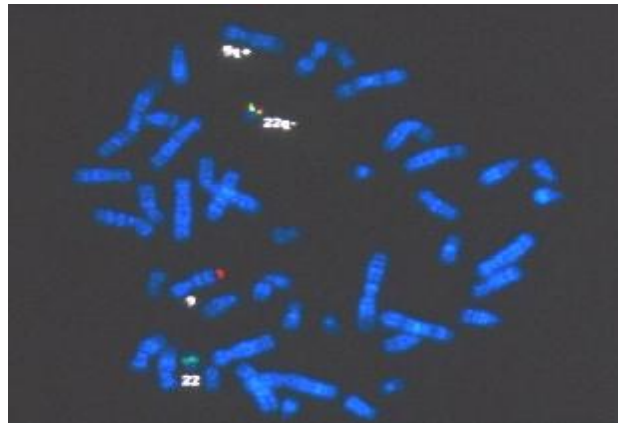


Figure 20 : Sonde 5' BCR- 3'ABL : FISH sur chromosomes (FISH métaphasique) LMC

Ph+ [99]

La sonde de BCR : fluorescence verte. La sonde d'ABL : fluorescence rouge-rosé.
La séquence chromosomique appartenant aux gènes BCR-ABL : les deux sondes se retrouvent l'une à côté de l'autre et donnent une couleur tirant vers le jaune.

E- La biologie moléculaire :

L'étude par biologie moléculaire des transcrits BCR-ABL est actuellement indispensable à la prise en charge des LMC. Elle se réalise après amplification par une technique PCR.

En raison des nombreux points de cassure sur les gènes BCR et ABL, on n'amplifie pas directement l'ADN, mais les ARNm correspondants par des techniques de RT-PCR. Techniquement, on extrait l'ARN des leucocytes, puis, par reverse transcriptase(RT), on synthétise l'ADN complémentaire(ADNc) qui est à son tour amplifié au moyen d'une PCR. [100]

Cette technique montre que plus de 50 % des patients pour lesquels la cytogénétique était négative sont en fait bcr/abl+. [46]

a)-Synthèse de l'ADNc

La synthèse d'ADNc est catalysée par des transcriptases inverses, qui sont des ADN polymérase ARN dépendantes, capables d'utiliser un brin d'ARN comme matrice pour catalyser la synthèse du brin d'ADN complémentaire.

Comme toutes les ADN polymérase, les transcriptases inverses ne peuvent pas initier seules la synthèse d'un brin d'ADN. Elles ont besoin d'une amorce possédant une extrémité 3'-OH libre. Lorsque les ARN à amplifier sont polyadénylés en 3', l'amorce choisie peut être simplement une séquence polyT constituée d'une succession de désoxythymidines (Fig21). Dans ce cas, tous les ARNm sont a priori copiés en ADNc [101]

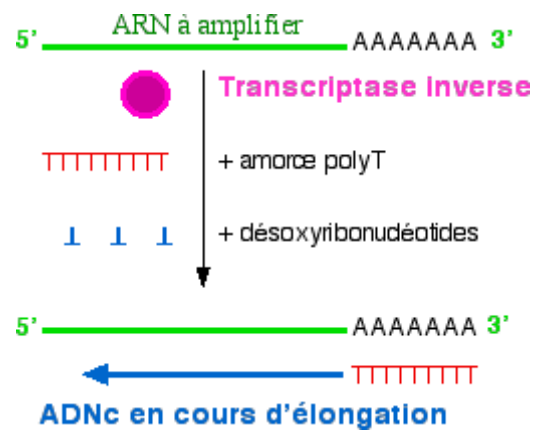


Figure 21: Principe de la réaction de transcription inverse en présence d'amorce polyT [101].

b)-la PCR

La PCR est une technique d'amplification d'ADN in vitro. Elle permet d'obtenir un très grand nombre de copies d'une séquence d'ADN choisie.

Chaque cycle d'ADN est constitué de trois étapes : une dénaturation de l'ADN par chauffage pour séparer les deux brins qui le composent, une hybridation des amorces aux extrémités de la séquence recherchée, puis une élongation grâce à l'action d'une ADN polymérase.

Ce cycle est répété un grand nombre de fois pour obtenir une multiplication exponentielle de la séquence d'ADN cible (la durée d'un cycle est de l'ordre de la minute). [102]

Les amplifications sont ensuite réalisées sur des appareils (thermocycleurs) pourvus de blocs chauffants, dans lesquels les cycles temps/températures sont contrôlés automatiquement.

Les produits d'amplification issus de la réaction peuvent être mis en évidence :

Soit en fin de réaction (PCR conventionnelle), par électrophorèse sur gel et révélation à l'aide d'un agent intercalant, par exemple

Soit à chaque cycle (PCR temps réel), grâce à des sondes fluorescentes [103].

RESULTATS

A-PROFIL EPIDEMIOLOGIQUE

1. Prévalence

Le présent travail a été effectué sur une période allant de Janvier 2011 à Mai 2015.

Sur les 109 cytogénétiques hématologiques reçus à l'unité de génétique médicale du CHU Hassan II de Fès pour suspicion de LMC, provenant du service de médecine interne et hématologie clinique (El ghassani), nous avons colligé 53 cas de LMC Ph+, soit une prévalence de 46,7%.

2-Répartition géographique :

La majorité des patients sont de la région Fès-Boulmane 18 (34%) et Meknès-Tafilalet 13 (25%) et seules 5 patients résident (8,4%) au Sud ; 8 proviennent du Nord (16%) ; 9 de la région Est (16.6%). (Figure 22)

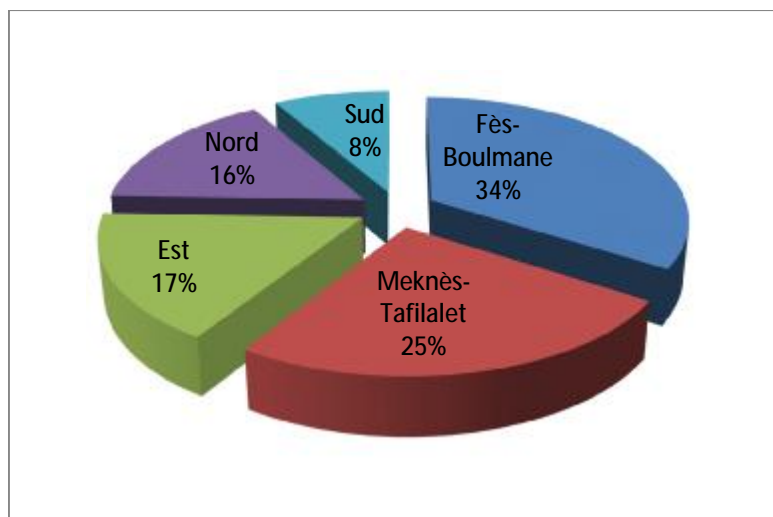


Figure 22 : répartition géographique des malades

3- Répartition selon la profession :

La profession est précisée chez tout nos patients, 29 sont sans profession ; le reste des patients se répartit comme suit : agriculteur: 2 cas ; ouvrier 11 (maçon: 2, mécanicien: 4, couturière : 3, esthéticienne: 2) ; étudiant: 3 ; profession libérale 8 :(cordonnier : 2, commerçant: 5, chauffeur:1). (Figure23)

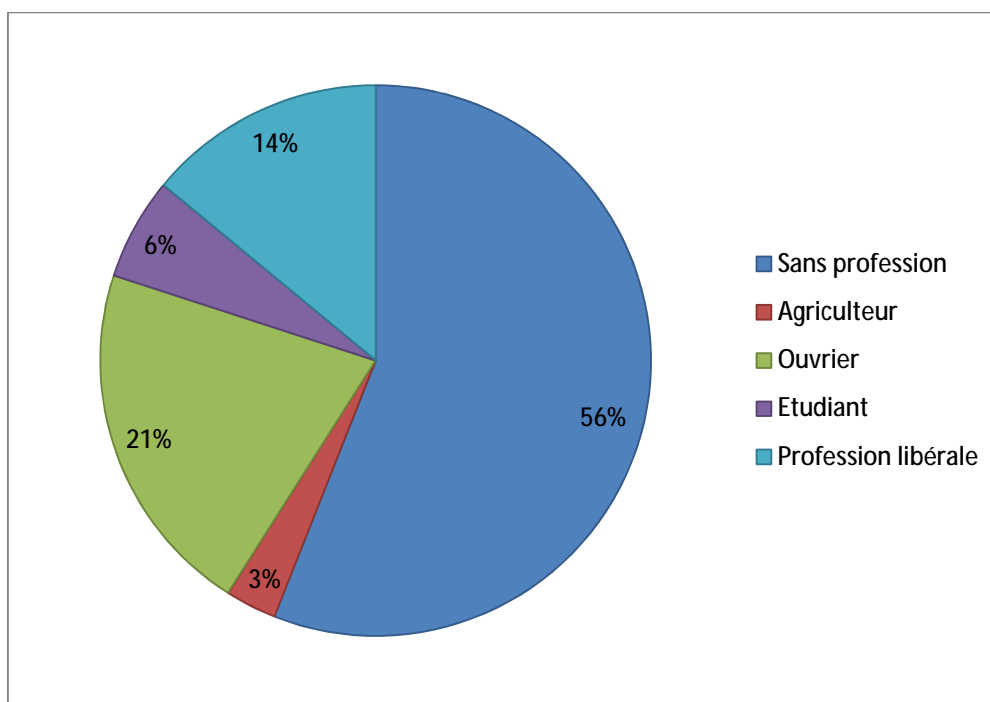


Figure 23 : La répartition des malades selon la profession

4-Répartition selon L'âge :

L'âge de nos patients allait de 13 à 77 ans avec un âge moyen de 47,1ans.

Dans notre série, nous avons identifié 4 tranches d'âges dont la fréquence de survenue des LMC est variable. La survenue était plus élevée chez les sujets âgés de 40 à 59 ans avec une fréquence de 39,6 %.

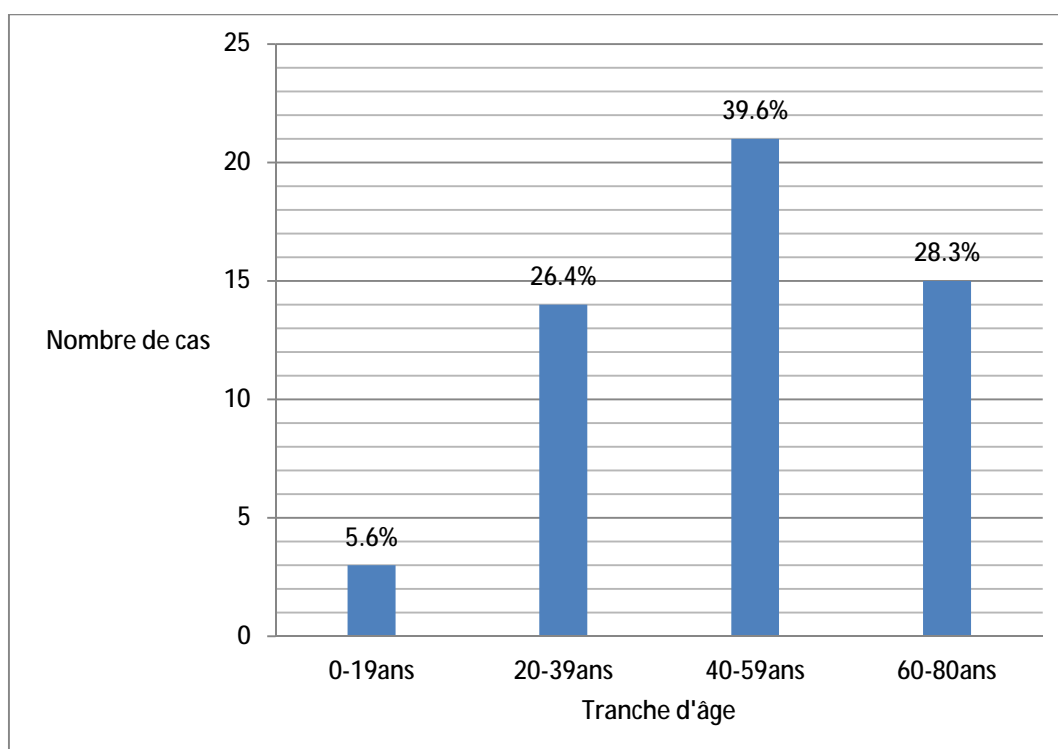


Figure 24 : La répartition en fonction des tranches d'âge dans notre série

5- Répartition selon le sexe :

Dans notre étude nous avons noté une légère prédominance féminine.

