

# Table des matières

Remerciements .....	i
Table de matières .....	iv
Abréviations .....	vii
Liste des illustrations .....	viii
Présentation de la structure d'accueil .....	ix
Introduction .....	1
<b>Chapitre 1: Présentation de la leucémie myéloïde chronique</b>	
1. Définition .....	3
2. Epidémiologie .....	3
3. Etiologie .....	3
4. Physiopathologie .....	4
4.1. La monoclonalité de la prolifération hématopoïétique .....	4
4.2. L'identité de la cellule à l'origine de la <i>LMC</i> .....	4
4.3. Le réarrangement chromosomique de la <i>LMC</i> .....	5
5. Biologie moléculaire .....	5
5.1. La protéine <i>ABL</i> .....	5
5.2. La protéine <i>BCR-ABL</i> .....	6

6. Evolution de la <i>LMC</i> .....	8
7. Symptomatologie clinique .....	8
7.1. Les circonstances de la découverte .....	8
7.2. Le diagnostic clinique .....	8
8. Diagnostic biologique .....	9
8.1. L'hémogramme .....	9
8.2. Le myélogramme .....	10
9. Diagnostic cytogénétique .....	10
10. Autres examens biologiques .....	11
11. Traitement .....	11
11.1. La chimiothérapie .....	12
11.2. L'allogreffe avec donneurs apparentés .....	12
11.3. L'interféran alpha .....	13
11.4. La thérapie ciblée .....	13

## Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

1. Matériel .....	14
1.1. Les patients .....	14

2. Méthodes .....	15
2.1. La numération de la formule sanguine ( <i>NFS</i> ) automatisée .....	15
2.2. Le frottis sanguin .....	17
2.3. La coloration de May-Grünwald Giemsa .....	18
2.4. Le myélogramme .....	19

### Chapitre 3 : Résultats et Discussion

Présentation des résultats .....	20
1. Caractéristiques épidémiologiques .....	20
1.1. L'âge .....	20
1.2. Le sexe .....	21
1.3. L'association rare de la <i>LMC</i> à des infections .....	21
2. Caractéristiques cliniques .....	22
3. Phases de la maladie .....	22
4. Etude génétique .....	23
5. Traitement .....	24
Discussion des résultats .....	25
Conclusion et perspectives .....	27
Bibliographie .....	28

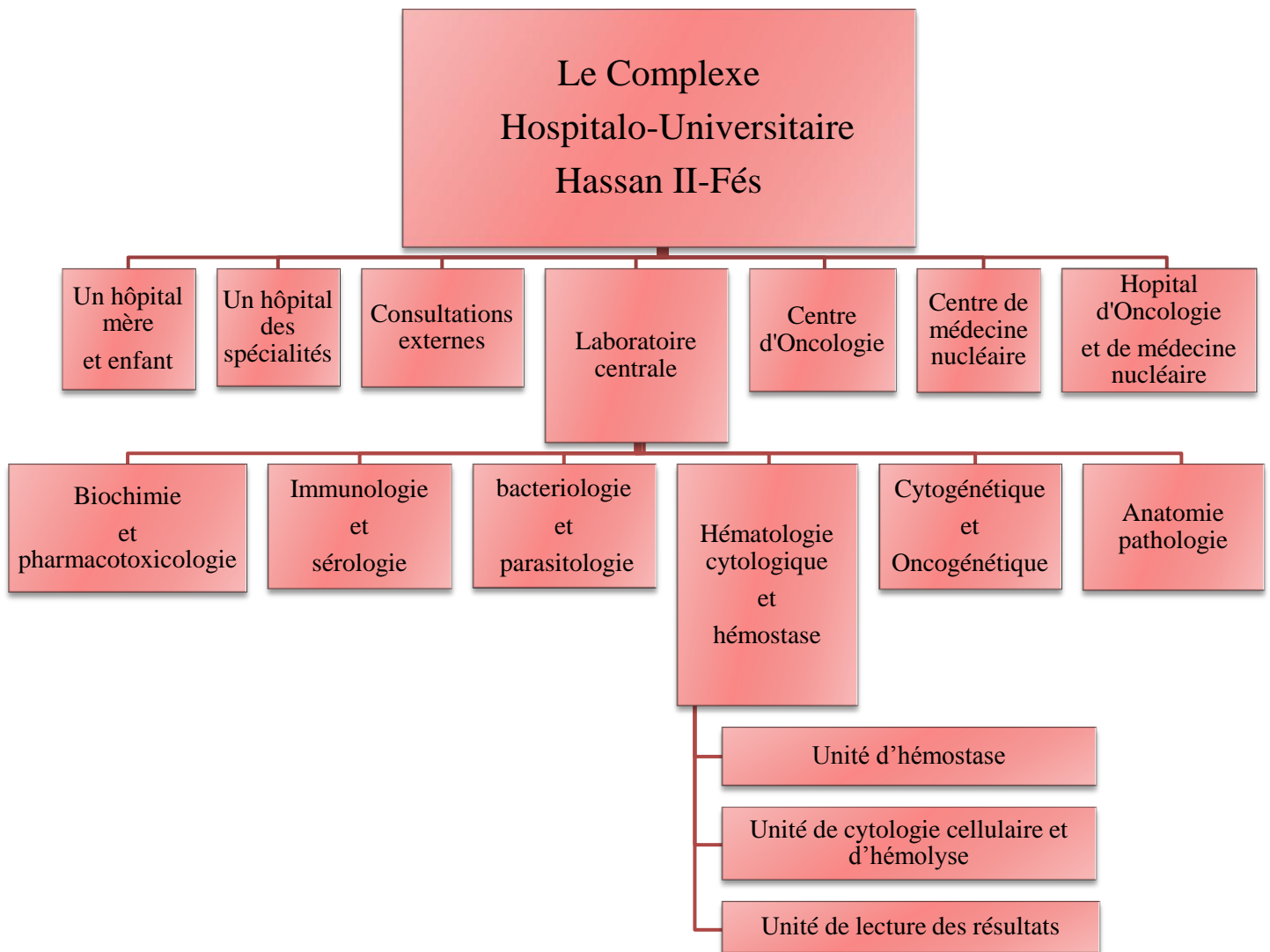
# Abréviations

<b>AB</b>	<b>Actin binding</b>
<b>ABL</b>	Abelson
<b>AND</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>ATP</b>	Adénosine-5'-triphosphate
<b>BCR</b>	Breakpoint cluster region
<b>CCyR</b>	Réponse cytogénétique complète
<b>CHU</b>	Centre hospitalier universitaire
<b>DB</b>	DNA binding
<b>EDTA</b>	Éthylène Diamine Tétra-Acétique
<b>JAK2</b>	Janus kinase 2
<b>IFN</b>	Interféron
<b>LDH</b>	Lactates déshydrogénases
<b>LMC</b>	Leucémie myéloïde chronique
<b>MFP</b>	Myélofibrose primitive
<b>MGG</b>	May-Grunwald Giemsa (MGG)
<b>NES</b>	Signal d'export nucléaire
<b>NFS</b>	Numération de la formule sanguine
<b>NLS</b>	Signal de localisation nucléaire
<b>Ph</b>	Chromosome Philadelphie
<b>PIP3K</b>	Phosphatidyl inositol-3 kinase
<b>PV</b>	Polyglobulie de VAQUEZ
<b>RHC</b>	Réponse hématologique complète
<b>RMM</b>	Réponse moléculaire majeure
<b>RMC</b>	Réponse moléculaire complète
<b>RT-PCR</b>	Reverse transcriptase- polymérase Chain réaction
<b>SMP</b>	Syndromes myéloprolifératifs
<b>STAT</b>	Signal transducer and activator of transcription
<b>TE</b>	Thrombocytémie essentielle

# Liste des illustrations

<i>Numéro</i>	<i>Page</i>
<b>1. Formation du chromosome Philadelphie.</b>	<b>5</b>
<b>2. Représentation schématique de la protéine <i>ABL</i>.</b>	<b>6</b>
<b>3. Représentation schématique des protéines <i>BCR</i>, <i>ABL1</i>, et <i>BCR-ABL</i></b>	<b>7</b>
<b>4. Evolution de la leucémie myéloïde chronique vers la crise blastique.</b>	<b>8</b>
<b>5. Hyperleucocytose : polynucléose neutrophile et myélémie.</b>	<b>10</b>
<b>6. Les différentes réponses aux traitements.</b>	<b>12</b>
<b>7. Mode d'action de l'inhibiteur de la tyrosine kinase.</b>	<b>14</b>

# Présentation de la structure d'accueil



Le laboratoire d'hématologie au sein duquel j'ai effectué mon stage de fin d'étude est composé de trois unités principales :

- La première unité, dit «*Unité de cytologie cellulaire et d'hémolyse* », a pour fonction d'identifier et de caractériser les cellules présentes dans le sang. Ce secteur est tout particulièrement spécialisé dans la réalisation de la numération formule sanguine (NFS), frottis sanguins, et les colorations de routine.
- La deuxième unité du laboratoire, dit «*hémostase* », a pour fonction d'évaluer les anomalies à risque d'hémorragie ou de thrombose.
- La troisième unité du laboratoire, dit «*lecture des résultats*», pour la lecture et interprétation des frottis sanguins.

# Partie 1: Lecture bibliographique

---

La leucémie myéloïde chronique

La maladie insidieuse .....



