

REPUBLIQUE ALGERINNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE KASDI MARBAH OUARGLA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE VIE DE LA TERRE  
ET DE L'UNIVERS

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

En vue l'obtention de Diplôme de fin d'Etudes Supérieures en Biologie

Option: Biochimie

**THEME**

*Prévalence de la leucémie  
Myéloïde chronique dans la  
région d'Ouargla*

*Promoteur : Dr LAKHAL M<sup>ed</sup> AMINE  
Co-Promoteur: Dr MERAH MOSTAFA*

*Présenté par*

*M<sup>elle</sup> HALEM SOUMEIA*

*M<sup>elle</sup> OULED LAID KELTOUM*

*M<sup>elle</sup> ZITA KHADIDJA*

**Année universitaire 2008-2009**



# Dédicace

*Je remercie le Dieu de m'avoir accordé cette faveur a fin que j'ai pu continuer mes études, avec grand plaisir je dédie le fruit de mes études à mes chers parent qui ont tout fait pour m'aider à vivre cette joie de fin d'études supérieures.*

*A mes très chères sœurs : Noual et sa seul fille Rihab et Dahiba.*

*A mes chers frères : Hamid, Hameza, Abesse et Ahmed.*

*A mes grandes mères : Gazala et Oum El Kheire.*

*A mes oncles et tantes.*

*A tout ma grande famille OULED LAID*

*A mes trinômes : KHADIDJA et SOUMIA.*

*A mes copines de chambre : Hadda, Hamida, Mebarka et sur tout Khaira Attachi .et Nacira , Sara ,Noual,Keltoum.*

*A tout mes camarades de la proportion de biologie.*





# DEDICACE

*Je présent de tout mon cœur ce travail à tout ceux qui m'ont donné un coup  
de main de près ou de loin, sur tout mes chers parents.*

*A mon cher père pour sa tendresse de puis ma naissance et durant mes études.*

*A ma mère pour son soutien moral et lui souhaite un pèlerinage aux lieux soins.*

*A mes chers frères : Khalil et ses filles Chaima, Israe et la petite Maria et sa fils :  
Osama, Mohamed Yacine ; et Saïd et sa fil (Tahaa), Mohamed, Sofian et Fodail.*

*A mes chères sœurs : Salima, Hafsa, Houda.*

*A mes chères bonnes sœurs : Ourda et Kheira.*

*A tout ma grande famille « ZITA ».*

*Je n'oublie pas mes chères: Amin,*

*Naima, Hanan, Djamila, Elalia, Imberka, kheira,*

*Hamida, Sabah, Malika, Samira.*



## **Dédicace**

**Je présente de tout mon cœur ce travail à tout ceux qui l'ont  
donné un coup de main de près ou de loin,**

**Surtout mes chers parents,**

**A mon cher père, pour sa tendresse**

**Depuis ma naissance, et durant mes études,**

**A ma mère, pour son soutien moral,**

**Et lui souhaite un pèlerinage aux lieux saintes,**

**Aux mes frère Zouher, Ali, Aladine, youcef, Tayeb,**

**Abdelhaye.**

**A mon seul soeur Nesrine**

**A mon chérie Souad, K hadidja, et la petit K haled,**

**Monder, Abir.**

**A la mémoire de ma grand-mère maternelle et ma grands pères.**

**A mes camarade du département de biologie,**

**A mes amies et ma copines de chambres Laila, Hana,**

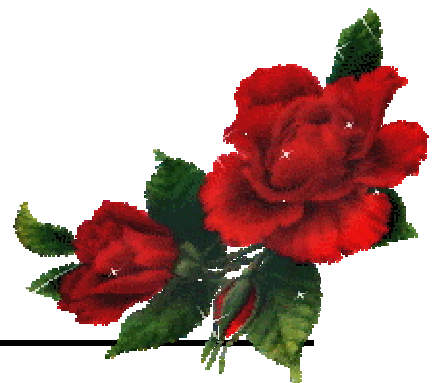
**Ourida, Saida, Sakina, Souad, Ghalia, Oumhani,**

**Amina.**

**A toutes les enseignements de l'université de kasdi Merbeh –**

**Ouargla- et toutes les étudiants.**

**Soumeïa**



## Résumé

Notre étude a pour l'objectif de connaître de la leucémie myéloïde chronique et rechercher son existence et prévalence dans la région de Ouargla.