En effet, 49% de nos patients étaient de sexe masculin alors que 51% étaient de sexe féminin soit un sex-ratio de 0.96.

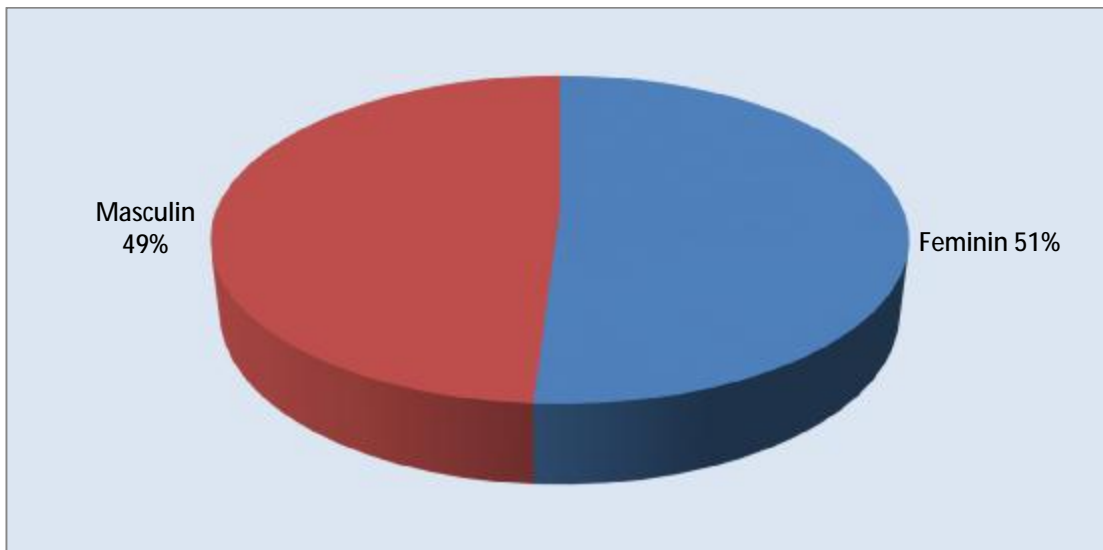


Figure 25 : Répartition des patients selon le sexe

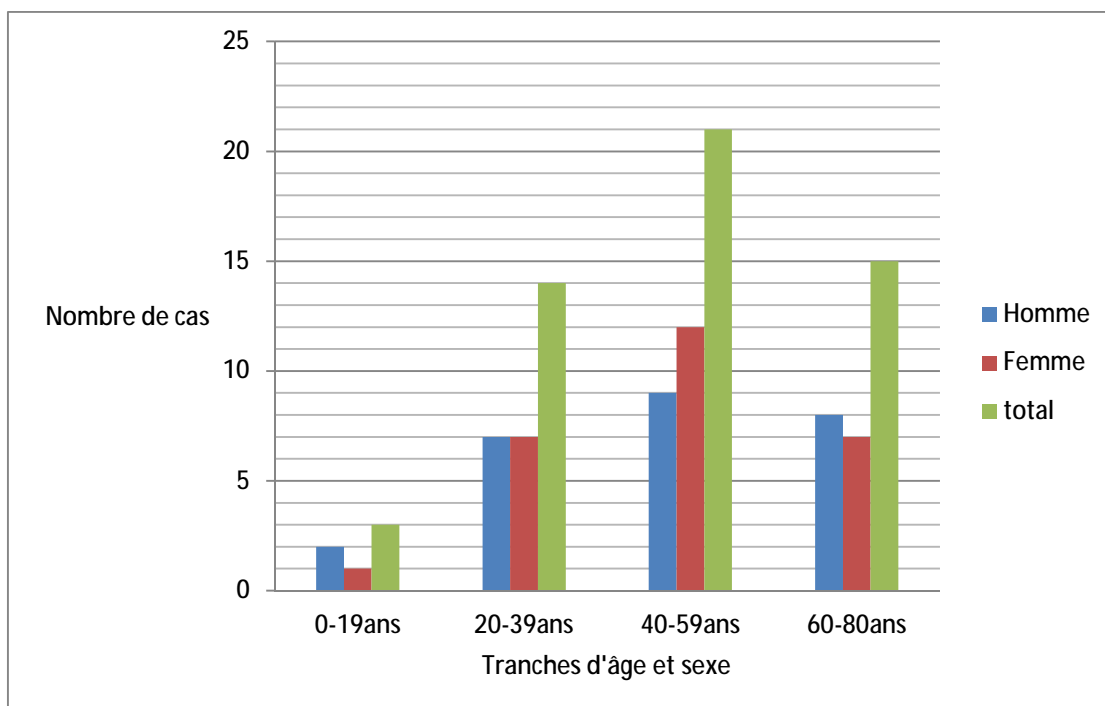


Figure26 : Répartition de nos patients selon l'âge et le sexe.

6-Les données étiologiques :

Dans notre série aucun facteur étiologique n'a été retrouvé : pas de cas familiaux ou d'antécédents de la LMC chez les ascendants de patients, ni d'antécédents d'irradiation ou traitement par des immunosuppresseurs.

B- PROFIL CLINIQUE

Les principaux signes cliniques retrouvés chez l'ensemble de nos malades sont :

1 -Splénomégalie :

La splénomégalie est retrouvée chez 47 patients soit 88,67 % des cas.

2 -Syndrome hémorragique :

Le syndrome hémorragique était présent chez 12 malades soit 22,6 % des cas.

3 -Hépatomégalie :

L'hépatomégalie était présente chez 8 patients soit 15 % des cas.

4- Adénopathies :

Les adénopathies sont retrouvées chez 2 patients soit 3.77 % des cas.

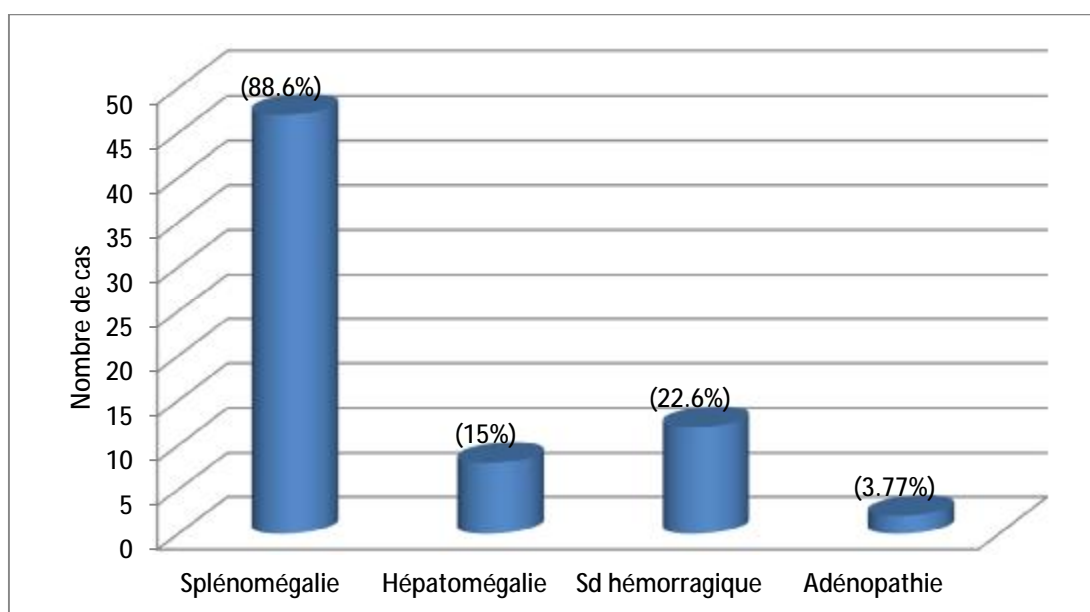


Figure 27 : La répartition des principaux signes cliniques chez nos malades

5- Autres :

Les signes généraux à type d'asthénie, de fièvre, d'amaigrissement et d'altération de l'état générale, étaient présents chez la plupart de nos patients.

C- PROFIL BIOLOGIQUE

1-Hémogramme :

L'hémogramme a été pratiqué chez tous les malades de notre série, c'est l'examen le plus important car il permet à lui seul d'évoquer le diagnostic de la LMC.

Une hyperleucocytose, une anémie et une thrombocytose sont les anomalies sanguines les plus souvent rencontrées.

a- L'hyperleucocytose:

Chez nos patients le taux des GB varie entre 27.10^3 élément/mm³ et 431.10^3 élément/mm³ avec une moyenne de 239.10^3 /mm³ au diagnostic

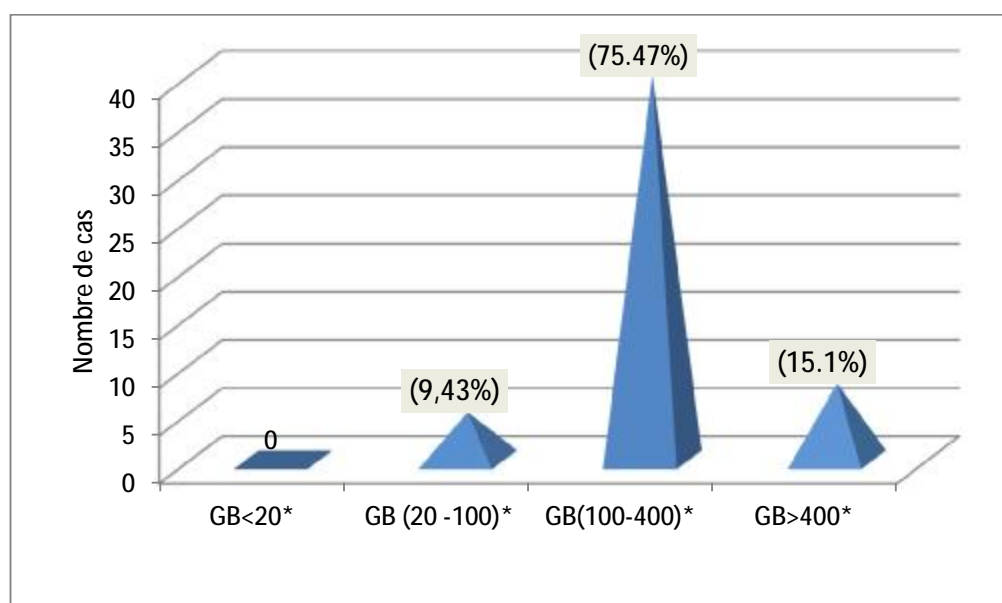


Figure 28 : Le taux de GB des patients notre série, GB (*10⁹/L)

b- La myélémie :

Etait majoritaire (30-50 %) dans 100 % des cas, faite essentiellement de métamyélocytes et de myélocytes, avec peu de promyélocytes et de blastes.

c -L'anémie :

Chez nos patients, la valeur moyenne de HB est de : 8,57g/dl avec des extrêmes allant de 5,2g/dl à 12 ,9g/dl.