# Introduction

---

**Les syndromes myéloprolifératifs (SMP) chroniques** sont des hémopathies myéloïdes malignes de la moelle osseuse, liées à l'acquisition d'anomalies clonales par des cellules souches hématopoïétiques, responsables d'une production médullaire excessive de cellules myéloïdes (myéloprolifération) sans blocage de maturation. La prolifération myéloïde dérégulée prédomine sur une des lignées, ce qui est à la base de la classification des SMP. D'après la classification de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) publiée en 2008, les syndromes myéloprolifératifs regroupent [23] :

*Les SMP Classiques, les SMP inclassables et les SMP PDGER-FGFR.*

*Les SMP classiques regroupent :*

- **Les LMC** : caractérisées par la présence d'un gène de fusion *bcr-abl*.
- **Les SMP Non LMC** : caractérisés par la présence d'une mutation *JAK2-V617F*, et ils comprennent :
  - ✓ La polyglobulie de VAQUEZ,
  - ✓ La thrombocytémie essentielle,
  - ✓ La myélofibrose primitive.

La LMC est la première qui a bénéficié de la découverte d'un marqueur génétique : le chromosome Philadelphie (*Ph*). Ce qui a permis la progression de nouvelles techniques performantes pour le diagnostic et le suivi moléculaire et thérapeutique (Inhibiteurs de tyrosine kinase). Plus tard les SMP non LMC sont distingués par la présence d'une mutation clonale acquise de la protéine Janus kinase *JAK2*. Cette mutation somatique correspond à un changement de nucléotide G par T en position 1879 du gène *JAK2*, ce qui entraîne le remplacement au niveau du codon 617 de la valine par une phénylalanine. La mutation *JAK2 V617F* est située dans le domaine pseudokinase de la protéine, dont le rôle physiologique est d'inhiber l'activité du domaine kinase. Cette mutation entraîne une activation constitutive de la kinase [23].

80% des *LMC* progressent vers la leucémie myéloïde aigüe, tandis que les *SMP* non *LMC* ne représentent que 20% de cette composante avec 5% pour la polyglobulie de Vaquez (*PV*), 1-2% pour la thrombocytémie essentielle (*TE*) et 10% pour la myélofibrose primitive (*MFP*) [1].

*Le choix de notre thème concerne l'étude de la LMC, afin de synthétiser les réponses aux questions suivantes : Quelle est la particularité de ce type de maladie et comment survient-elle? Comment est-elle diagnostiquée ?*

*Nous avons commencé notre étude par une recherche bibliographique sur la LMC, suivie d'une étude expérimentale qui vise à décrire les différents examens biologiques réalisés au laboratoire d'hématologie, et qui permettent le diagnostic initial de la maladie. Enfin une exploitation des dossiers des malades pour la répartition de la LMC selon un certain nombre de critères à savoir : L'âge, le sexe...*

# Présentation de la leucémie myéloïde chronique

---

## 1. Définition :

La leucémie myéloïde chronique (*LMC*) est une affection myéloproliférative clonale dont l'origine supposé est une modification génétique acquise d'une cellule souche pluripotente. Elle est caractérisée par une importante surproduction de neutrophiles et de leurs précurseurs.

## 2. Epidémiologie :

L'incidence annuelle de la *LMC* est d'environ 1/100000 [11]. L'âge moyen au diagnostic est de 54 ans et la maladie touche 1,4 homme pour 1 femme [17].

Il n'existe pas de spécificité géographique prouvée à ce jour [10]. Il semble y avoir peu de spécificité ethnique même si la race blanche apparaît légèrement plus touchée que la race noire [15].

## 3. Etiologie :

L'étiologie de la *LMC* semble inconnue [1]. Néanmoins il ne paraît pas y avoir de prédispositions génétiques [20].

L'exposition à un rayonnement ionisant est un facteur de risque (survivants de la bombe atomique, après une radiothérapie) [16]. Cependant il est important de noter qu'aucune donnée scientifique n'établit une liaison entre les radiographies diagnostiques dentaires ou médicales et un risque accru de l'atteinte de la *LMC* [25].

# Présentation de la leucémie myéloïde chronique

---

## 4. Physiopathologie :

### 4.1. La monoclonalité de la prolifération hématopoïétique :

La *LMC* a une origine monoclonale [22]. En effet, le résultat du clonage et du séquençage de l'*ADN* au niveau du site de translocation a démontré que le site de coupure et de réunion des fragments transloqués apparaît identique dans toutes les cellules leucémiques d'un patient donné, mais diffère légèrement (par quelques centaines ou milliers de paires de bases) d'un patient à l'autre, ce qui était prévisible si, et seulement si, chaque cas de leucémie part d'un accident particulier apparu dans une seule cellule [2].

Le profil d'inactivation du chromosome *X* fournit une autre démonstration. Les femmes sont mosaïques (Certaines cellules ayant le chromosome *X* paternel inactivé et d'autres cellules ayant le chromosome *X* maternel inactivé). L'inactivation d'un chromosome *X* survient aléatoirement au cours du développement embryonnaire précoce. Toutes les cellules atteintes de la *LMC* d'une femme donnée ont le même chromosome *X* inactivé. Cette observation soutient le concept que toutes les cellules cancéreuses d'un patient ont pour origine une cellule unique [13].

### 4.2. L'identité de la cellule à l'origine de la *LMC* :

La *LMC* est due à une prolifération clonale provenant d'une mutation somatique **d'une seule cellule souche hématopoïétique pluripotente**. Le *Ph*, marqueur génétique de la maladie, est retrouvé dans toutes les mitoses des précurseurs granuleux, monocytaires, plaquettaires, et érythrocytaires. Il est absent des fibroblastes et des cellules extra-hématopoïétiques [22].

# Présentation de la leucémie myéloïde chronique

## 4.3. Le réarrangement chromosomique de la *LMC* :

La majorité des cas de la *LMC* présentent une anomalie génétique acquise : le chromosome Philadelphie (*Ph*). Le *Ph* est un chromosome 22 raccourci, résultat d'une translocation réciproque entre le chromosome 9 et 22.

La *LMC* constitue un des modèles privilégiés à l'étude de la leucémogénèse, car le point de cassure sur le chromosome 9 est localisé en position 9q34 au niveau de l'oncogène Abelson (*ABL*) qui sera traité dans le paragraphe suivant. Quant au chromosome 22, le point de cassure se situe au niveau du gène *BCR* (break point cluster région) du bras long, soit en 22q11 (Fig.1) [14].

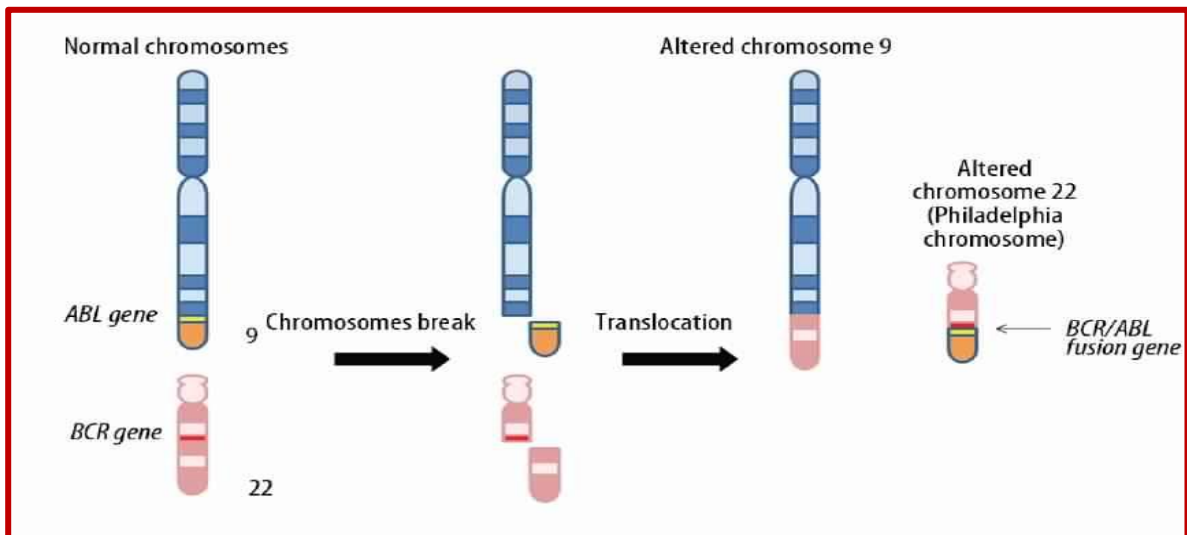


Fig.1 : Formation du chromosome Philadelphie.

(Source : <http://www.phmd.pl/>.)

## 5. Biologie moléculaire du chromosome *Ph* :

### 5.1. La protéine *ABL* :

Le gène Abelson (*ABL*) comporte 11 exons, dont 2 exons I alternatifs, *Ia* et *Ib*, séparés par un très long intron, ou se dispersent la majorité des points de cassure [22]. Selon si la transcription se fait à partir de l'exon *Ia* ou *Ib*, il existe deux isomorphes de *ABL* : *c-abl a* et *c-abl b*.

# Présentation de la leucémie myéloïde chronique

La forme *Ib* présente un groupement myristoyl qui permet l'association de la protéine avec la membrane plasmique (Fig.2) [26].

La protéine *ABL* navette entre le cytoplasme et le noyau. Pour cela, il possède trois signaux de la localisation nucléaire (*NLS*) et un signal d'export nucléaire (*NES*).