L'étude bibliographique fait ressortir les principaux déséquilibres physiologique, cytogénétique et moléculaire, biochimique qui affectant les patients et entraînent par la prolifération incontrôlée des globules blancs prédominance lignée granuleuse .

L'enquête réalisée à l'hôpital Mohamed BOUDIAF de Ouargla a permis de recenser un nombre faible de cas, a été en régression en fait d'une prédominance de sexe masculin, il a été constaté aussi que ce type de maladie touche toutes les tranches d'âge ,surtout entre 40- 60 ans, exceptionnellement chez les enfants et adolescents, préoccupation de la population étrangère aussi que l'originaires . ce résultat est compatible avec l'approche épidémiologique de leucémie myéloïde chronique en Algérie (âge, sexe).

Les analyses effectuées au laboratoire ont permis de mettre en évidence l'augmentation du nombre de globules blancs précisément les granulocytes, et d'une présence des cellules immatures de la moelle osseuse dans le sang.

**Mots clés:** leucémie myéloïde chronique, globules blancs, granulocytes, cellules immatures, moelle osseuse.

## **Abstract**

Our study has for objective to know the chronic myeloid leukemia and seek its existence and prevalence in the region of Ouargla.

The literature review highlighted the key imbalances physiological, and molecular cytogenetics, biochemical that affecting patients and trained by the uncontrolled proliferation of white blood cell lineage predominantly granular.

The survey conducted at the hospital Mohamed BOUDIAF allows a Ouargla identify a small number of cases was declining in fact a predominantly male, it was seen that type of disease will affect all of the slices age, especially between 40 - 60, exceptionally in children and adolescents, the public concern that the foreign born. This result is consistent with the epidemiological approach to chronic myelogenous leukemia in Algeria (age, sex).

The analysis carried out laboratory allows underscored the increasing number of white blood cells specifically granulocytes and the presence of immature cells from bone marrow into the bloodstream.

**Keywords:** chronic myeloid leukemia, white blood cells, granulocytes, immature cells, bone marrow.

---

## الملخص

الهدف من الدراسة التي أجريت هو معرفة ابيضاض الدم النقيي المزمن وكذا البحث عن وجوده ومدى انتشاره في منطقة ورقلة .

الدراسة النظرية سمحت باستخلاص أهم الاختلالات الفسيولوجية, السيتوجينية, البيوكيميائية التي حدث عند المصاب والتي تؤدي إلى التضاعف الغير مسيطر عليه لكريات الدم البيضاء بالغالبية السالبة المحببة.

التحقيق الذي اجري بمستشفى محمد بوضياف بور قلة سمح بإظهار عدد ضعيف و متضائل مع غالبية الجنس الذكري, وقد لوحظ ايضا أن هذا المرض يصيب كل الفئات العمرية بين 40 - 60 سنة باستثناء الأطفال و المراهقين ويشغل السكان الأجانب و كذا الأصليين و هذه النتائج متوافقة مع المقاربة الوبائية لابييضاض الدم النقيي المزمن في الجزائر ( العمر, الجنس ) .

التحليل التي أجريت في المخبر أظهرت ارتفاع عدد كريات الدم البيضاء و بالتحديد المحببة منها مع وجود الكريات الغير ناضجة للنخاع العظمي في الدم .

**الكلمات الدالة:** ابيضاض الدم النقيي المزمن, كريات الدم البيضاء , المحببة, خلايا غير ناضجة, النخاع العظمي .

## Liste des tableaux

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
01	Résumé des éléments figurées du sang	10
02	Numération Formule Sanguine (NFS) ou Hémogramme chez l'adulte	14
03	Myélogramme normale	16
04	Les principaux transcrits de gène BCR-ABL	26
05	Les substrats de phosphorylation de protéine BCR-ABL	35
06	Résultats de l'enquête sur les leucémie myéloïde chronique	50
07	Incidence annuelle et globale de la LMC en Algérie	53