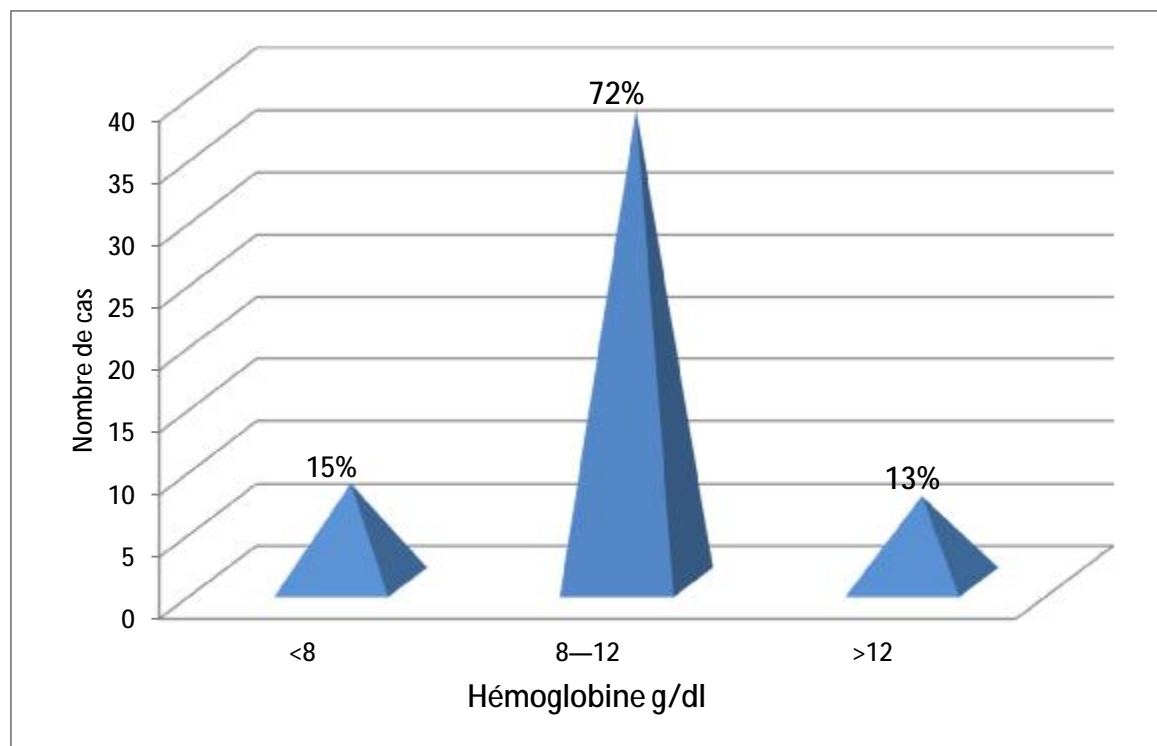


Figure 29 : Les taux de l'hémoglobine de notre série

d-Les plaquettes :

Le taux des plaquettes varie entre 116 000 éléments /dl et 1071.000 éléments/dl chez les patients de notre série.

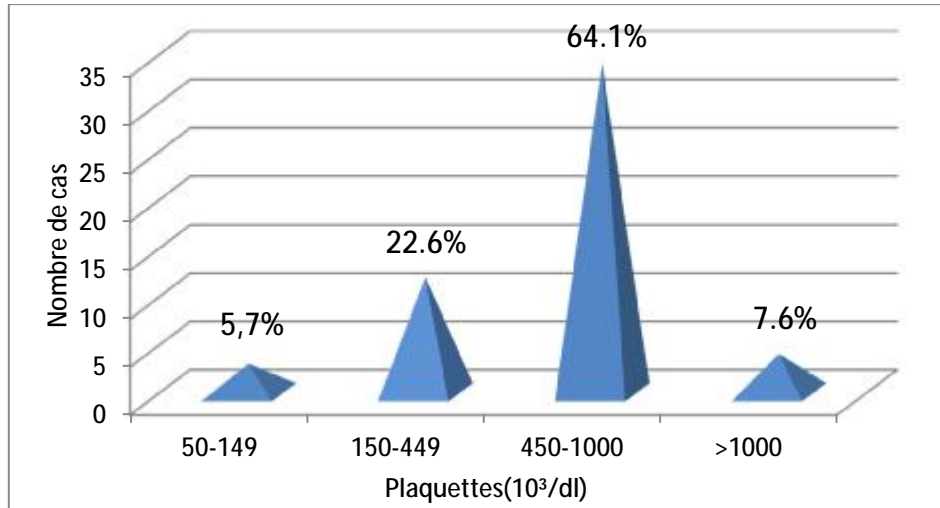


Figure 30 : Le taux de plaquettes chez les patients de notre série

C-2-Le myélogramme :

Il a été réalisé chez tous nos patients, il a montré dans tous les cas une moelle riche de cellules granuleuses faites essentiellement de myélocytes et de métamyélocytes, sans hiatus de maturation.

Le myélogramme est indispensable pour réaliser le caryotype et pour préciser le stade évolutif de la maladie. [88]

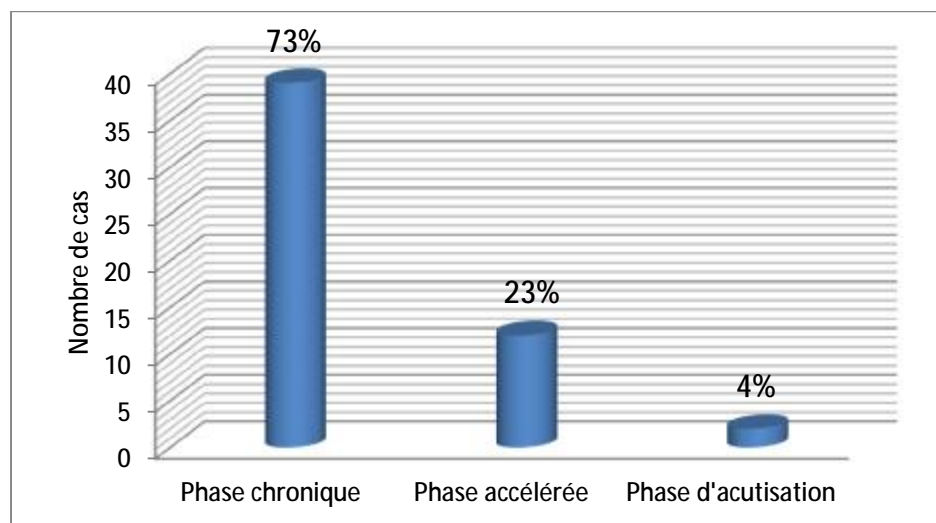


Figure 31 : Répartition de nos patients selon la phase de la LMC

C-3-Examens cytogénétiques :

- la cytogénétique conventionnelle : c`est la technique de référence pour la mise en évidence de la t(9;22)(q34;q11), dans sa forme classique ou variante
- la cytogénétique moléculaire (FISH) : indiquée en cas de discordance entre les données du caryotype (qui n`identifie pas le chromosome Ph) et les données biologiques qui sont compatibles avec le diagnostic de la LMC. [1]

C.3.1. Les résultats de la cytogénétique classique (caryotype) :

L`analyse du caryotype a permis de mettre en évidence le chromosome Philadelphie chez 39 des 53 patients étudiés (73,6%) ; il est absent chez 14 patients (26,4%) (Figure32).

Chez ces 14 patients, le diagnostic de la LMC a été confirmé par la FISH chez 12 patients et chez 2 patients par la biologie moléculaire (RT-PCR).

Il s`agit d`un chromosome phi dans sa forme classique chez 36 patients (92,3%) (figure33), et d`un chromosome Phi variant complexe chez 3 patient (7, 7%) (Figure : 34, 35, 36).

Des anomalies chromosomiques surajoutées au chromosome Phi (anomalies chromosomiques additionnelles ACA) ont été notées chez 1/39 patients (2,56%) ; il s`agit d`une trisomie 21.

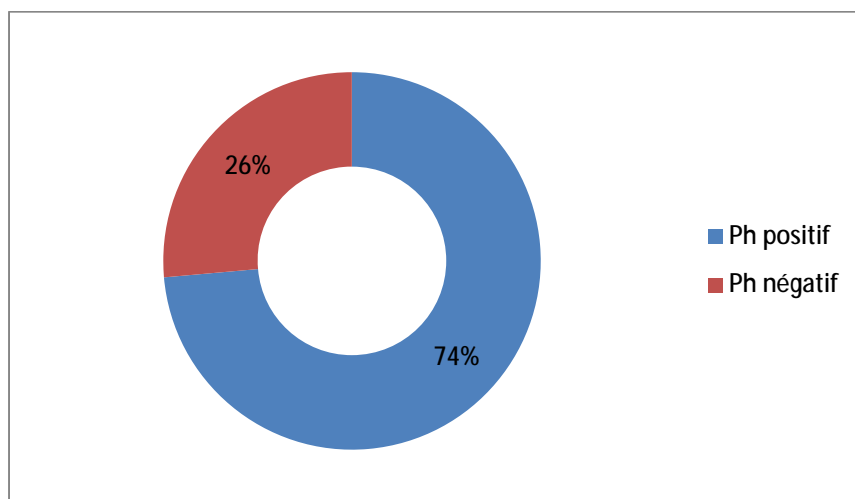


Figure 32 : Pourcentages des caryotypes Ph+, et Ph-.

- Les formules chromosomiques de nos patients

Tableau 14 : Les formules chromosomiques de notre série

Patients	Année	Age/Sexe	Formule chromosomique
Patient 1	2011	62/H	46,XY,t(9;22)(q34;q11)
Patient 2	2011	44/F	46,XX,t(9;22)(q34;q11)
Patient 3	2011	63/H	46,XY,t(9;22)(q34;q11)
Patient 4	2011	65/H	46,XY,t(9;22)(q34;q11)
Patient 5	2011	17/H	46,XY,t(9;22)(q34;q11)
Patient 6	2011	66/H	mos45,X,t(9;22)(q34;q11)[5] / 46,XY,t(9;22)(q34;q11) [11]
Patient 7	2011	46/H	46,XY,t(9;22)(q34;q11)
Patient 8	2011	77/F	46,XX,t(9;22)(q34;q11)
Patient 9	2012	53/F	46,XX,t(9;22)(q34;q11)
Patient 0	2012	28/F	46,XX,t(9;22)(q34;q11)
Patient11	2012	48/F	46,XX,t(9;22)(q34;q11)
Patient 12	2012	51/H	46,XY,t(9;22)(q34;q11)
Patient 13	2012	49/F	46,XX,t(9;22)(q34;q11)
Patient 14	2012	39/H	46,XY,t(9;22)(q34;q11)
Patient 15	2012	47/F	mos46,XX,t(9;22)(q34;q11)[22]/ 46,XX,t(9;22)(q34;q11) der(6)[12]
Patient 16	2012	19/H	46,XY,t(9;22)(q34;q11)
Patient 17	2012	38/H	46,XY,t(9;22)(q34;q11)
Patient 18	2012	31/H	46,XY,t(9;22)(q34;q11)
Patient 19	2012	34/F	46,XX,t(1;9;22)
Patient 20	2012	64/H	46,XY,t(9;22)(q34;q11)
Patient 21	2013	58/H	46,XY,t(9;22)(q34;q11)
Patient 22	2013	36/H	46,XY,t(9;22)(q34;q11)
Patient 23	2013	47/H	46,XY,t(9;22)(q34;q11)
Patient 24	2013	28/H	46,XY,t(9;22)(q34;q11)
Patient 25	2013	40/F	46,XX,t(9;22)(q34;q11)
Patient 26	2013	33/F	46,XX,t(9;22)(q34;q11)