On note que le domaine *SH1* est le support de l'activité tyrosine kinase. Les domaines *SH2*, *SH3*, et *Cap* (situé en amont du domaine *SH3*) de la région *N* terminale adoptent une conformation spatiale qui permet la séquestration du domaine kinasique, ce qui garantit l'autoinhibition de la protéine *ABL* [26].

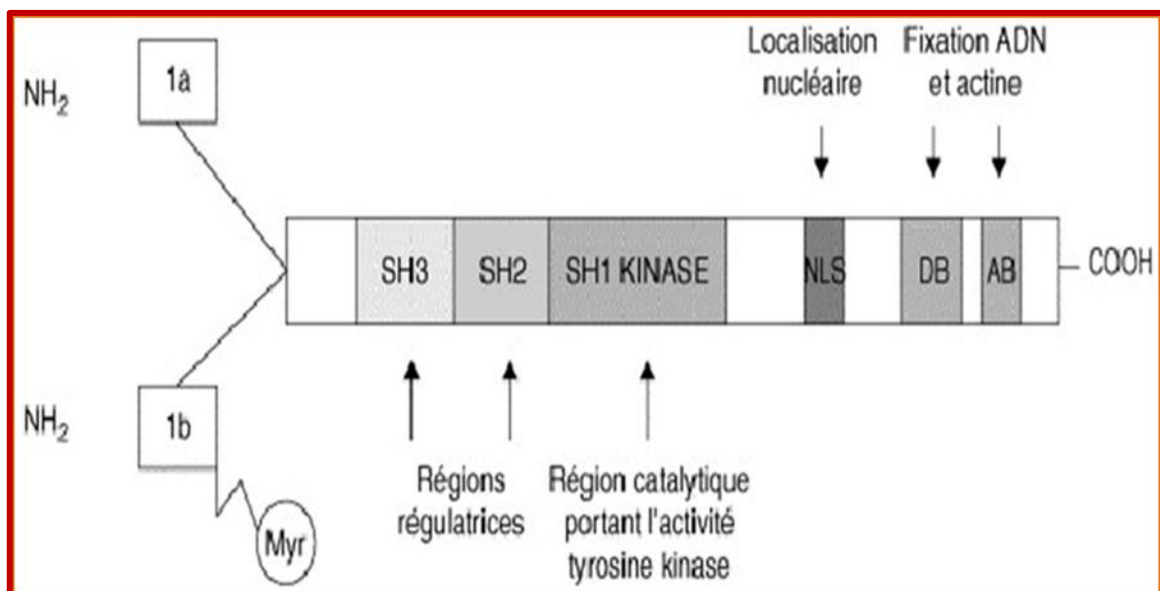


Fig.2 : Représentation schématique de la protéine *ABL*.

Les rôles d'*ABL* vont de la régulation de l'expression des gènes à la transduction du signal extracellulaire.

### 5.3. La protéine *BCR-ABL* :

Au niveau moléculaire, la translocation qui aboutit au chromosome *Ph*, induit la formation d'un gène de fusion *BCR-ABL*, qui code pour une protéine chimérique *BCR-ABL*, à forte activité tyrosine kinase [26].

# Présentation de la leucémie myéloïde chronique

Le gène *BCR* fusionne au niveau du premier intron du gène *ABL* ; Ce qui conduit à la perte d'une partie des interactions internes inhibitrices d'*ABL* et à l'acquisition de la capacité d'oligomérisation (Et plus précisément de tétramérisation) de *BCR-ABL* induite par les domaines d'oligomérisation présents au côté *N*-terminal de la protéine *BCR* (Fig.3). L'oligomérisation de *BCR-ABL* induit la transactivation des kinases *ABL* et est indispensable pour la capacité de transformation de cet oncogène [26].

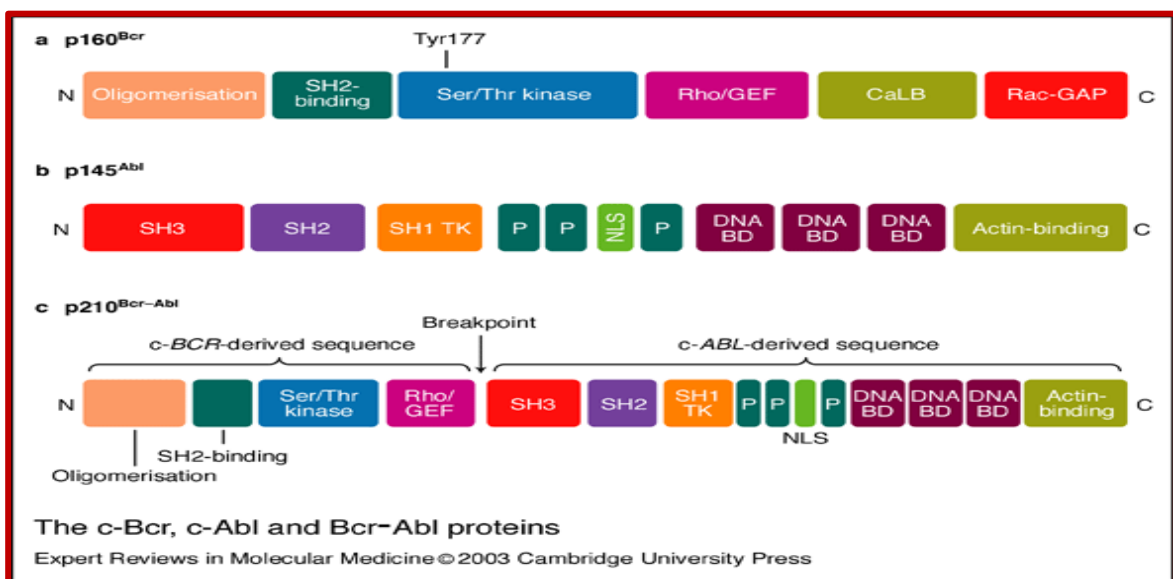


Fig.3: Représentation schématique des protéines *BCR*, *ABL1*, et *BCR-ABL*.

L'oncogénèse induite par la protéine *BCR-ABL* repose sur l'activation des voies de la transduction du signal de façon autonome (*JAK/STAT*, *RAS*, *PI3K*...). Ceci a pour conséquence :

- Inhibition de l'adhérence cellulaire : *BCR-ABL* confère aux progéniteurs hématopoïétiques primitifs y contiennent une indépendance d'ancrage, empêchant ainsi la régulation négative [6].
- Induction d'un signal anti-apoptotique : Augmentation de la survie cellulaire, et accumulation des mutations conduisant à la crise blastique [4].

# Présentation de la leucémie myéloïde chronique

## 6. Evolution de la LMC :

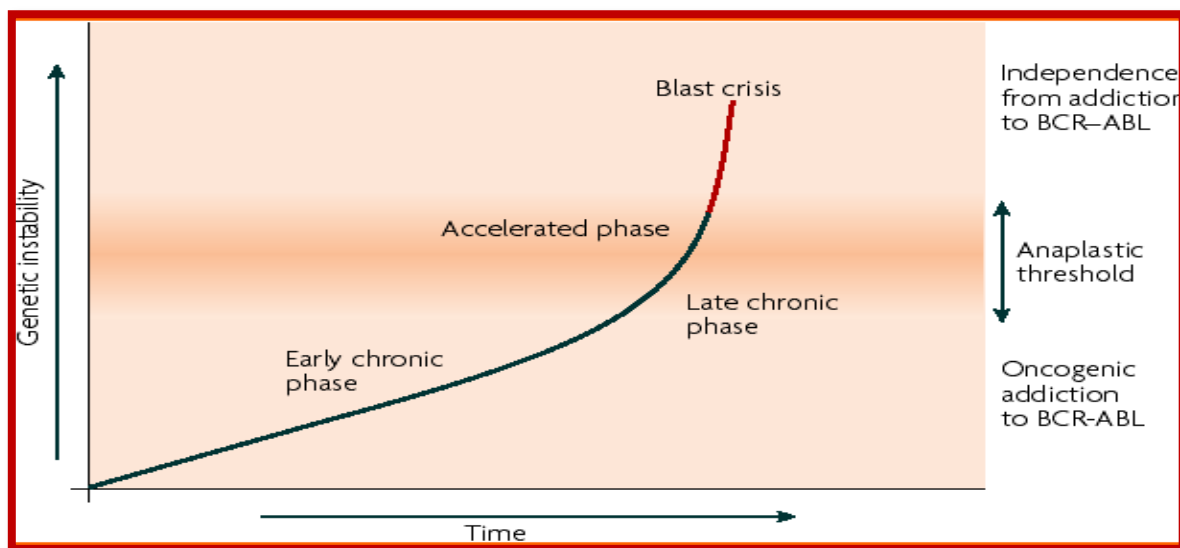


Fig.4 : Evolution de la leucémie myéloïde chronique vers la crise blastique.

(Source : [www.medscape.com](http://www.medscape.com))

La phase chronique dure en moyenne 3 à 5 ans. La progression de la maladie vers la phase accélérée (18 mois) puis blastique (3 à 6 mois) s'accompagne d'anomalies génétiques marqueurs d'instabilité génomique croissante (Fig.4) [12].

## 7. Symptomatologie clinique :

### 7.1. Les circonstances de la découverte :

50% des cas sont des diagnostics fortuits : 97 % en phase chronique, 1,6 % en phase accélérée et 1,4% en phase blastique d'emblée [3].

### 7.2. Le diagnostic clinique :

Une altération de l'état général, dû à l'hypermétabolisme, associant la fatigue, perte de poids, ou plus rarement une fébricule et des sueurs. Et la splénomégalie est rencontrée dans 50% des cas [24] [8].