---



## Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	L'hématopoïèse	4
02	L'érythropoïèse : production des globules rouges	6
03	Genèse des plaquettes	6
04	Formation des leucocytes	8
05	Frottis sanguin représenté la myélémie de LMC au diagnostic	15
06	Myélogramme de LMC Noter les dysmorphies mégacaryocytaires et l'hyperplasie myélocytaire et granuleuse	16
07	Caryotype anormal montrant la Chromosome philadelphie	18
08	Représentation schématique de translocation t(9;22)	22
09	Mécanisme de translocation chromosomique t(9;22) et fusion des gènes BCR-ABL	24
10	Représentation schématique de point de cassure sur les gènes BCR-ABL	24
11	Hybridation in situ de la translocation chromosomique t(9;22) de la LMC (technique Fish en métaphase)	26
12	Hybridation in situ de la translocation chromosomique t(9;22) de la LMC (technique Fish en interfase)	26
13	Structure de la protéine ABL	30
14	Structure de la protéine BCR	30
15	Structure de la protéine p210 BCR-ABL	31
16	La voie de signalisation Ras	33
17	La Voie PI3Kinase	34
18	La voie de signalisation JAK-STAT	35
19	Prélèvement et centrifugation du sang	41
20	Réalisation du frottis sanguin	47
21	Evolution de LMC sur une période de 4 ans	50
22	Répartition des patients selon le sexe	51
23	Repartition des patients selon l'âge	51
24	Repartition des nouveaux cas de LMC par année	54
25	Repartition des patients selon le sexe	54
26	Repartition des patients selon les différentes tranches d'âge	55
27	Repartition géographique des patients	55

## Liste des annexes

<b>Annexe</b>	<b>Titre</b>
01	Technique d'hémogramme-automatique
02	Coloration automatique de frottis sanguin (héma-tek)
03	Phosphatase alcaline
04	Dosage d'acide urique

---

## Abréviation

- ABL : Antigène Binding Lymphocytes
  - ADN : Acide désoxy ribonucléique
  - ARN : Acide ribonucléique
  - BCR : Break Cluster Région
  - EDTA : Ethylène Diamine Tétra acétique
  - EPO : Erythropoïétine
  - CCMH : Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine
  - FISH: Fluorescence in situ par hybridation
  - HLA : Humain Leucocyte Antigene
  - Hte : Hématocrite
  - GM-CSF: Granuleuses Macrophages Colony Stimulating Factor
  - GTP : Guanosine triphosphate
  - GDP: Guanosine diphosphate
  - IL : Interleukine
  - JAK-STAT: Janus kinase- Signal Traducteur and Activateur of Transcription
  - Kb : Kilobases
  - LMC : Leucémie myéloïde chronique
  - M-BCR : Major - Break Cluster Région
  - m-BCR : minor -Break Cluster Région
  - m-BCR : micro- Break Cluster Région
  - NFS : Numération Formule Sanguine
  - NLS : Nuclear Localisation Signal
  - PCR : Polymérase chaine réaction
  - PH : Philadelphie
  - PI3Kinase : Phosphatidyl inositol triphosphate Kinase
  - P210 : Protéine 210
  - Q : Quencher
  - R : Reporter
  - Rb : Rétinoblastome
  - RT-PCR : Real Time - Polymerase chaine reaction
  - SCF : Stem Cellular Factor
  - STI : Signial Traduction Inhibition
  - TCMH : la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine.
  - TPO : Thrombopoïtine
  - Tyr : Tyrosine
  - Thr :
  - VGM : Volume globulaire moyenne.
-