Patient 27	2013	60/F	46,XX,t(9;22)(q34;q11)
Patient 28	2013	56/H	46,XY,t(9;22)(q34;q11)
Patient 29	2013	42/F	46,XX,t(9;22)(q34;q11)
Patient 30	2013	55/F	46,XX,t(9;22)(q34;q11)
Patient 31	2013	60/F	46,XX,t(9;22)(q34;q11)
Patient 32	2013	68/H	46,XY,t(9;22)(q34;q11)
Patient 33	2013	50/H	46,XY,t(9;22)(q34;q11)
Patient 34	2013	41/H	46,XY,t(9;22)(q34;q11)
Patient 35	2013	70/F	46,XX,t(9;22)(q34;q11)
Patient 36	2014	75/F	46,XX,t(9;22)(q34;q11)
Patient 37	2014	35/F	46,XX,t(9;22)(q34;q11)
Patient 38	2014	21/F	46,XX,t(9;22)(q34;q11)
Patient 39	2014	58/F	46,XX,t(9;22)(q34;q11)
Patient 40	2014	13/F	46,XX,t(9;22)(q34;q11)
Patient 41	2014	71/H	46,XY,t(9;22)(q34;q11)
Patient 42	2014	22/H	46,XY,t(9;22)(q34;q11)
Patient 43	2014	34/H	46,XY,t(9;22)(q34;q11)
Patient 44	2014	56/H	46,XY,t(9;22)(q34;q11)
Patient 45	2014	42/F	46,XX,t(9;22)(q34;q11)
Patient 46	2014	42/F	46,XX,t(9;22)(q34;q11)
Patient 47	2014	57/F	46,XY,t(9;22)(q34;q11)
Patient 48	2014	70/F	46,XX,t(9;22)(q34;q11)
Patient 49	2014	65/F	46,XX,t(9;22)(q34;q11)
Patient 50	2014	22/F	46,XX,t(9;22)(q34;q11)
Patient 51	2014	29/F	46,XX,t(9;22)(q34;q11)
Patient 52	2015	72/F	46,XX,t(9;22)(q34;q11)
Patient 53	2015	43/F	46,XX,t(9;22)(q34;q11)

- les caryotypes de nos patients

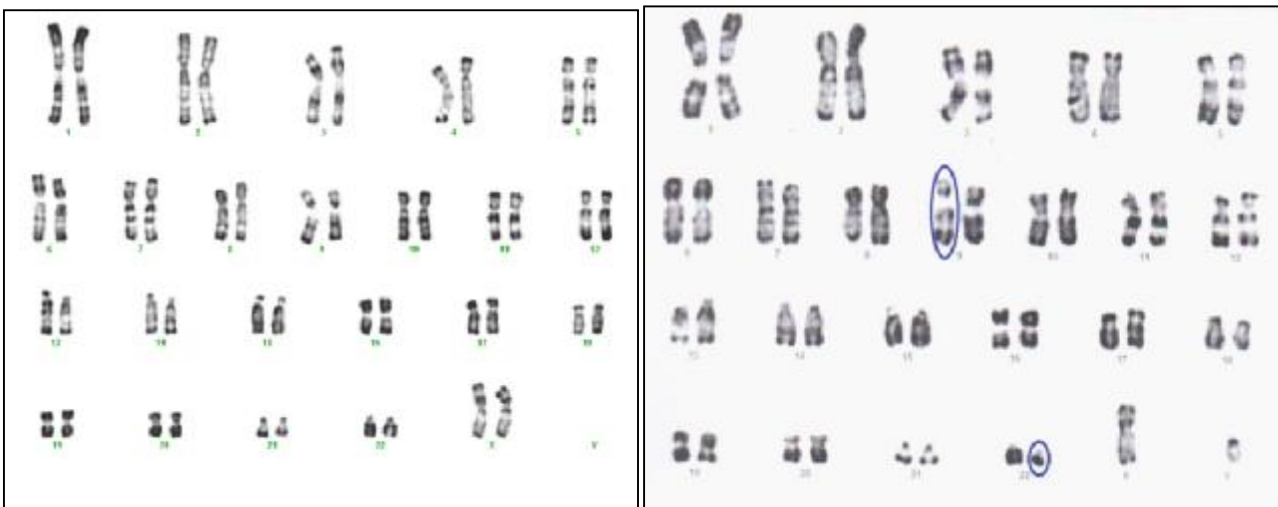


Figure 33:

- Gauche : Personne saine
- Droite : LMC avec la translocation $t(9; 22)$: bras long du chromosome 9 rallongé, chromosome 22 raccourci avec présence du gène de fusion BCR-ABL.

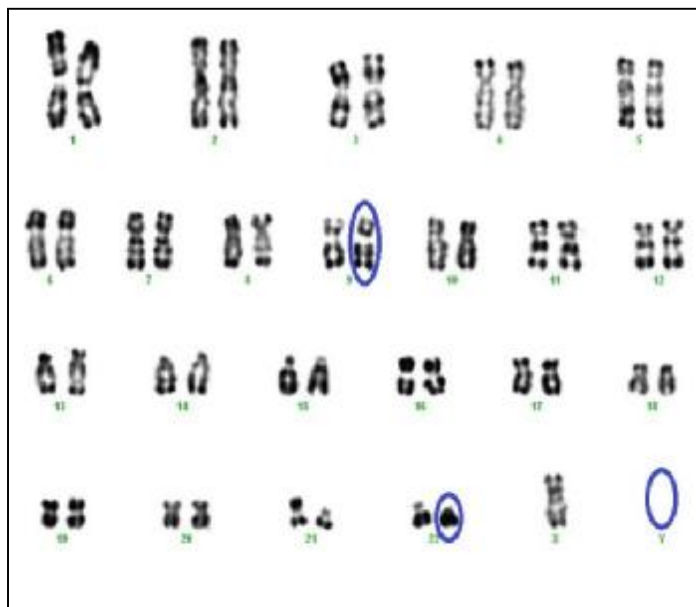


Figure 34: Le patient 6: $mos45,X,t(9;22)(q34;q11)$, anomalie de nombre où on a la translocation (9;22) avec une perte du chromosome Y.

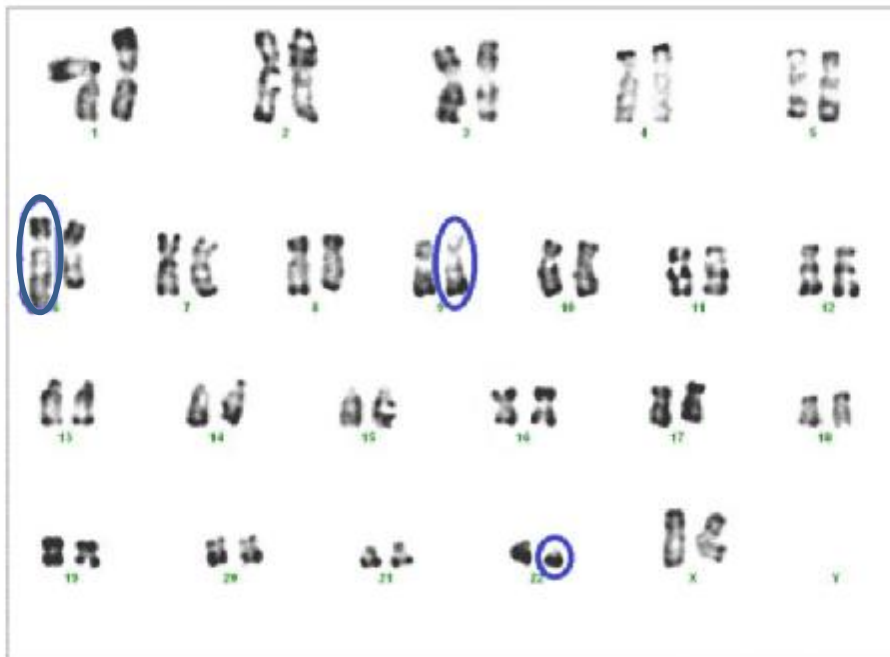


Figure 35 : La patiente 15 : mos46,XX,t(9;22)(q34;q11)der(6), anomalie de structure.

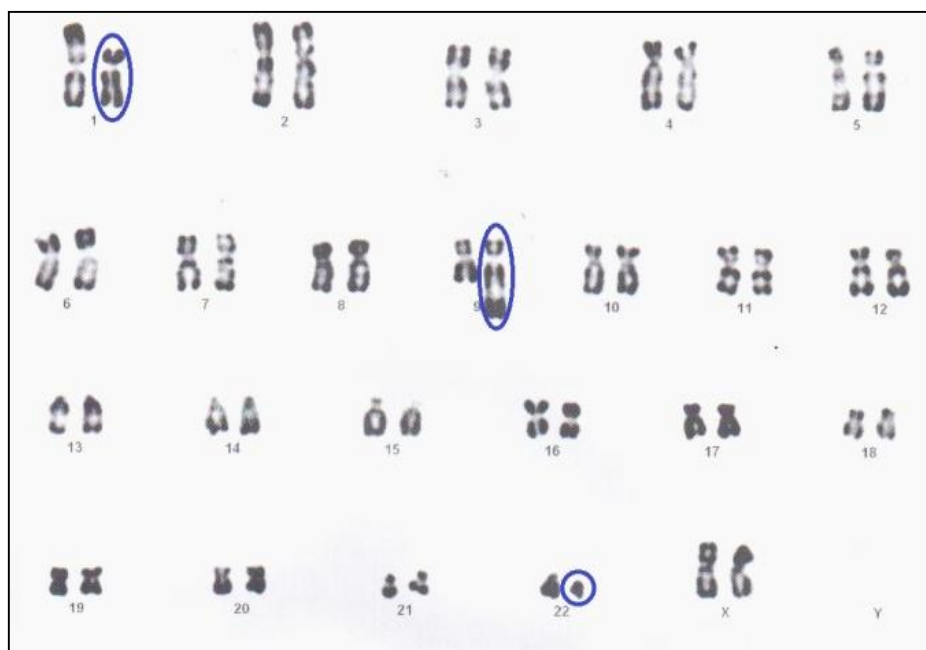


Figure 36 : La patiente 19 : 46,XX,t(1;9;22), anomalie de structure avec échange du matériel génétique entre les trois chromosomes.

C.3.1. Les résultats de la cytogénétique moléculaire (FISH) :

Dans notre série d'étude, 14 patients ont un caryotype normal avec Ph- (Figure 37) on a identifié la présence du gène de fusion BCR/ABL par la FISH chez 12 patients.

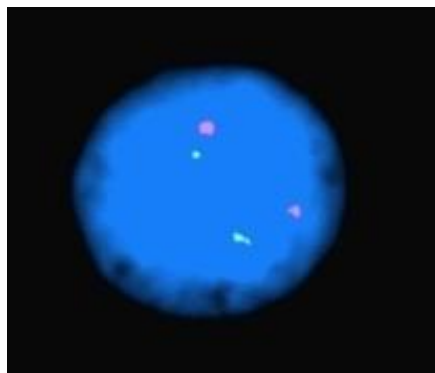


Figure 37 : Résultat d'une FISH négative de l'un de nos patients

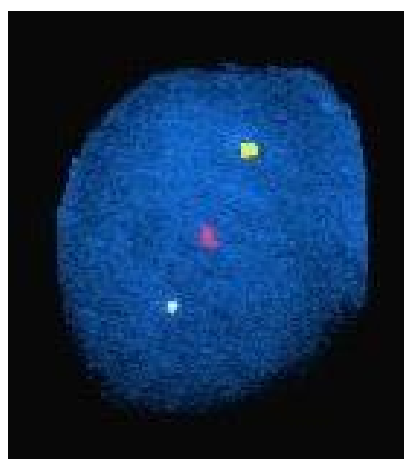


Figure 38 : Résultat d'une FISH positive de l'un de nos patients

C.4. Les résultats de la biologie moléculaire

- La reverse transcriptase chaîne polymérase réaction (RT-PCR) permet d'identifier les différents transcrits de fusion b2a2, b3a2... [1].

La recherche du transcrit bcr/abl par RT-PCR au diagnostic n'a été réalisé que chez 2 malades, soit 3,7% des cas. Elle était positive chez les 2 cas.