# Présentation de la leucémie myéloïde chronique

## 8. Diagnostic biologique :

Les examens fondamentaux pour affirmer le syndrome myéloprolifératif et le caractériser sont : l'hémogramme, l'examen de la moelle et le caryotype.

### 8.1. L'hémogramme :

L'hémogramme est l'élément essentiel du diagnostic. *En phase chronique*, il indique :

- Une hyperleucocytose dont la valeur dépasse 100 000/ ul [19].
- La formule leucocytaire est très évocatrice, montrant 90 à 95 % d'éléments granuleux avec une polynucléose neutrophile (30 à 40%), une basophilie (3 à 10%), une éosinophilie (5 à 10%), et une myélémie constante représentant 10 à 50% des éléments. Elle est constituée surtout par des métamyélocytes et des myélocytes, quelques promyélocytes (3 à 5 %), plus rarement quelques myéloblastes (<5%) (Fig.5) [1][22].

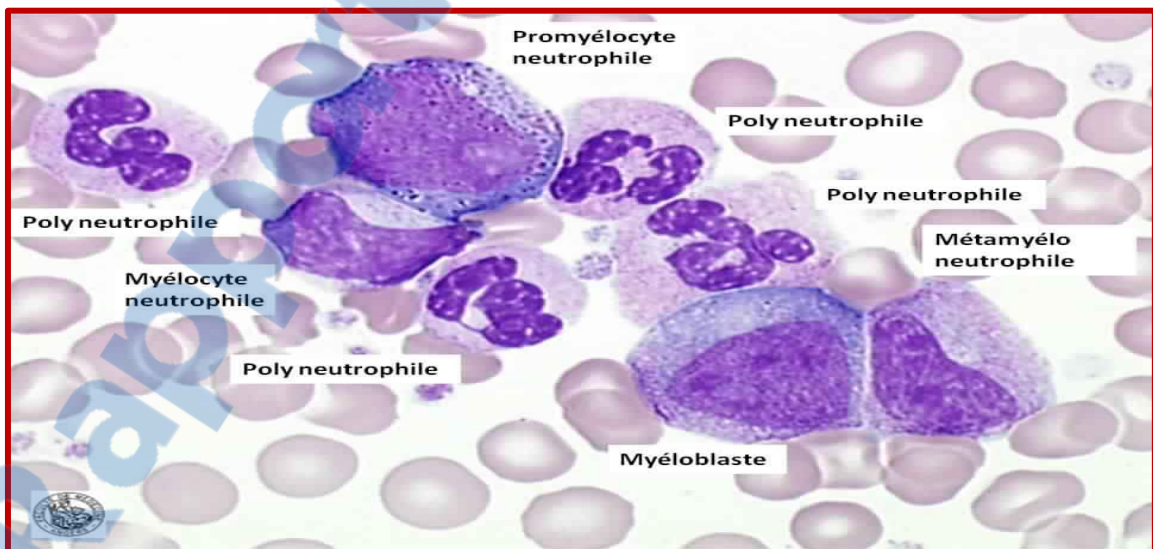


Fig.5 : Hyperleucocytose : polynucléose neutrophile et myélémie  
( Source : <http://www.med.univ-angers.fr>)

- Le reste de la formule est représenté par quelques lymphocytes et monocytes [22].
- Thrombocytose chez 50% [32].
- Une anémie : normochrome/normocytaire/non régénérative [29].

# Présentation de la leucémie myéloïde chronique

## 8.2. Le myélogramme:

Le myélogramme affirme le syndrome myéloprolifératif en montrant une richesse extrême de la moelle avec hyperplasie de la lignée granuleuse avec un léger excès de myéloblastes et de promyélocytes (mais un pourcentage de myéloblastes restant <10%) [22].

### **NB :**

La phase d'accélération se caractérise par une *aggravation de la leucocytose* (Avec un taux de blastes dans le sang et dans la moelle compris entre 10 à 19%), et de la *basophilie* ( $\geq 20\%$ ). En plus elle se marque par une *thrombopénie persistante* ( $< 100\ 000/\mu\text{l}$ ), non liée au traitement ou une *thrombocytose réfractaire persistante liée au traitement* ( $> 1\ 000\ 000/\mu\text{l}$ ) [16][31]. Tandis que le signe évocateur de la **phase blastique est le blocage de la différenciation** (avec un taux de blastes dans le sang et dans la moelle supérieur à 20%).

## 9. Diagnostic génétique :

En **phase chronique**, le caryotype indique [28] :

-90% des cas de *LMC* sont *Ph* positive:

- ✚ 85% des cas présentent un *Ph* classique.
- ✚ 5% qui restent ont un *Ph* complexe. t (V;9;22).

-10% des cas de la *LMC* sont *Ph* négative:

- ✚ 5% des cas, *BCR-ABL* positive en *RT-PCR* (Reverse Transcriptase *polymerase chain reaction*).
- ✚ 5% des cas, *BCR-ABL* négative en *RT-PCR*.

En phase **d'accélération** et en phase **d'acutisation** ou **blastique** [35]:

- ✚ *Ph* et anomalies chromosomiques additionnelles.



# Présentation de la leucémie myéloïde chronique

---

## 10. Autres examens biologiques:

Le bilan biochimique peut montrer :

- Une élévation du taux de la *LDH* : qui peut être considéré comme un marqueur de l'activité glycolytique anaérobie des cellules tumorales [7].
- Une hyperuricémie avec uraturie (dû à la lyse tumorale et la transformation des bases puriques d'ADN en acide urique), une augmentation du lysozyme sanguin et urinaire.
- L'augmentation du taux de la vitamine *B12* [8], par augmentation du transporteur transcobalamine 1 synthétisé par les granulocytes [31].
- Faible score de phosphatases alcalines sériques [30].

## 11. Traitement :

L'objectif du traitement est de prévenir la transformation aigue et sa finalité est l'éradication du *Ph*.

La rémission signifie que la maladie est contrôlée par le traitement. Elle ne disparaît pas, mais le nombre de cellules de la *LMC* encore produites est suffisamment bas pour ne pas provoquer de symptômes. Lors de la rémission, ces cellules sont présentes en quantité tellement faible qu'elles peuvent échapper à la détection par les examens hématologiques, cytogénétiques et moléculaires. Les réponses cytogénétiques et moléculaires sont souhaitées car, en général, elles garantissent le contrôle et la stabilité de la maladie. Afin d'augmenter la qualité de la réponse, la **rémission** peut signifier obtenir les résultats suivants aux examens (Fig.6) :

- *Réponse hématologique complète (RHC)* : Le nombre de globules blancs et de plaquette est revenu à la normale. La rate a repris sa taille d'origine.
- *Réponse cytogénétique complète (CCyR)* : Aucune cellule porteuse du chromosome *Ph+* n'est détectée dans le sang ou la moelle osseuse.
- *Réponse moléculaire majeure (RMM)* : Les tests *PCR* peuvent encore détecter les gènes ou les transcrits *BCR-ABL* mais en très faible quantité.

# Présentation de la leucémie myéloïde chronique

- *Réponse moléculaire complète (RMC)* : Les tests *PCR* ne peuvent pas détecter le gène *BCR-ABL* dans le sang [33].

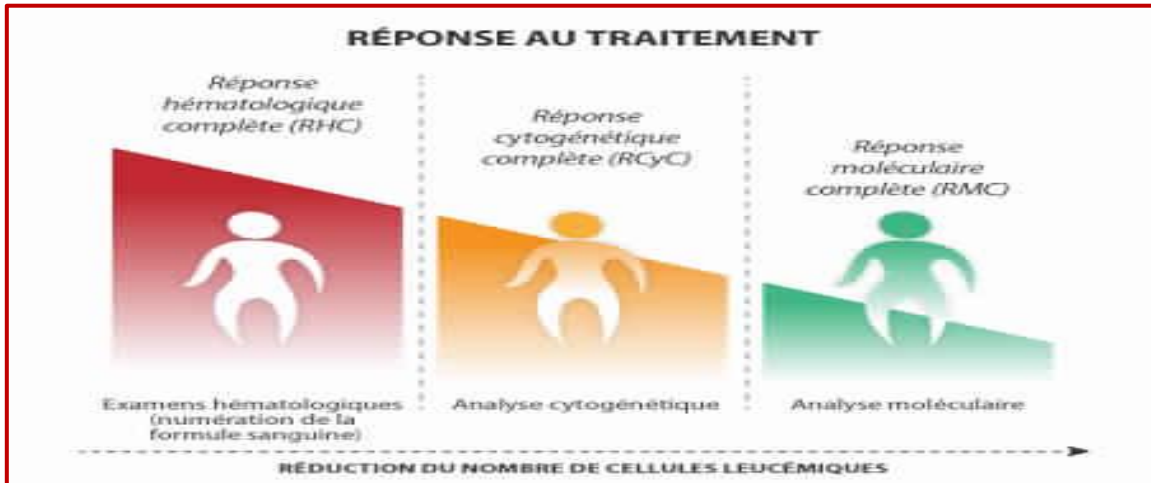


Fig.6 : Les différentes réponses aux traitements.

## NB :

- ✓ Les examens réguliers sont nécessaires même si le traitement donne de bons résultats car la *LMC* est une maladie chronique qui ne disparaît pas.

### 11.1. La chimiothérapie :

En chimiothérapie, on a recours à des médicaments anticancéreux (tel hydroxyurée (*hydréa*), un inhibiteur de la synthèse de l'ADN [22]) pour traiter le cancer. On y a maintenant bien moins recours puisque des médicaments ciblés, comme l'imatinib, sont disponibles. On peut avoir recours à la chimiothérapie :

- Quand le traitement ciblé n'est plus efficace.
- Si d'autres traitements ne sont pas tolérés.
- En préparation à une greffe de cellules souches.
- Pour maîtriser les symptômes et améliorer la qualité de vie des personnes atteintes d'une LMC en stade avancé [27].

# Présentation de la leucémie myéloïde chronique

## 11.2. L'allogreffe avec donneurs apparentés :

Elles restent le traitement de référence surtout pour les patients jeunes. Deux types de greffes sont possibles.

La greffe syngénique (à partir d'un jumeau vrai) qui donne de très bons résultats immédiats mais avec un taux de rechute élevé si la greffe est faite en phase aigüe (80 %). La greffe allogénique avec donneur ou greffe géno-identique (à partir d'un frère ou d'une sœur *HLA* compatible) donne aussi de meilleurs résultats quand elle est faite en phase chronique (55 % de survie à six ans) qu'en phase aigüe (15 % de survie à six ans) [8].

## 11.3. L'interféran alpha :

Les *IFN* alpha sont une famille de polypeptides produits par les cellules eucaryotes en réponse à divers agents stimulants. Ils ont des propriétés antivirales, antiprolifératives et immunomodulatrices.

La mise à disposition des cliniciens de molécules *IFN* alpha recombinant produites par génie génétique a permis de prouver l'intérêt de l'*IFN* alpha dans le traitement de *LMC* avec obtention de remissions cytogénétiques [9].

## 11.4. La thérapie ciblée :

Les inhibiteurs de tyrosine kinase (L'imatinib) se fixent de manière compétitive sur les sites de liaisons de l'*ATP* et bloquent ainsi l'activation des sites tyrosine kinase. Par voie de conséquence, la signalisation cellulaire en aval est interrompue, rétablissant ainsi le contrôle de la prolifération de la survie cellulaire (Fig.7).

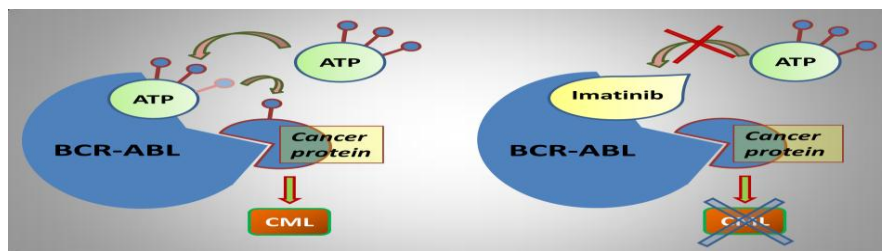


Fig.7 : Mode d'action de l'inhibiteur de la tyrosine kinase.

(Source : <http://dx.doi.org/10.5772/55505>)

### Objectif du travail :

- Etablir une répartition de la leucémie myéloïde chronique selon les caractéristiques des patients (Age, sexe...).



# Matériel et Méthodes

---

## 1. Matériel :

Le travail a été réalisé au sein du laboratoire d'hématologie de *CHU HASSAN II* de *FES*.

### 1.1. Les patients :

Il s'agit d'une étude rétrospective intéressant 16 patients atteints de la *LMC*, et hospitalisés au service de la médecine interne, durant une période de deux ans allant du janvier 2013 à décembre 2014. Ces patients ont d'abord bénéficié lors de leur prise en charge de :

**a. Un interrogatoire, s'enquérant sur :**

- *L'âge, le sexe, les antécédents familiaux et personnels, et le mode de survenue de la symptomatologie révélatrice.*

**b. Un examen physique complet dans le but :**

- *de rechercher une éventuelle splénomégalie et/ou hépatomégalie.*

**c. Un bilan biologique qui comprend :**

- *Un hémogramme initial, un frottis sanguin à la recherche d'une myélémie avec détermination de sa formule et en particulier le taux de blastes circulants, et un myélogramme initial avec précision du taux de blastes et de promyélocytes médullaires.*

**d. Et enfin, une étude génétique par :**

- *Un caryotype sanguin et/ou médullaire à la recherche du chromosome Ph et d'éventuelles anomalies surajoutées, et une étude de la biologie moléculaire par méthode qualitative et/ou quantitative à la recherche du transcrit du BCR-ABL.*

# Matériel et Méthodes

---

Le bilan sus-détaillé a permis de classer les patients selon la phase de la maladie:

**-La phase chronique**, caractérisée par :

- la présence de moins de 10% de blastes dans le sang ou dans la moelle.

**-La phase accélérée**, caractérisée par :

- la présence de 10% à 19% de blastes dans le sang ou dans la moelle.

**-La phase accutisée ou aigüe**, caractérisée par :

- la présence d'au moins 20% de blastes dans le sang ou dans la moelle, associée à une aggravation rapide de l'état général et du syndrome tumoral.

## 2. Méthodes :

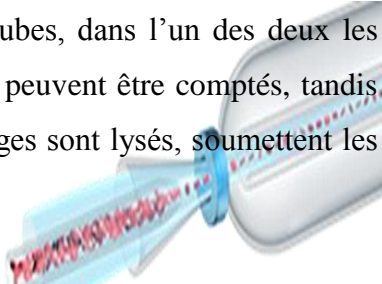
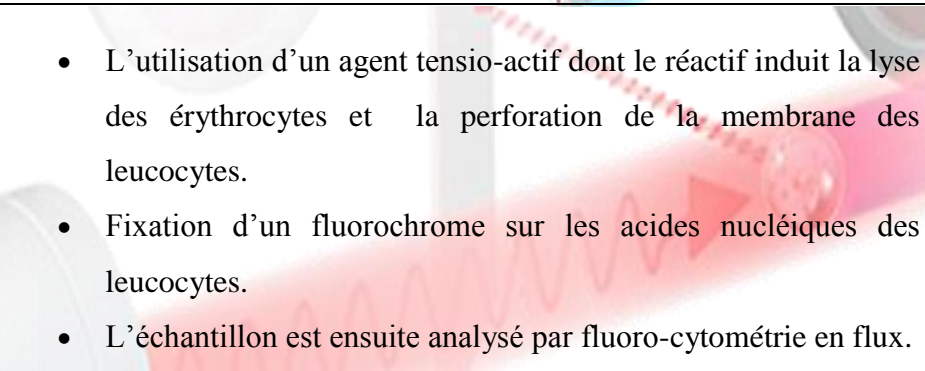
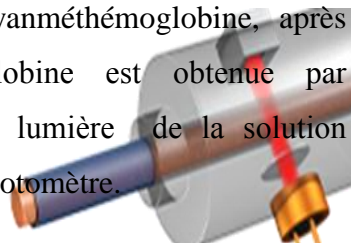
### 2.1. La numération de la formule sanguine (NFS) automatisée:

Le système hématologique automatisé XE-2100 de Sysmex utilise la puissance de technologies de la cytométrie de flux fluorescente et l'impédance électrique pour la numération de la formule sanguine (Tableau1).



# Matériel et Méthodes

Tableau 1 : La numération de la formule sanguine automatisée

<p><i>Les paramètres mesurés par le sysmex XE.2100</i></p>	<p><b>Principes</b></p>
<p><b>La numération :</b> Des érythrocytes, des plaquettes et des leucocytes.</p>	<p><b>Impédance électrique :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>le principe de cette méthode repose sur le fait que les cellules sanguines sont des mauvais conducteurs. Par conséquent, lorsque un flux de cellules passe dans une très petite ouverture à travers laquelle est maintenu un courant électrique, les cellules individuelles entraînent une augmentation de l'impédance électrique dont l'amplitude est proportionnelle au volume cellulaire.</li> <li>Les automates présentent deux tubes, dans l'un des deux les globules rouges et les plaquettes peuvent être comptés, tandis que dans l'autre les globules rouges sont lysés, soumettent les globules blancs au comptage.</li> </ul> 
<p><b>La formule leucocytaire :</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>L'utilisation d'un agent tensio-actif dont le réactif induit la lyse des érythrocytes et la perforation de la membrane des leucocytes.</li> <li>Fixation d'un fluorochrome sur les acides nucléiques des leucocytes.</li> <li>L'échantillon est ensuite analysé par fluoro-cytométrie en flux.</li> </ul> 
<p><b>La concentration de l'hémoglobine :</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>La dilution du sang dans une solution dans laquelle l'hémoglobine est convertie en cyanméthémoglobine, après quoi la concentration d'hémoglobine est obtenue par l'évaluation de l'absorption de la lumière de la solution résultante, mesurée par un spectrophotomètre.</li> </ul> 

# Matériel et Méthodes

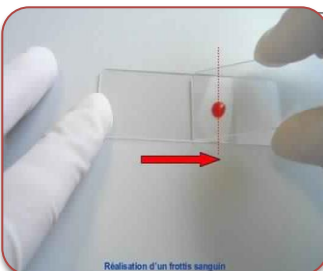
## 2.2. Le frottis sanguin:

Pour réaliser un frottis sanguin, le prélèvement du sang est effectué à partir du sang veineux ou capillaire et recueilli sur *EDTA*. Ensuite, il est homogénéisé par des mouvements de retournement doux afin d'éviter l'apparition du caillot.