D- Evaluation pronostic :

Dans notre série 49% des patients ont un risque intermédiaire selon la classification de Sokal (26cas) 34% ont un haut risque (18 cas) et 17% ont un faible risque (9 cas). (Fig 39)

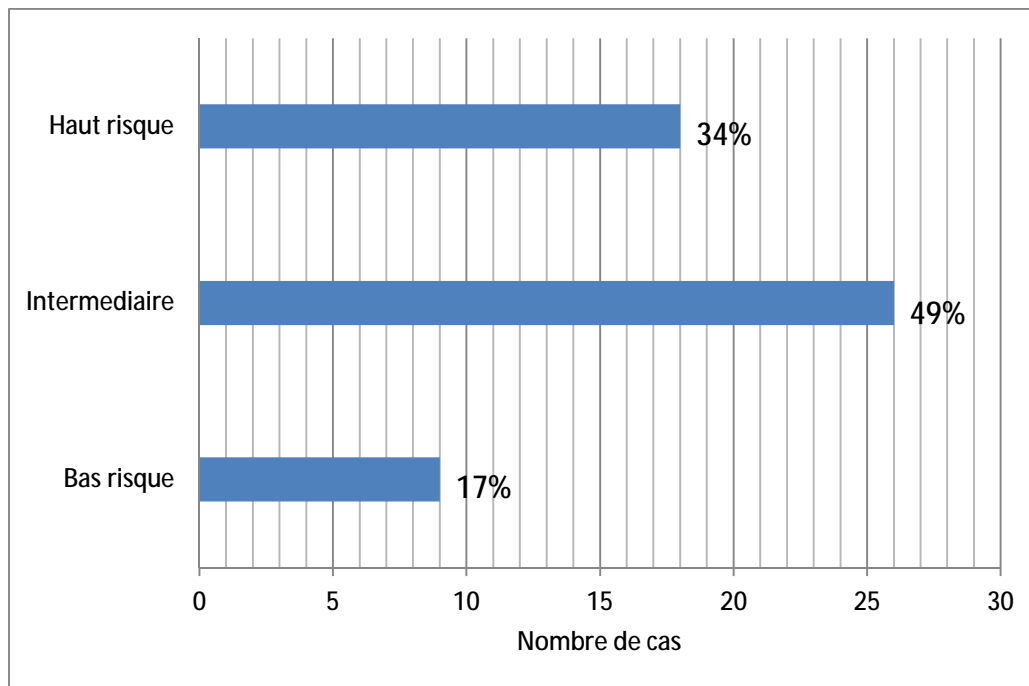


Figure 39 : Répartition des patients selon la classification pronostique de Sokal

DISCUSSION

L'analyse et la comparaison des résultats de cette étude, avec les autres études de la littérature, permettent de faire certains commentaires.

A - Données épidémiologiques :

1- L'âge :

Selon les données de la littérature, la LMC est observée à tous les âges de la vie avec un maximum entre 30 et 60 ans avec un pic de fréquence entre 40 et 50 ans. [5,6]

Dans notre série l'âge moyen de diagnostic est de 47,2 ans avec des extrêmes allant de 13 à 77 ans. Nous avons comparé nos résultats avec ceux d'autres séries (Tableau 15)

Tableau 15 : La comparaison d'âge des différentes séries rapportées

	Age moyen au diagnostic	Tranche d'âge la plus touchée	Pourcentage des sujets atteints dont l'âge <20ans
Maynadié M et al.2013(France) [96]	63	60-80	3
Nacer Redhouane et al.2010 (Algérie) [1]	43,5	36-45	Non signalé
Agharbi et al 2008(Maroc) [49]	44	20-66	0
Notre série	47,2	40-60	3

Nos résultats concordent avec ceux des séries Algérienne 2010 et Marocaine 2008 ainsi qu'avec les données de la littérature contrairement à la série française.

Cette différence peut être expliquée par le caractère jeune des populations Marocaine et Algérienne.

2- Le sexe :

Une légère prédominance féminine est retrouvée dans notre série avec un sexe-ratio de 0.96, ce dernier varie entre 1,4 et 2,2 dans les séries de la littérature. [96,1, 49]

Le tableau 16 illustre une comparaison entre les sexe- ratio des différentes séries.

Tableau16 : le sexe-ratio des différentes séries rapportées

	le sexe-ratio H/F
<i>Maynadié M [96]</i>	1 ,7
Nacer Redhouane [1]	1,01
Agharbi [49]	1,3
Notre série	0,96

M. Maynadié a rapporté une prédominance masculine nette, contrairement aux autres séries, y compris la nôtre.

3 -Origine géographique :

Dans notre série, Nous constatons une fréquence plus élevée à la région Fès-Boulmane et Meknès-Tafilalet qui s'explique par la répartition très inégale de la population entre le Nord et le Sud du pays.

Dans la série Algérienne, la majorité des patients sont du Nord Algérien soit 1413 (96.9%) et seulement 44 cas sont du Sud.

4-Répartition selon la profession :

Les professions les plus retrouvées dans notre série : ouvriers (21%), profession libérale (14%), tandis que, 56% des patients sont sans profession, existe-t-il un passé professionnel non précisé ou existe-t-il des facteurs liés à l'environnement ?

Même si la relation avec certaines professions est suspectée, les produits auxquels ces patients sont exposés, les modalités d'exposition au risque en terme de niveaux et de durée restent souvent méconnus ce qui nous permet pas d'établir une relation de cause à effet.

5-Facteurs étiologiques :

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

L'incidence de cette affection dans les générations de patients suivis pour LMC n'est pas plus élevée par rapport au reste de la population. Il n'y a pas non plus de corrélation chez les jumeaux monozygotiques suggérant le caractère acquis de la LMC.

L'existence d'un risque accru de cancers après irradiation à fortes doses est clairement établie, c'est le cas des patients irradiés pour spondylarthrite ankylosante, et les femmes traitées par radiothérapie pour cancer du col [4].

Dans notre série aucun facteur étiologique n'a été retrouvé : pas de cas familiaux ou d'antécédents de la LMC chez les ascendants de patients, ni d'antécédents d'irradiation ou traitement par des immunosuppresseurs.

Cependant dans l'autre série Agharbi comportant 23 patients, un seul facteur étiologique a été noté (un cas traité par des immunosuppresseurs pour un cancer du sein, 5 ans auparavant) et la série Algérienne [4] a rapporté un traitement par radiothérapie dans quatre cas.

B-Données cliniques :

1-La splénomégalie

Retrouvée dans la majorité des cas (88,6 %) dans notre série, Des résultats similaires sont rapportés dans la littérature [49, 85, 50].

2- L'hépatomégalie :

Retrouvée dans 18% des cas, moins fréquente comparativement aux séries rapportées dans la littérature [49, 85, 50].

3-Le syndrome hémorragique

Fait de gingivorragies, d'épistaxis et d'ecchymoses, le syndrome hémorragique était présent chez 22,6% des cas. Nos résultats sont proches de ceux des autres séries [49, 85, 50]. .

4-Les Adénopathies

Observés chez seulement 4% des cas dans notre série, alors qu'aucun patient n'a présenté d'adénopathies dans la série Agharbi [49].

Pour l'étude de l'hôpital militaire Mohammed V de RABAT [50], les adénopathies étaient retrouvées chez 40 % des cas, et chez 35% des cas dans celle de Benabdeljelil [85].

Le tableau 17 récapitule les pourcentages des signes cliniques cités ci-dessus.

Le tableau 17 : les pourcentages des principaux signes cliniques des séries publiées

	SMG	HMG	ADP	Sd Hgique
Agharbi[49]	95,6 %	18%	0%	22%
Benabdeljlil [85]	98 %	41%	35%	37%
HMV [50]	80 %	22%	40%	31%
Notre série	88.6%	15%	4%	22.6%

C-Données paracliniques :

1-L'Hémogramme :

L'hémogramme ou numération-formule sanguine (NFS) est l'examen le plus important, car il permet à lui seul d'évoquer le diagnostic. [5]

a- Globules blancs

- L'hyperleucocytose est franche chez tous nos patients, avec une moyenne de $239.10^3/mm^3$, et des extrémités allant de $27.10^3/mm^3$ à $431.10^3/mm^3$; Ceci concorde avec les séries de la littérature [1, 49, 50].

Dans notre série plus de 70% ont un taux de GB entre $100.000/mm^3$ et $400.000/mm^3$ au moment du diagnostic, alors que ce taux de GB dépasse $400.000/mm^3$ dans 50% des cas dans la série Aghrbi, Ce résultat peut être expliqué par l'amélioration de la prise en charge et la couverture sanitaire dans le domaine.

b- Anémie

- Dans 72% des cas, le taux d'hémoglobine chez nos patients était compris entre 5,2 et 12,9 g/dl, avec une moyenne de 8,5, concordant ainsi avec les résultats de la littérature [1, 49, 50].

c- Les plaquettes :

- La thrombocytose est très fréquente dans notre série. Plus de 60% des cas ont un taux des plaquettes compris entre 450.000/mm³ et 1000.000/mm³. Ce taux est proche de celui de la série Aghrbie ; mais nettement plus élevé par rapport aux données de la littérature [1, 49, 50].

IL est intéressant de noter qu'aucun incident thrombotiques n'a été signalé.

Nous avons comparé les résultats de l'hémogramme de notre série avec d'autres séries dans le tableau 17.

Tableau 17 : Comparatif des valeurs des résultats de l'hémogramme dans plusieurs séries

Les séries	Nacer Redouane [1]	Agharbi [49]	HMV (50)	Notre série
Les taux de globules blancs				
La moyenne	182.737 élément /mm ³	Non signalé	Non signalé	239.000 élément/mm ³
Les extrêmes	41.500à206.000 élément /mm ³	20.800à 900.800 élément/mm ³	Non signalé	27.000à 431.000 élément/mm ³
100.000- 400.000	—	13%	40%	75%
>400.000	—	52%	9%	15%
Les taux d'hémoglobine				
La moyenne	9g /dl	Non signalé	Non signalé	8 ,5g/dl
Les extrêmes	Non signalé	5 ,7g/dl et 13,5g /dl	Non signalé	5,2à 12, 9g /dl
>12	Non signalé	40%	37%	13%
Les taux des plaquettes				
La moyenne	295.798 élément /mm ³	Non signalé	Non signalé	298.000 élément/mm ³
Les extrêmes	132.000à 1042.000 élément/mm ³	154.000à 800.000 élément/mm ³	Non signalé	116.000à 1071.000 élément /mm ³
>400.000m ³	Non signalé	52%	13%	70%

2-Le myélogramme :

L'histoire naturelle de la LMC comprend trois phases évolutives : une première phase dite « chronique», paucisymptomatique, suivie d'une deuxième phase, caractérisée par une accélération de la maladie, et enfin une troisième phase, appelée « transformation aiguë ». La phase chronique peut parfois passer inaperçue et les malades se présentent directement en phase accélérée ou blastique [5].

Le myélogramme est indispensable pour réaliser le caryotype et pour préciser le stade évolutif de la maladie. [88]

Dans notre série, il a été réalisé chez 96,3 % des malades, dans la série Aghrbie chez 91,2% des malades alors que dans la série de l'hôpital militaire de rabat il n'a été réalisé que chez 60 % des malades, Le myélogramme a montré dans tous les cas une moelle riche de cellules granuleuses faites essentiellement de myélocytes et de métamyélocytes sans hiatus de maturation.

Nous avons réalisé une comparaison entre notre série et la série de Nacer Redhouane concernant les différentes phases évolutives de la maladie. (figure 40)

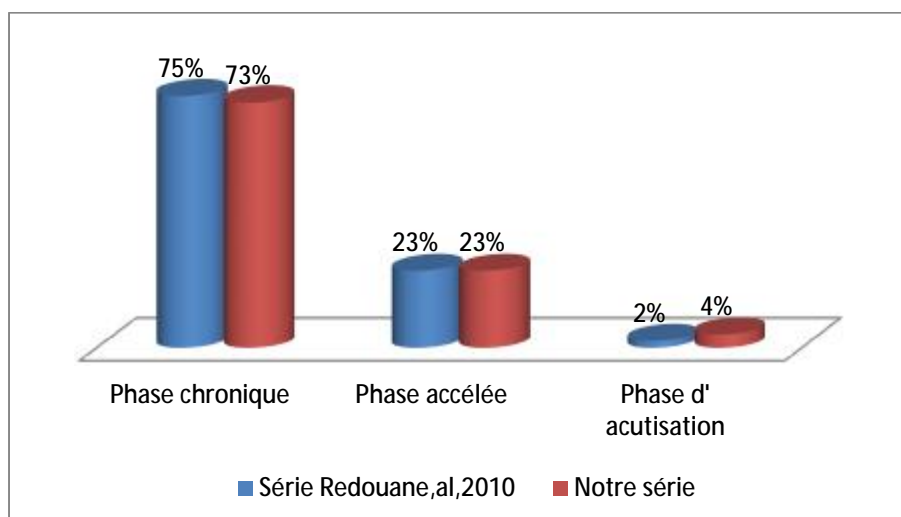


Figure 40 :Pourcentages des différents stades de LMC dans notre série et dans la série de Nacer Redhouane

Nos résultats concordent avec la littérature.

3-Caryotype :

Le caryotype permet de mettre en évidence le chromosome Ph chez 95 % des cas [1]. Il confirme le diagnostic en retrouvant la t(9;22) (q34;q11) classique ou ses variantes retrouvées dans 4-8 % des cas au diagnostic et met aussi en évidence les anomalies additionnelles (ACA) dans les cellules Ph1 positives (5-10% au diagnostic) [97].

Rarement le caryotype est normal (< 10% des cas) : LMC Ph1 négatif, mais l'anomalie peut être retrouvée par d'autres techniques (FISH ou biologie moléculaire). [1]

Dans notre série l'analyse du caryotype retrouve un chromosome Philadelphie chez 73,6% des patients étudiés, permettant ainsi de retenir le diagnostic. 92,7% de ces patients ont une forme classique, tandis que, 7,7% ont une forme compliquée. Ceci rejoint la littérature.

D'autre part, des ACA ont été notées chez un seul patient dans notre série (2,56%) (trisomie 21), contre 14,5% de la série F. Harieche et al. [104].

Nous avons réalisé une comparaison des caryotypes avec ceux de la littérature (tableau18).

Tableau18 : Comparatif des caryotypes dans quelque séries

	F. Harieche et al. [104]	S. Taoussi et al. [97]	Notre étude
Ph positif	96%	94%	73,6%
Ph+ (forme classique)	98%	97%	92,3%
Ph+ (forme complexe)	2%	3%	7,7%
Ph négatif	4%	3%	26 ,4%
Echec	0%	3%	0%

La fréquence du caryotype Ph- sont plus élevée chez nos patients par rapport aux données de la littérature[104,97], reste à expliquer la cause de cet écart.

4-FISH

La FISH est un examen ciblé qui ne visualise pas tout le génome [4] ; elle met en évidence le signal de fusion bcr-abl sur les noyaux (FISH interphasique) et sur les mitoses (FISH métaphasique) en particulier en cas de Ph1 négatif (Ph1 masqué).

Elle révèle les anomalies cryptiques (insertions, micro délétions du bras long du dérivé 9) [97].

Dans notre série, 12 patients, dont le caryotype a été négatif ont bénéficié d'une FISH. Le gène de fusion bcr-abl était identifié chez tous ces patients.

Dans une étude menée au laboratoire d'hématologie EHS ELCC Blida (Algérie), sur 33 patients porteurs de LMC, une FISH a été réalisée sur l'ensemble des patients Ph positif et Ph négatif :

Elle a confirmé la présence du signal bcr-abl chez tous les patients porteurs du Ph1+; et elle a été contributive en révélant un signal bcr-abl chez les 12 patients Ph1 négatif en raison d'une insertion [Ph1 négatif, bcr-abl positif + ins (9 ; 22)] .La FISH a également précisé le mécanisme d'échange de matériel chromosomique entre les trois chromosomes impliqués dans le variant t (1 ; 9 ; 22) (p32 ; q34;q11.2).

Le consensus actuel (ELN) [8] indique que le diagnostic de LMC doit être assuré par un caryotype conventionnel dans la majorité des cas.

La FISH métaphasique étant plus sensible qu'un caryotype conventionnel permettant quelquefois même de révéler des anomalies cryptiques, en particuliers en cas de Ph1 négatif, néanmoins, le caryotypage reste toujours indispensable en particulier pour rechercher les anomalies chromosomiques clonales (additionnelles) ACA dans les cellules Ph1+ et les cellules Ph1-, leur présence a une implication pronostique que ce soit au diagnostic ou à l'évaluation du traitement. [94]

5- RT-PCR

L'OMS définit la LMC comme un syndrome myéloprolifératif Ph1+/- mais toujours BCR-ABL+. [105]

La biologie moléculaire confirme la présence du transcrite de fusion bcr-abl en RT-PCR ;

Dans notre série, elle n'a été réalisé que chez 2 malades seulement soit 3.7% objectivant ainsi la présence du transcrite bcr-abl chez ces 2 patients.

D- Evaluation pronostic :

Le score de Sokal est nécessaire, voire indispensable, d'autant plus que son application est aisée puisqu'elle tient compte des paramètres très simples et rapidement disponibles (âge, sexe, taille du débord splénique en cm, % de blastes sanguins, taux de plaquettes, taux d'hématocrite). En effet, ce score peut être établi par tous les hématologistes cliniciens et représente actuellement l'un des facteurs pronostics majeurs. [1]

Dans notre série la classification pronostique selon Sokal retrouve un groupe intermédiaire chez 49%, un haut risque chez 34,% et un faible risque chez 17%.

Nous avons comparé nos résultats avec ceux d'autres séries (tableau 19)

Tableau 19: La comparaison des patients selon score de Sokal des différentes séries rapportées

	Faible risque%	Intermédiaire%	Haut risque%
IRIS [105]	52	29	18
N Abdenbi et al. [106] (Algérie)	17,4	51,4	31
Baccar et al. [107] (Tunisie)	20,8	30	49 ,1
Notre étude	17	49	34

La différence constatée entre ces séries peut être expliquée par le retard du diagnostic dans les pays Maghrébins.

Il faut signaler que Le score élevé au diagnostic reste un signe d'alarme en ce qui concerne les réponses thérapeutiques.

RESUME

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est un syndrome myéloprolifératif rare représentant 2 à 5% des leucémies de l'enfant et 7 à 15 % des leucémies de l'adulte.

Les objectifs de ce travail de thèse est de préciser les avancées en matière diagnostique de la LMC et leur implication pronostique et évolutive.

Notre travail est une étude rétrospective effectuée au sein du laboratoire de génétique, du service de médecine interne du CHU HASSAN II de fès, et du service d'hématologie clinique de l'hôpital Ghassani de Fès. Le travail est étalé sur une période de 3 ans ; à propos de 53 patients ayant une LMC.

L'âge moyen des patients est de 47.5 ans .Cliniquement 88 ,6% des patients présentaient une splénomégalie cliniquement palpable et 22.6% avaient un syndrome hémorragique ; par contre 3,77 % avaient des adénopathies.

Biologiquement la NFS était anormale chez tous les patients avec hyperleucocytose à PNN . Le myélogramme réalisé chez 96,3% de nos patient a permet de confirmer le diagnostic de LMC et de déterminer sa phase d'évolution.

Le caryotype médullaire était réalisé chez tous les patients, dont le résultat était le suivant : 66% ont un Chromosome Philadelphie +, 26,5 ont un chromosome philadelphie -, tandis que 7.5 % ont une translocation complexe.

La FISH était réalisée chez les patients ayant une philadelphie -, objectivant la présence du signal BCR-ABL , et confirmant ainsi le diagnostic de LMC.

La RT-PCR n'a été réalisé que chez 2 malades seulement soit 3.7% avec présence du transcrit bcr-abl chez ces 2 patients avec IS 21% et 84%.

ABSTRACT

Chronic myeloid leukemia is a rare myeloproliferative syndrome accounting for 2% to 5% of leukemia of the child and 7 to 15 % of leukemia of the adult .The objectives of this work of these is to precise the diagnostic and their prognostic and evolutive implication.

Our work is a retrospective study carried out in genetis laboratory , service of internal medicine of CHU HASSAN II fes, and in service of clinical hematology of hospital "El ghesani" fes, over one period of 3 years; in connection with 53 patients having a CML: the middle age of the patients is 47,5 years. Clinically, 88,6% presented splenomegaly, 22,6% had a hemorrhagic syndrome and 3,77% had lymphadenopathy.

Biologiquement the NFS was anormal among all patients with hyperleucocytose of polynuclear neutrophile, the myelogramme carried out at 96,3 % of patients , allowed proves the diagnosis and to deremine the acute phase . a modularly karyotype was carried out in all the patients whose the result was : 66% have chromosome Philadelphia + ; 26,5% have chromosome Philadelphia - ; while 7, 5% have a complex tanslocation.

the FISH was carried out in patients having a chromosome Philadelphia -, objectifying the presence of signal BCR-ABL, so to confirm the diagnostis of LMC, among 2 patients a RT-PCR chart is carried out with presence of the transcript bcr-abl.

مطنى

الابيض النوي المزمن هو متلازمة كثر نقي, يمثل من 2% الى 5% من الابيض النوي المزمن. تصيب الاطفال ومن 7% الى 15% من التي تصيب البالغين. هدف هذا البحث هو تحديد التطور تلك التشخيصية والعلاجية للابيض النوي المزمن وبعكاساته على تطور وخطورة المرض.

عملنا هو استعراض تاريخية أجريتهمخ تبنى لهور اثوبصد لحة الطلابلطوني الك بالمستشفى الجمعي الحسن بفس و ليايابد لحة لمرضال د لم لسريريهي سد تشد في لغساني بفس طيلة مدة 3 سنوات. حول مضي يعاون من الإبيض النوي المزمن. متوسط عمر المرضى هو 47,5 سنة; سريريا 88,6% منهم مطلقا محسوسة; 22,6% اعرضت توفيف و 3,77% او امن مطلقا لمغ نال تد ليل النوي كان غير عادي عند جميع المرضى, أظهر و هو دتكاثر غير عادي لكريثال بيا خصة الم فطلقا الع دك; صيغة خلايا النقي أنجزت عدد 96,3% من المرضى مكنت من تشخيص المرض تودديد مرحلة تطور ه.

أظهر النمط النوي الذي أجري عند جميع المرضى ميل إلى: 66% منهم المصبغيلا ديفيا ايجابي; 26,5% المصبغيلا ديفيا لبي و 7,5% النذب المعقد.

مسائل تهجين في الموقع الذي أجري لدى المرضى لحم لين صباغي فيلا ديفيلد لبي ظهر وهو د الأشارة "ب.س.غ-ا.ب.ل." التي مكنت من تشخيص المرض.

سلسلة الترخيل لمرة في وقت حقيقي التي أجريتها لى 2 من المرضى فقط, تبنت وهو د النسخة "ب.س.غ-ا.ب.ل." لهذا ان المرضيان.