- Préparation du frottis sanguin:



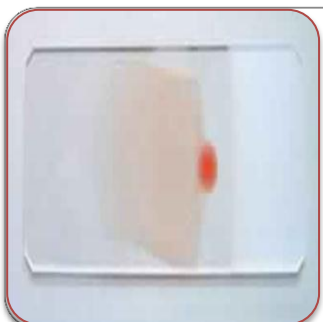
- On dépose une petite goutte de sang à un centimètre sur l'une des extrémités d'une lame propre posée horizontalement sur un plan dur.



- On place le bord d'une lame sur l'autre et on fait glisser celle-ci jusqu'à ce qu'elle entre au contact avec la goutte, en maintenant un angle de 45°. La goutte s'étale le long de l'arête par capillarité.



- On pousse dans un mouvement uniforme vers l'autre extrémité de la lame sans atteindre celle-ci. Le frottis ainsi réalisé est séché rapidement par exposition à l'air.



Un bon frottis sanguin doit répondre aux critères suivants :

- Homogène.
- Ne touche pas les bords.
- Correctement séché.

## 2.3. La coloration de May-Grünwald Giemsa:

La coloration de May-Grünwald Giemsa (*MGG*), est une méthode de coloration utilisée en hématologie pour différencier les cellules du sang lors des préparations cellulaires (cytologie). Il repose sur l'action combinée de deux colorants neutres : Le May- Grünwald et le Giemsa. Ces deux colorants sont en solution dans l'alcool méthylique sous forme inactive. Lors de l'addition d'eau, les sels précipitent et se fixent électivement sur les constituants cellulaires.

- **Réactifs :**

- Le May- Grünwald,
- Giemsa.

- **Technique :**

- Recouvrir entièrement le frottis de la solution de May-Grünwald et laisser agir 3 minutes : Fixation du frottis sanguin.
- Rincer à l'eau du robinet (Coloration au MG).
- Recouvrir le frottis d'une solution de Giemsa dilué préparé extemporanément (1vol. de Giemsa + 9vol. d'eau de robinet) et laisser agir 15 minutes.
- Rincer abondamment à l'eau du robinet, égoutter et sécher à l'abri des poussières.

- **Lecture des résultats :**

- Observation des frottis sanguins au microscope optique.

## 2.4. Le myélogramme :

Le myélogramme correspond à l'analyse cytomorphologique des cellules de la moelle osseuse et donne en pourcentage les proportions relatives des diverses cellules médullaires. Pour réaliser un myélogramme :

- La moelle est aspirée (quelques gouttes) à la seringue et étalée sur des lames de verre (Comme pour un frottis sanguin), puis colorée (*MGG*) et analysée au microscope par un cytologiste expérimenté.
- En fonction des hypothèses diagnostiques, le geste peut être complété en utilisant une seconde seringue et l'aspiration de 1 à 3 ml de suc médullaire recueilli sur un anticoagulant (*EDTA*) aux fins d'autres analyses, en particulier cytogénétiques et moléculaires (recherche du chromosome *Ph*).

L'analyse comporte trois étapes :

- L'appréciation de la richesse globale en cellules : elle est estimée de manière empirique (richesse « normale », « augmentée » ou « diminuée », selon la densité en cellules par champ microscopique).
- La détermination des pourcentages respectifs des diverses cellules observées sur l'étalement médullaire.
- L'étude cytomorphologique qualitative qui définit les anomalies morphologiques des cellules d'une ou plusieurs lignées.

## NB :

- ✓ les examens de cytogénétique sont réalisés au laboratoire de cytogénétique sous la direction du **Dr. Karim Ouldin**.



# Résultats et Discussion

## Présentation des résultats:

L'étude rétrospective a concerné 16 patients hospitalisés en médecine interne, durant une période de deux ans. Elle a permis de classer la population étudiée selon un certain nombre de critères :

### 1. Caractéristiques épidémiologiques :

#### 1.1. L'âge:

L'âge des patients variait entre 22 et 65 ans avec une moyenne de 43,5 ans. Ces données ont fourni un moyen de classification des patients en six tranches d'âge sans distinctions de sexe (Fig.1) :

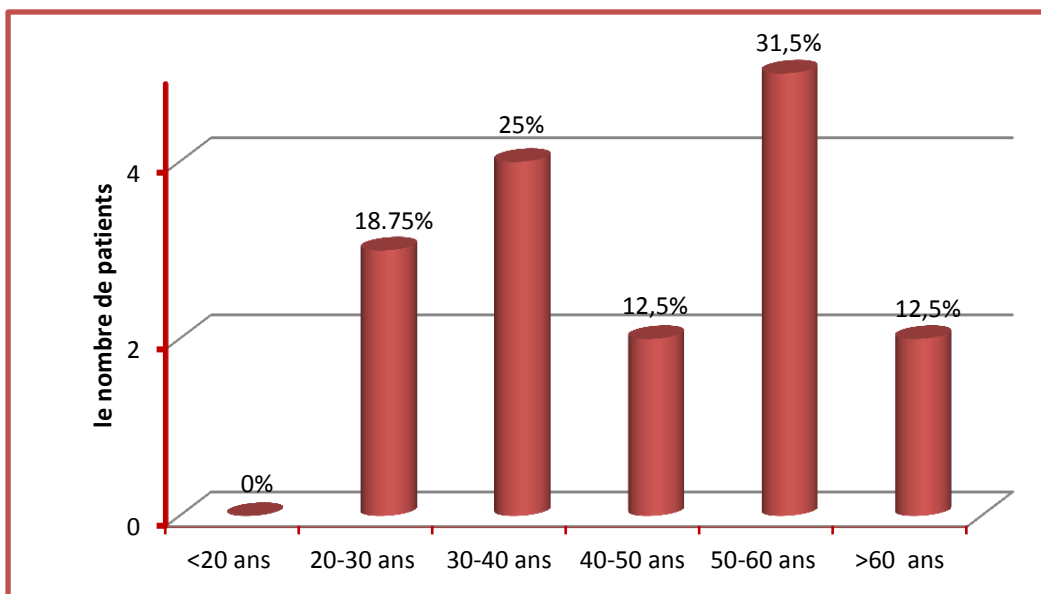


Fig.1 : La répartition des patients par tranches d'âge.

La répartition des patients atteints de la *LMC*, par tranches d'âge (Fig.1) a montré deux pics de fréquence :

- La tranche d'âge 30-40 ans, 4 patients sont atteints soit 25%.
- La tranche d'âge 50-60 ans, 5 patients sont atteints soit 31.5%.

On remarque que La *LMC* touche préférentiellement la tranche d'âge comprise entre 50 et 60 ans avec une moyenne de 55 ans.

# Résultats et Discussion

## 1.2. Le sexe :

Les résultats de la répartition de la population selon le sexe sont présentés dans le graphe ci-dessous :

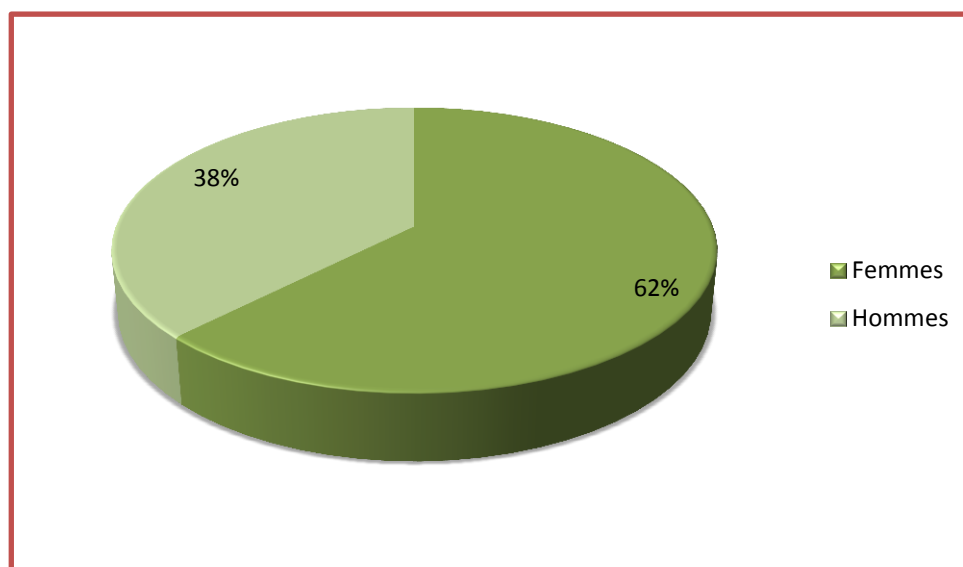


Fig.2: La répartition des patients selon le sexe.

La *LMC* est présente chez 10 femmes et 6 hommes, soit respectivement 62% et 38% des patients étudiés.

## 1.3. L'association rare de la *LMC* à des infections :

La leishmaniose sous forme amastigote est associée à la *LMC* chez une femme provenant d'une région endémique (Taounate) :

- Un cas atteint sur 16 patients étudiés, soit 6,25%.

La tuberculose caséofolliculaire est prouvée chez une femme atteinte de la *LMC* :

- Un cas atteint sur 16 patients étudiés, soit 6,25%.

# Résultats et Discussion

## 2. Caractéristiques cliniques :

Chez la population étudiée, les symptômes de la *LMC* sont classés comme suit (Fig.3) :

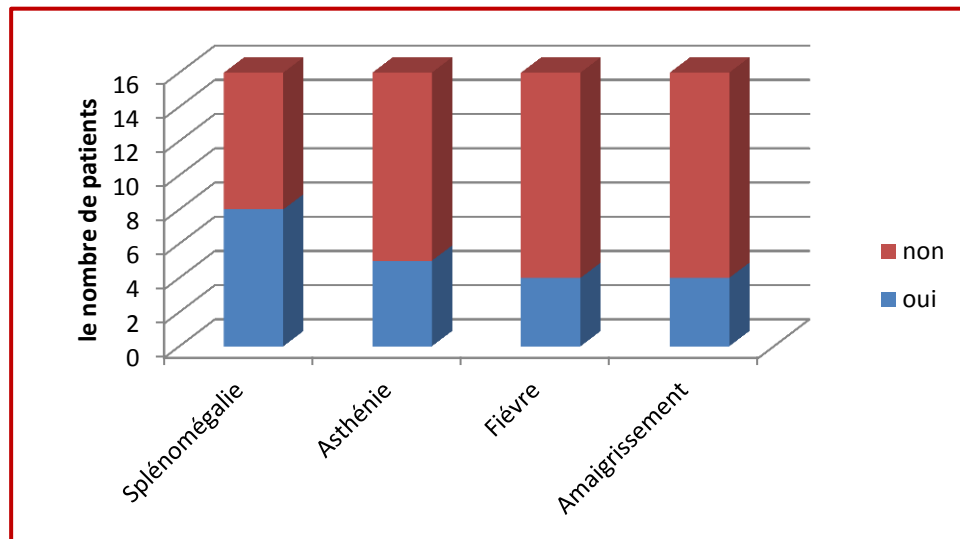


Fig.3: La classification des patients selon les symptômes de la *LMC*.

8 patients (soit 50%) présentent une splénomégalie,

5 patients (soit 31,25%) présentent une asthénie,

4 patients (soit 25%) présentent une fièvre,

4 patients (soit 25%) présentent un amaigrissement.

Ces résultats montrent que la splénomégalie est le premier symptôme de la maladie.

## 3. Phases de la maladie :

La classification des patients selon la phase de la *LMC* est présentée dans le diagramme ci-dessous (Fig.3) :



## Résultats et Discussion

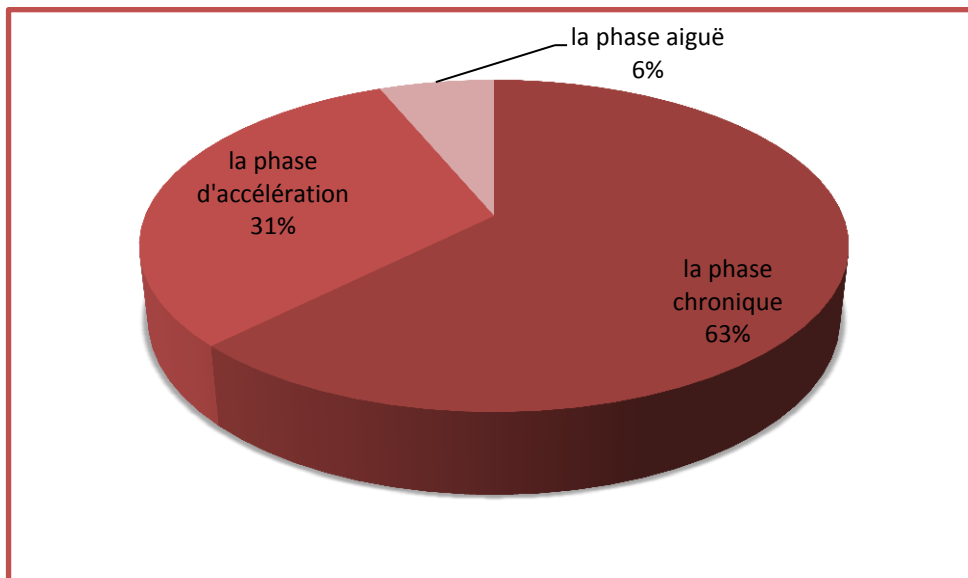


Fig.5 : La répartition des patients selon la phase de la découverte la *LMC*.

Cette représentation graphique montre :

10 patients soit 63% ont été découverts en phase chronique,  
5 patients soit 31% ont été découverts en phase accélérée,  
et un patient soit 6% a été découvert en phase aiguë.

#### 4. Etude génétique :

Chez les 16 patients étudiés :

Les données de l'étude génétique ne sont plus disponibles pour 4 patients.

L'étude génétique n'a pas mis en évidence le chromosome *Ph* chez un patient soit 8% des cas.

Le chromosome *Ph* a été retrouvé chez 11 patients soit 92% des cas. Il était associé à une anomalie cytogénétique surajoutée (trisomie 21) chez une patiente en phase chronique de la maladie, soit 1% des cas (Fig.4) :

# Résultats et Discussion

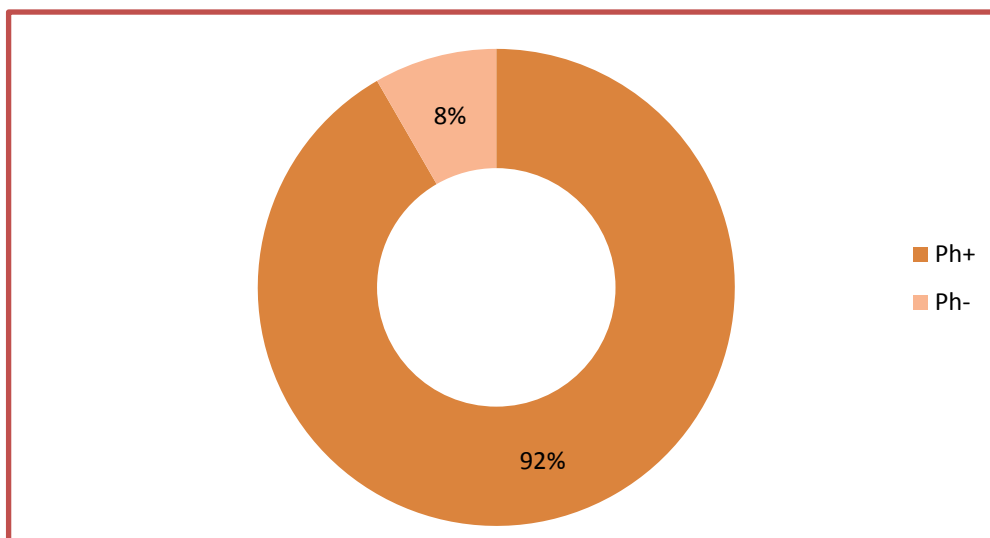


Fig.4: La répartition des patients selon les résultats de l'étude cytogénétique.

## 5. Traitement :

La population étudiée est répartit comme suit, selon le type de traitement prescrit :

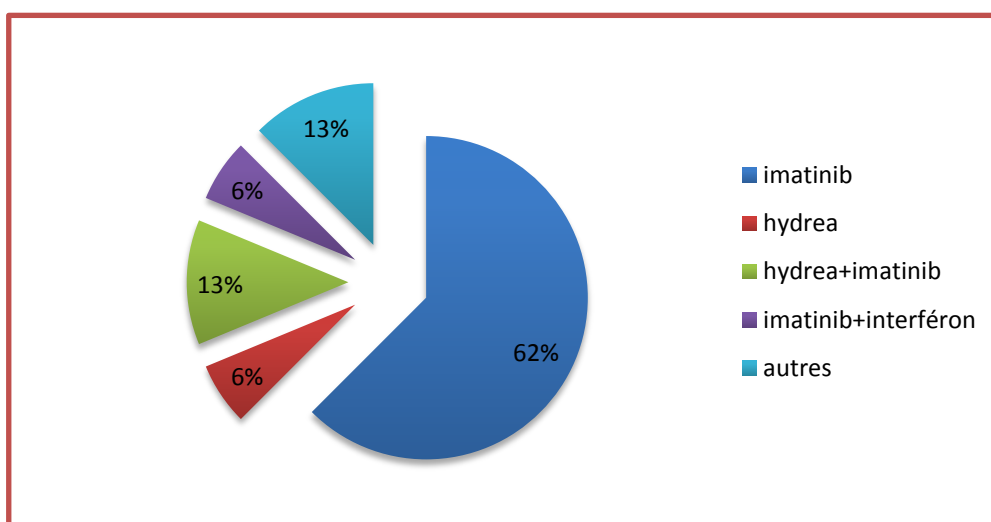


Fig.6 : La répartition des patients selon le type de traitement prescrit.

Ces résultats montrent clairement que le traitement de base est l'imatinib :

- Il est associé à l'interféron alpha en cas de résistance caractéristique de la phase d'accélération.

## ***Discussion des résultats :***

La leucémie myéloïde chronique est une pathologie des cellules de la moelle osseuse, caractérisée par la présence d'un gène anormal (*BCR-ABL*) responsable de la synthèse d'une enzyme à forte activité tyrosine-kinase qui stimule de manière excessive la production des globules blancs en particulier les neutrophiles. Dans la présente étude, la *LMC* est réparti selon un certain nombre de critères détaillés au-dessus.

Le résultat obtenu lors de la répartition de la *LMC* selon l'âge est très hétérogène. En effet, le pourcentage de patients atteints de la *LMC* dans la tranche d'âge 30-40 ans est supérieur à celui de la tranche d'âge > 60 ans. Ceci est contradictoire avec les résultats de l'étude menée en 2000-2003 par Programme Surveillance, Epidemiology and End Results du National Cancers Institute, qui affirme que la fréquence de la *LMC* augmente avec l'âge, soit un peu moins de un cas sur 100000 jusqu'à environ 40 ans, près de deux cas sur 100000 à 55 ans et environ dix sur 100000 à 80 ans et plus. Howar M.R et al (2007) ont affirmé que la *LMC* est de faible incidence. De ce fait, cette contradiction peut être justifiée par le monocentrisme de l'étude et sa restriction sur les patients hospitalisés en médecine interne.