BIBLIOGRAPHIE

- 1-Hamladji Rose Marie, Belhani Meriem, Ardjoun Fatma Zohra, Abad Mohand Tayeb, Touhami Hadj, Ait Ali Hocine, Zouaoui Zahia, Bekadja Mohamed Amine, Ahmed Nacer Redhouane, Boudjerra Nadia, Sidi Mansour Nourredine, Ainas Lahlou, Mesli Naima, Griffi Fatiha, Hamdi Salima, Saidi Mahdia, Benakli Malek, Belakehal Salah Eddine, Saidi Djamel. Leucémie myéloïde chronique, Aspects épidémiologique, diagnostique et thérapeutique en Algérie, Revue Algérienne d'Hématologie N° 3. Septembre 2010, p. 1-42.
- 2-Recommandations de l'European Leukemia Net pour la gestion de la leucémie myéloïde chronique, version de 2013. (Baccarani, M et al: Blood, 2013; Vol. 122: 872-84).
- 3- Chronic Myelogenous Leukemia and Related Disorders :Overview Williams Haematology 2007>PartIX.Malignant Diseases>Chapter88
- 4- DJOUADI.K Approche épidémiologique de la leucémie myéloïde chronique en Algérie Revue Algérienne d'Hématologie 2.009, n° 00 : 16-19
- 5-T. Leguay, F.-X Mahon. Leucémie myéloïde chronique. EMCHématologie2 (2005) 187 205.
- 6 -Thierry Lavabre-Bertrand, Eric Jourdan, Jean Paul Bureau, Pierre Blanc. Foie et syndromes myéloprolifératifs. Gastroenterol Clin Biol 2002 ; 26 : 136-145.
- 7- Matason MJ, Richie EK, Consedine N. Incidence rates of the major leukemia subtypes among US Hispanics, Blacks and non-Hispanic Whites. Leukemia lymphoma 2006 ; 47 : 2365-2370.
- 8- Bennett JH. Case of hypertrophy of the spleen and liver in which death took place from suppuration of the blood. Edinb Med Surg 1845; J64:413-23. Virchow R. Weisses blut. Frorieps Notizen 1845; 36:151-6.

- 9- Neumann E. A case of leukemia with bone marrow disease. Archives of Medicine 1870.
- 10- Nowell P, Hungerford D. A minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia. Science 1960; 32: 1497.
- 11- Rowley JD. A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukaemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining. Nature 1973; 243: 290-3.
- 12- Fialkow PJ, Jacobson RJ, Papayannopoulou T. Chronic myelocytic leukemia: Clonal origin in a stem cell common to the granulocyte, erythrocyte, platelet and monocyte / macrophage. Am J Med 1977; 63 (1):125-30
- 13- Groffen J, Stephenson JR, Heisterkamp N, de Klein A, Bartram CR, Grosveld G. Philadelphia chromosomal breakpoints are clustered within a limited region, bcr, on chromosome 22. Cell 1984; 36: 93-9.
- 14- European medicines agency. Science medicines health. Résumé EPAR à l'intention du public. Bosulif. EMA/42251/2013. EMEA/H/C/002373.
- 15- David Paitraud. ICLUSIG comprimé pelliculé (ponatinib) : recommandations concernant les risques d'événements vasculaires occlusifs <http://www.vidal.fr/actualites/13484> . 06 Décembre 2013
- 16- R. Nasr, A. Bazarbachi Leucémie myéloïde chronique : « archétyp » de l'impact des traitements cibles Pathologie Biologie 60 (2012) 239-245
- 17- R. Mertelsemenn, M. Engelhardt, D.P. Berger. Précis d'hématologie et d'oncologie. Springer-Verlag France, Paris 2011.
- 18- Deininger MW, Bose S, Gora-Tybor J, Yan XH, Goldman JM, Melo JV. Selective induction of leukemia-associated fusion genes by high-dose ionizing radiation. Cancer Res 1998; 58: 421-5.

- 19- Leporrier M. Hematologie. Dion initiatives sante, Velizy-Villacoublay 1999; 414 pages.
- 20-PJ. Martin, V. Najfeld , PJ .Fialkow . B lymphoid cell involvement in chronic myelogenous leukemia: implications for the pathogenesis of the disease. *Cancer genet cytogene* 1982; 6:359-68.
- 21-A.Mackinney, SS. Clarck .Simultaneous demonstration of the Philadelphia chromosome in T, B and myeloid cells. *Am J Hematol* 1993; 44; 48-52.
- 22-CR.Bartram, A.Raghavachar, B.Anger et ALL .Lymphocytes lack rearrangement of the BCR gene in Philadelphia chromosome positive chronic myeloid leukemia.*Blood* 1987; 69:69:1682-5.
- 23-Van Etten, R.A., Cycling, stressed-out and nervous: cellular functions of c-Abl. *Trends Cell Biol* 9 (5), 179-186 (1999).
- 24- Wang, J.Y., Regulation of cell death by the Abl tyrosine kinase. *Oncogene* 19 (49), 5643-5650 (2000).
- 25-Sawyers, C.L., McLaughlin, J., Goga, A., Havlik, M., & Witte, O., The nuclear tyrosine kinase c-Abl negatively regulates cell growth. *Cell* 77 (1), 121-131 (1994).
- 26-Yuan, Z.M. et al., p73 is regulated by tyrosine kinase c-Abl in the apoptotic response to DNA damage. *Nature* 399 (6738), 814-817 (1999).
- 27-Wetzler, M. *et al.*, Subcellular localization of Bcr, Abl, and Bcr-Abl proteins in normal and leukemic cells and correlation of expression with myeloid differentiation. *J Clin Invest* 92 (4), 1925-1939 (1993).
- 28-Groffen, J. et al., Philadelphia chromosomal breakpoints are clustered within a limited region, bcr, on chromosome 22. *Cell* 36 (1), 93-99 (1984).
- 29-Faderl, S. et al., The biology of chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 341 (3), 164- 172 (1999).

- 30-Deininger, M.W., Goldman, J.M., & Melo, J.V., The molecular biology of chronic myeloid leukemia. *Blood* 96 (10), 3343-3356 (2000).
- 31-Ren R. Mechanisms of BCR-ABL in the pathogenesis of chronic myelogenous leukemia. *Nat Rev Cancer* 2005; 5: 172-83.
- 32-G. Dine, Y. Rehn, S.Brahimi, N. Ali Ammar, B. Gaillard, Y. Bocq, G.Fumagalli. Maladie résiduelle et leucémie myéloïde chronique. *Immunoanalyse et biologie spécialisée* (2013).
- 33-Jamieson CH, Ailles LE, Dylla SJ, Muijtjens M, Jones C, Zehnder JL, et al. Granulocyte-macrophage progenitors as candidate leukemic stem cells in blast-crisis CML. *N Engl J Med* 2004; 351: 657-67.
- 34-M. Maigre, JL. Harrousseau. Leucémie myéloïde chronique : acquisitions récentes. *Le concours médical*;1990 :112-19.
- 35- Gambacorti-Passerini C, Kantarjian HM, Baccarani M. Activity and tolerance of bosutinib in patients with AP and BP CLM and Ph+ ALL. *J Clin Oncol*. 2008 ;
- 36- Sebahoun G. *Hématologie clinique et biologique*. Arnette groupe liaisons SA, Rueil-Malmaison 2005 ; 578 pages.
- 37- Treuil P. La leucémie myéloïde chronique et son traitement par l'imatinib. *Act Pharm* 2008 ; 474 : 25-30.
- 38- Sebahoun G. *Hématologie clinique et biologique*. Arnette groupe liaisons SA, Rueil-Malmaison 2005 ; 578 pages.
- 39-Treuil P. La leucémie myéloïde chronique et son traitement par l'imatinib. *Act Pharm* 2008 ; 474 : 25-30.
- 40-Thiebaud, M. Dubreuil. *Étude clinique de la leucémie myéloïde chronique*. EMC 13011 B-7, 1986.

- 41- Hansen JA, Gooley TA, Martin PJ, Appelbaum F, Chauncey TR, Clift RA, et al. Bone marrow transplants from unrelated donors for patients with chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 1998;338:962-8
- 42- Huntly BJ, Bench A, Green AR. Double jeopardy from a single translocation: deletions of the derivative chromosome 9 in chronic myeloid leukemia. *Blood* 2003; 102: 1160-8.
- 43- Chrystele Bilhou-Nabera, Carole Barin, Alain Bernheim, Nicole Dastugue, Virginie Eclache, Claude Léonard, Sophie Raynaud, Christine Terre, Jacqueline Van Den Akker. Recommandations pour la prise en charge cytogénétique de la leucémie myéloïde chronique (LMC) établies par le Groupe Français de Cytogénétique Hématologique (GFCH). *Pathologie Biologie* 52 (2004) 238-240.
- 44- Dominique Bories, Agnès Devergie, Martine Gardembas-Pain, Mathieu Kuentz, Laurence Legros, François-Xavier Mahon, Franck Nicolini, Claude Preudhomme, Sophie Raynaud, Françoise Rigal-Huguet, Philippe Rousselot, Ali Turhan, Jacqueline Van Den Akker, François Guilhot. Stratégies thérapeutiques et recommandations pour la prise en charge des patients atteints de leucémie myéloïde chronique. *Hématologie*. Volume 9, Numéro 6, 497-512, Novembre-Décembre 2003, Revue.
- 45- Pignon JM. Translocation bcr-abl : méthodes diagnostiques et intérêt clinique. *Ann Biol Clin* 1998 ; 56 : 57-63.
- 46- Tome 2, Hématologie clinique, La leucémie myéloïde chronique R. LACROIX, F. SABATIER, F. DIGNAT-GEORGE et J. SAMPOL Laboratoire d'immunologie et d'hématologie, UFR de pharmacie, Aix-Marseille Université.
- 47- Cours sur les syndromes myéloprolifératifs de l'université de Rennes 1 en novembre 2006

- 48- Guilhot F. Diagnostic and Pre-treatment Work-up. Recommendations from an expert panel on behalf of the European Leukemianet.
- 49- AGHARBI Fatima-Zahra. La leucémie myéloïde chronique : avancées diagnostiques et thérapeutiques. Faculté de médecine de Fès 2008 86-08
- 50- M.H Guerraoui . Leucémie myéloïde chronique : aspects évolutifs et thérapeutiques. Thèse en médecine. Faculté de MED V de Rabat 1997 ; 225.
- 51- M.Dollinger, EH. Rosenbaum ,M . tempero et al .everyone's guide to cancer therapy :how cancer is diagnosed ; treated and managed day to day. Kansas City :Anderwers MC Meel Publishing 2005 vol 4 :39-47.
- 52- D. Bories, A .Devergie, L. Lergros, FX. Mahon et al. Stratégies thérapeutiques et recommandations pour la prise en charge des atteints de LMC. Hématologie 2003 ; 9: 497-512.
- 53- Sokal JE, Cox EB, Baccarani M, Tura S, Gomez GA, Robertson JE, et al. Prognostic discrimination in "good-risk" chronic granulocytic leukemia. Blood 1984;63: 789-99.
- 54-. Sokal JE, Baccarani M, Tura S, Fiacchini M, Cervantes F, Rozman C, et al. Prognostic discrimination among younger patients with chronic granulocytic leukemia: relevance to bone marrow transplantation. Blood 1985; 66:1352-7.
- 55- Hasford J, Pfirmann M, Hehlmann R, et al. A new prognostic score for survival of patients with chronic myeloid leukemia treated with interferon- α . J Natl Cancer Inst 1998; 90: 850-8.
- 56- Bories D, Devergie A, Grandembas-Pain M. Strategies therapeutiques et recommandations pour la prise en charge des patients atteints de leucemie myeloide chronique. Hematologie 2003 ; 9 : 497-512.