Notre étude a montré que la *LMC* touche préférentiellement les femmes avec un pourcentage de 62%. Ce résultat est contradictoire avec les travaux de Helman R (2007) qui montrent que la *LMC* est à prédominance masculine avec un sex-ratio de 1,4. Cette différence peut être due à la taille de la population étudiée et au manque des données consultées.

La *LMC* peut marquer dans certaines régions endémiques une association rare avec certaines infections opportunistes telle la leishmaniose viscérale. Pr. Zoulati G et al (2014) ont conclu que cette immunodépression est causée d'une part par l'hémopathie elle-même, et d'autre part par la chimiothérapie.

## Résultats et Discussion

---

Dans la partie concernant la symptomatologie clinique, la splénomégalie est présente dans 50 % des cas. Ce résultat concorde bien avec l'étude réalisée par Sebahoun G en 2004 et qui déclare que la splénomégalie est le signe clinique révélateur de l'hémopathie.

La répartition des patients selon la phase pronostic de la maladie a révélé que la majorité des patients se présentent au diagnostic en phase chronique avec un taux 63%, tandis que ceux qui ne sont diagnostiqués qu'en phase aigüe sont rares. Ces données sont similaires à celles de Bories D et al (2003) qui déclarent que 95% des patients sont diagnostiqués en phase chronique.

L'étude génétique a révélé la présence du chromosome *Ph* chez 92% des patients. En plus, elle a mis en évidence la présence d'une anomalie génétique surajoutée (trisomie 21) chez une patiente atteinte de la *LMC* en phase chronique. Cette affirmation justifie d'une part le résultat du Dr Lafage-Pochitalof M (2007) qui atteste que 5% des cas *Ph* positif sont complexe, et d'autre part elle permet de concorder les données de Sebahoun G qui déclare que l'étude cytogénétique ne permet que de confirmer le diagnostic. La distinction entre les différentes phases de la maladie repose sur l'examen biologique puisque la phase d'accélération sera elle-même associée à d'autres anomalies chromosomiques surajoutées.

Enfin le traitement de la *LMC* repose essentiellement sur la thérapie ciblée en particulier l'imatinib qui est un inhibiteur de la tyrosine kinase avec un pourcentage de 62%. Cependant Joho S (2009) a déclaré que cette thérapie n'est pas efficace en phase d'accélération qui est caractérisée par l'apparition d'autres mutations résultantes de l'augmentation l'instabilité génétique. Ceci justifie bien l'adjonction de l'interféron alpha à l'imatinib chez une patiente atteinte de la *LMC* en phase d'accélération résistante.

## Conclusion et Perspectives

---

La *LMC* est un syndrome myéloprolifératif. Elle atteint la moelle osseuse, qui est le site de production des cellules du sang, et correspond à l'expansion non contrôlée d'un certain nombre de cellules souches, et particulièrement les cellules myéloïdes, ce qui entraînent une augmentation importante de leur nombre dans le sang.

Au début, les médecins n'ont pas su traiter efficacement cette maladie. Les médicaments utilisés faisaient baisser les globules blancs, mais le chromosome *Ph* persistait dans la moelle osseuse des patients et l'évolution était finalement inéluctable vers la transformation aiguë en 3 à 5 ans, et le décès. Avec la découverte du chromosome et le transcrit du *BCR-ABL*, la *LMC* a témoigné une ère de révolution thérapeutique. De ce fait, certains patients ont pu voir une rémission cytogénétique complète, voire moléculaire. Ce résultat a fait émerger une nouvelle question : ***Comment peut-on définir la guérison, dans quelle mesure peut-on envisager l'arrêt du traitement et existe-t-il un profil clinique et moléculaire qui permettrait d'identifier cette possibilité ?*** Quesnel B (2010) démontre qu'il persistait des cellules souches leucémiques dans la moelle de patients qui étaient en arrêt de traitement depuis des années. ***Cela signifie-t-il qu'une « coexistence pacifique » est possible et que l'organisme est capable de vivre avec des cellules anormales, leucémiques, cancéreuses, qui n'entraînent aucun dommage ?***

Mieux comprendre la physiopathologie de cette maladie est la dernière question sur laquelle les chercheurs travaillent maintenant : La cassure d'un chromosome au niveau de la moelle et qui se réapparie avec un autre en constituant un nouveau gène est un événement d'une très grande violence au niveau cellulaire. ***Savoir pourquoi cela survient est une question qui reste encore sans réponse.***

# Bibliographie

---

1. Atul B et al. Hématologie. De Boeck, 2003.
2. Albert B et al. Biologie moléculaire de la cellule. Médecine science, 2011.
3. Bories D et al. Stratégies thérapeutiques et recommandations pour la prise en charge des patients atteints de leucémies myéloïde chronique. Hématologie 2003 ; 9,497-512.
4. Charles L et al. Chronic myeloid leukemia. The new England journal of medicine, 1999; 340:17.
5. Dumont J. Biologie moléculaire et biopsie médullaire dans la LMC. Hématologie, 2008;14:2.
6. Eaves AC et al. Unregulated proliferation of primitive chronic myeloid leukemia progenitors in the presence of normal marrow adherent cells. Proc Natl Acad Sci USA, 1986; 83:5306-10.
7. Geneviève D et al. Biochimie médicale: marqueurs actuels et perspectives. Chantal Arpino, 2008.
8. Guillot F. Diagnostic et traitement des hémopathies malignes comportant un réarrangement BCR-ABL. Hématologie, 1995;1 :133-144.
9. Guillot F et al. Interféron et hématologie .La revue de médecine interne, 2002 ; 23 :481-488.
10. Hehlman R et al. Chronic myeloide leukaemia. Lancet, 2007;370 :342-50.
11. Howar M.R et Hamilton P.J. Hématologie. Elsevier, 2004.
12. Joho S. Mécanismes de résistance aux inhibiteurs de tyrosine kinase sur le modèle de leucémie myeloïde chronique. Life sciences université du droit et de la santé –Lille II, 2009.
13. Klugw W et al .Génétique. Pearson, 2006.
14. Leguay T et al. Chronic myelogenous leukaemia. EMC-Hématologie, 2(3) :187-205.
15. Matason M.J et al. Incidence rates of the major leukemia subtypes among U.S. Hispanics, blacks, and non-Hispanics whites. Leukemia & lymphoma, 2006; 47:2365-2370.
16. Mestelsmann R et al. Précis d'hématologie et d'oncologie. Springer, 2011.
17. Nicolli F et al. Leucémie myéloïde chronique : Une prise en charge pour le sujet âgé. Société nationale française de médecine interne, 2005.
18. Merlin J.L. Les inhibiteurs de tyrosine kinase en oncologie. Lettre du pharmacologue ,2008 ; 22(2) :51-62.

# Bibliographie

---

19. Morère J.F et al. Thérapeutique du cancer. Springer-Verlag, 2011.
20. Junia V et al. Chronic myeloid leukaemia as a model of disease evolution in human cancer. Nature reviews cancer, 2007; 7:441-453.
21. Quesnel B. Dormance tumorale : Quiescence ou équilibre ? Hématologie, 2010 ; 5 :350-62.
22. Sebahoun G .Hématologie clinique et biologique. Arnette ,2004.
23. Ugo V. Les syndromes myéloprolifératifs : diagnostic, classification, marqueurs moléculaires, pronostic, complications et indications thérapeutiques. Médecine thérapeutiques, 2012 ; 2 :24-108.

## Sites d'internet consultés :

24. <http://www.arcagy.org>.
25. <http://www.cmlsociety.org>.
26. <http://www.cellbiol.net>.
27. <http://www.cancer.ca>.
28. [http://www.cmi.univ-mrs.fr/~pardoux/Eco ... lafage.pdf](http://www.cmi.univ-mrs.fr/~pardoux/Eco...lafage.pdf).
29. <http://www.hyperthermia.centre-hannover.com>.
30. <http://www.medsante.com>.
31. <http://www.med.univ-angers.fr>.
32. <http://www.mqzh.ch>.
33. <http://www.mycmlife.eu>.
34. <http://www.sfbc.asso.fr>.

## Cours :

35. Cours d'Inès masmoudi.PCEM2 2009-2010.

## Résumé :

La leucémie myéloïde chronique *LMC* est le syndrome myéloprolifératif le plus fréquent, représentant 15 à 20% de tous les cas de leucémie. Son incidence annuelle a été estimée à 1 à 1,5 cas pour 100 000 personnes. La maladie évolue typiquement en trois phases : une phase chronique, une phase d'accélération et une phase de leucémie aiguë ou crise blastique. La *LMC* est caractérisée par la présence d'un chromosome Philadelphie, anomalie résultant d'une translocation réciproque entre les chromosomes 9 et 22. Cette translocation entraîne la fusion des gènes *BCR/ABL* codant pour une tyrosine kinase constitutivement active.

Notre étude a concerné 16 patients atteints de la *LMC*, hospitalisés en médecine interne entre 2013 et 2014. Elle décrit la répartition de la leucémie myéloïde chronique selon certaines caractéristiques épidémiologiques et cliniques, la phase de la maladie, l'étude cytogénétique, et le traitement adéquat pour de cette hémopathie.