- 57- Editorial : The pros and cons of new prognostic eutos score for chronic myeloid leukemia patients. *LeukemiaResearch* 37 (2013) 1436-1437
- 58- Marine Demarquet, Hélène Labussière-Wallet, Emmanuelle Nicolas Virelizier, Franck-Emmanuel Nicolini. Une innovation thérapeutique : les inhibiteurs de tyrosine kinase de deuxième génération (ITK 2) dans le traitement de la LMC. *Bulletin du cancer* : volume 98. N° 8. Août 2011.
- 59- Hehlmann R, Heimpel H, Hasford J, Kolb HJ, Pralle H, Hossfeld DK, et al. Randomized comparison of interferon-alpha with busulfan and hydroxyurea in chronic myelogenous leukemia. The German CML Study Group. *Blood* 1994; 84:4064-77.
- 60- Ohnishi K, Ohno R, Tomonaga M, Kamada N, Onozawa K, Kuramoto A, et al. A randomized trial comparing interferon-alpha with busulfan for newly diagnosed chronic myelogenous leukemia in chronic phase. *Blood* 1995; 86:906-16.
- 61- Ph. DOROSZ. Gide pratique des médicaments. 22ème édition. 2002
- 62- P. Rousselot, H. Rochant, A.G. Turhan, A. Bernheim, D. Bories, C. Recher, J. Brière, A. Najman, L. Sutton, A. Buzyn, A. Devergie. Mise au point sur la leucémie myéloïde chronique. *Médecine thérapeutique*. Volume 6, Numéro 2, 129-40, Février 2000.
- 63- M. Benakli, RM. Hamladji, R. Ahmed-nacer. L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques à conditionnement atténué. *Société algérienne d'hématologie et de transfusion sanguine*. Jan 26, 2013.
- 64- Guilhot F. Diagnostic et traitement des hémopathies malignes comportant un réarrangement bcr-abl. *Hématologie* 1995 ; 1 : 133-144.
- 65- Labussière H, Hayette S, Tigaud I, Michallet M, Nicolini FE. Le traitement de la leucémie myéloïde chronique en 2007. *Bull Cancer* 2007 ; 94 : 863-869.

- 66- Guilhot F, Roy L, Guilhot J, Millot F. Interferon therapy in chronic myelogenous leukemia. *Hematol Oncol Clin N Am* 2004; 18: 584-603.
- 67- Lacotte-Thierry L, Guilhot F. Interféron et hématologie. *Rev Med Interne* 2002; 23 : 481-488.
- 68-M.Tulliez. Un nouveau traitement pour la leucémie myéloïde chronique : l'imatinib (glivec*). *Revue française des laboratoires* ; décembre 2003 ; n°358.
- 69- Bardin C, Tafzi N, Decleves X, Huet E, Chast F. Pharmacocinetique des inhibiteurs de tyrosine kinase dans la leucemie myeloide chronique. *Rev Francoph Lab* 2007 ; 395 : 31-35.
- 70- Peng B, Hayes M, Resta D, Racine-Poon A, Drucker BJ, Talpaz M, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of imatinib in a phase I trial with chronic myeloid leukemia patients. *J Clin Oncol* 2004 ; 22 : 935-942.
- 71- Labussiere H, Hayette S, Tigaud I, Michallet M, Nicolini FE. Le traitement de la leucémie myeloide chronique en 2007. *Bull Cancer* 2007 ; 94 : 863-869.
- 72-O. Dwyer, BJ. Druker. Chronic myeloid leukemia new therapeutic principles. *J Intern Med* 2001; 250(1):3-9.
- 73-Noravits Pharmaceuticals Corporation . Monographie du mésylate d'imatinib .East hanover, New jersey 2001.
- 74-Noravits Pharma Canada. monographie du mesylate d'imatinib . dorval, québec .september 2001.
- 75- Buxeraud J, Skrzypek A. Sprycel® - dasatinib. *Act pharm* 2008; 471.
- 76- Innovations thérapeutiques hors ATU. Dossier dispensation. *Act pharm hospitalières* 2007 ; 12.
- 77- Shah NP, Tran C, Lee FY, Chen P, Norris D, Sawyers CL. Overriding imatinib resistance with a novel ABL kinase inhibitor. *Science* 2004; 305:399-401.

- 78- O'Hare T., Walters D.K., Stoffregen E.P., Jia T., Manley P.W., Mestan J., Cowan-Jacob S.W., Lee F.Y., Heinriche M.C., Deininger M.W., Druker B.J., in vitro activity of Bcr-Abl inhibitors AMN 107 and BMS-354825 against clinically relevant imatinib-resistant Abl kinase domain mutants. *Cancer Res.* 65 (2005) 4500-4505.
- 79- Weisberg E, Manley PW, Breitenstein W, Bruggen J, CowanJacob SW, Ray A, et al. Characterization of AMN107, a selective inhibitor of native and mutant Bcr-Abl. *Cancer Cell* 2005;7:129-41.
- 80- Rosti G. A phase II study of nilotinib administered to imatinib resistant and intolerant patients with chronic myelogenous leukemia in chronic phase, ASCO Annual meeting (2007) abstract 7007.
- 81- Talpaz M, Shah N.P., Kantarjian H, et al. Dasatinib in imatinib-resistant Philadelphia chromosome-positive leukemia, *N. Engl.J.Med.* 354 (2006). 2531-25.
- 82- Sebahoun G. Hématologie clinique et biologique. Arnette groupe liaisons SA, Rueil-Malmaison 2005 ; 578 pages.
- 83- Christophe Badin, Naïma Tafzi, Xavier Declèves, Estelle Huet, François Chast. Pharmacocinétique des inhibiteurs de tyrosine kinase dans la leucémie myéloïde chronique. *Revue francophone des laboratoires.* Septembre-octobre 2007. N°395.
- 84- European medicines agency. Science medicines health. Résumé EPAR à l'intention du public. Bosulif. EMA/42251/2013. EMEA/H/C/002373.
- 85- A. Benabdeljelil. un visage de LMC au Maroc. Thèse en médecine à la faculté de rabat 1980 n°38.

- 86- Lettre du laboratoire Ariad aux professionnels de santé. ICLUSIG (ponatinib) : nouvelles recommandations concernant les risques d'événements vasculaires occlusifs. Décembre 2013.
- 87- S. Giraudier. Imatinib en première ligne dans la LMC en 2012 : un traitement « dépassé ». Oncologie. Springer-Verlag France 2012. DOI 10.1007/s10269-012-2221-2.
- 88- Michel Tulliez. Traitement de la leucémie myéloïde chronique en 2007. nouvelles approches diagnostic et thérapeutique en hématologie. Revue francophone des laboratoires. septembre-octobre 2007. N° 395.
- 89-. Nicolini F.E., Bachy E., Corm S., Lé O.H., Hayette S., Bories D., Tullier M., Sorel N., Guilhot F., Legros L., Mahon F.X., Maloisel F., Kiladjian J.J., Roche-Lestienne C., Preudhomme C., Michallet M., Clinical outcome of 27 imatinib mesylate resistant CML patients harbouring a T315I BCR-ABL mutation, blood (ASH Annual meeting abstracts).
- 90- Michel Tulliez. Traitement de la leucémie myéloïde chronique (LMC) en 2011. REVUE FRANCO-PHONE DES LABORATOIRES - JUIN 2011 -N°433.
- 91- Giles F.J., Cortes J., Jones D., Bergstrom D., Kantarjan H., Freedman S.J., MK-0457, a novel kinase inhibitor, is active in patients with CML or acute lymphocytic leukemia with the T315I BCR-ABL mutation, Blood 109 (2) (2007) 500-502.
- 92- Hélène Labussière, Sandrine Hayette, Isabelle Tigaud, Mauricette Michallet, Franck-Emmanuel Nicolini. Le traitement de la leucémie myéloïde chronique en 2007. Bull Cancer 2007 ; 94 (10) : 863-9.
- 93- Baccarani M, Cortes J, Pane F, Niederwieser D, Saglio G, Apperley J, et al. Chronic myeloid leukemia: an update of concepts and management recommendations of European LeukemiaNet. J Clin Oncol 2009;27(35):6041-51.

- 94- Catherine Roche-Lestienne, Claude Preudhomme. Mécanismes de résistance à l'imatinib mesylate. *Hématologie*. Volume 12, 11-18, Numéro spécial 5 : Hémopathie malignes à Ph1. Revue. DOI : 10. 1684/hma. 2006. 0064.
- 95- Baccarani M, Saglio G, Goldman J, Hochaus A, Simonsson B, Appelbaum F, et al. Evolving concepts in the management of chronic myeloid leukemia: recommendations from an expert panel on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood* 2006; 108: 1809-20
- 96-Maynadié M., Le Guyader-Peyrou S., Delafosse P., Mounier M., Collignon A., Troussard X., Monnereau A. Leucémie Myéloïde Chronique. Revue : Estimation nationale de l'incidence des cancers en France entre 1980 et 2012 (Étude à partir des registres des cancers du réseau Francim - Partie 2 - Hémopathies malignes), 2013, vol. 2, p.68-71.
- 97-Taoussi S., S. Chebrek, S. Oukid, M. T. Abad. Application du caryotype et de l'hybridation in situ fluorescente (FISH) l'hybridation in situ fluorescente (FISH) dans la leucémie myéloïde chronique. Service hématologie, EHS ELCC Blida Service d'hématologie, EHS ELCC Blida, document : VII congrès national d'hématologie, Mai 2010.
- 98- La Faculté de Médecine de Angers, France <http://hematocell.univangers.fr/>
- 99- Marina Lafage-Pochitaloff. MCU-PH en Hématologie. Explorations complémentaires en Hématologie Cellulaire. Laboratoire de Cytogénétique Onco-Hématologique. Département de Génétique. Aix-Marseille Université. CoursL3 Médecine. 4 Octobre 2012.
- 100- CHROMOSOME PHILADELPHIE (Ph+), ©2012 Biomnis-PRECIS DE BIOPATHOLOGIE ANALYSES MEDICALES SPECIALISEES.

- 101- www.ens-lyon.fr/RELIE/PCR/ressources/aspects.../rttcr/rttcr02.htm l'École Normale Supérieure de Lyon
- 102- Ifremer-Décembre2009-v1-fiche réalisée pour Bibliomer
www.ifremer.fr/bibliomer/documents/.../fiche_ensavoirplus_lien_PCR_vf.p...
- 103- La biologie moléculaire PCR et RT-PCR, laboratoire CONSEIL GENERAL DE MAINE-ET-LOIRE
lvd.cg49.fr/templates/lvd49/local/pages/.../biologie%20moleculaire.pdf
- 104- Evaluation de la réponse cytogénétique après traitement à l`Imatinib dans la LMC en phase chronique. F.Harieche, N.Abdennebi, F.Boukhemia, F.Zerhouni, R.M.Hamladji. Service d`hématologie -greffe de moelle osseuse, Centre Pierre et Marie Curie. Alger. n° 03 - Sept 2010
- 105- Druker BJ et al. Five year follow of patients receiving imatinib for CML : IRIS Study- N.Engl Med 2006 ;355 :2408-2418
- 106- TRAITEMENT PAR IMATINIB DE LA LEUCEMIE MYELOÏDE CHRONIQUE EN PREMIERE PHASE CHRONIQUE « ETUDE SUR 103 PATIENTS » N. Abdennebi ; F. Boukhemia ; F. Harieche ; F. Zerhouni ; R-M Hamladji. Service Hématologie – Greffe de Moelle Osseuse. Centre Pierre et Marie Curie Alger Revue Algérienne d'Hématologie n° 03 - Sept 2010_
- 107- Dr M. Nabyl Baccar et al. Prise en Charge de la Leucémie Myéloïde Chronique par les Inhibiteurs de la Tyrosine-Kinase : Expérience tunisienne & Revue de... Thèse de Doctorat de Médecine soutenue publiquement à la Faculté de Médecine de Tunis le 11 mars 2013.
- 108- Wetzler, M. *et al.*, Cell cycle-related shifts in subcellular localization of BCR: association with mitotic chromosomes and with heterochromatin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92 (8), 3488-3492 (1995).

109-GUIDE DE BONNES PRATIQUES DES PONCTIONS MEDULLAIRES Société Française
d'Hématologie (SFH) Groupe Français d'Hématologie Cellulaire (CFHC) Collège
d'Hématologie des Hôpitaux (CHH) Syndicat National des Biologistes Hospitaliers
(SNBH) (- Juin 2003 -)