## Lexique médicale

- Allogreffe : greffe pratiqué entre deux individus d'une même espèce génétiquement différent .
  - Autogreffe : greffe dans la quelle le greffon est prélevé sur le sujet elle même .
  - Anémie : diminution du taux de d'hémoglobine dans le sang .
  - Asthénie : diminution du pouvoir fonctionnel de l'organisme .
  - Cytokine : molécule secrète par un grand nombre de cellules (lymphocyte, macrophage )
  - Hémogramme : numération des cellules sanguines.
  - Hémorragie : écoulement de sang hors de vaisseaux sanguins.
  - Hépatomégalie : augmentation du volume du foie.
  - Hyperleucocytose : augmentation de nombre de globule blanc dans le sang.
  - Hyperplasie : augmentation du volume d'un tissu ou d'un organe.
  - Hyperuricémie : augmentation du taux d'acide urique dans le sang .
  - Hypochondre : région abdominale antérolatérale , située sous les cotes .
  - Interféron : substance de l'organisme dotée propriétés antivirale, anticancéreuse .
  - Leucémie : cancer du sang .
  - Myélémie : c'est la passage de cellules immature de la moelle dans le sang .
  - Myélogramme : examen des cellules de la moelle osseux .
  - Myéloïde : qui se rapporte à la moelle osseuse de polynucléaire et de leurs précurseurs.
  - Réticulocyte : globule rouge jeune.
  - Splénomégalie : augmentation du volume de rate.
  - Thrombopénie : affection caractérisé par abaissement de taux de plaquettes sanguines .
-

# SOMMAIRE

Introduction

## PARTIE I :Étude bibliographique de leucémie myéloïde chronique

### CHAPITRE I :Généralité

1-Généralités	04
1-1-Sang	04
1-2-L'hématopoïèse	04
a- Les cellules souche primitive	04
b- Les cellules souche "pluripotentes" (ou progéniteurs)	05
c- La cellule souche myéloïde	05
d- Formation du globule rouge (Erythropoïèse)	05
e- Formation des plaquettes (thrombopoëise)	06
f- Formation du granulocyte (granulopoïèse)	06
1-3-Fonction de différents éléments figurés du sang	09
1-3-1 Erythrocyte (les globules rouges)	09
1-3-2 Les Thrombocyte (plaquette)	09
1-3-3 Les leucocytes (globules blanc)	09
a-Leucocyte mononuclées	09
b- Granulocyte	09
1-4-Régulation de l'Hématopoïèses	11
1-4-1- Les facteurs de croissance médullaires	11
a. Les facteurs de promotion	11
b. Les facteurs "multipotents"	11
c. Les facteurs restreints	11

### CHAPITRE II: Expression clinique de Leucémie myéloïde chronique

1- Définition	13
2- Epidémiologie	13
3- Aspect clinique	13
3-1- Signes cliniques	13
3- 2 Les autres signes	13
4- Examen biologique	14
4-1- Hémogramme (NFS)	14
4-2- Frottis sanguin	15

---

4-3- Myélogramme	15
4.4. Biopsie médullaire	17
4-5- Test spécialisée	17
a- Le caryotype	17
b- Biologie moléculaire	18
c- Autres examen	18
5- Evolution de la LMC	19
5-1- Phase chronique	19
5-2- La phase d'accélération	19
5-3- La phase plastique ou transformation aigue	20

### CHAPITRE III Expression cytogénétique et moléculaire

1- Chromosome Philadelphie	22
1-1 L'oncogène "c-ABL	22
1-2- Le gène BCR	23
2- Mécanisme de translocation de chromosome Philadelphie	23
3- Analyse cytogénétique	25
3- 1-Caryotype	25
3-2-Le technique Fish (fluorescence in situ par hybridation)	25
4- Biologie Moléculaire	26
4- 1- transcrit de BCR ABL	26
4-2-PCR compétitive	27
4-3- PCR en temps réel (Real Time PCR)	27

### CHAPITRE IV Expression Biochimique

1. le protéine ABL	29
2- structure et fonction de protéine BCR	30
3-la protéine 210 <sup>bcr-abl</sup>	31
4-les voies affectées par protéine BCR-ABL (P210)	31
4-1-les protéines kinases	31
4-2-la voie Ras	32
4-3- La voie PI 3Kinase	33
4-4- La voie JAK/STAT	34

## PARTIE II:PARTIE EXPERIMENTALE

### CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES

1-Matériel	41
------------	----



1-2 Présentation de lieu d'étude	41
1-2 Matériel biologique	41
2- Méthodologie de travail	41
2-1 L'enquête	41
2-2 Analyse au laboratoire	41
2.2.1. Prélèvement du sang	41
2.2.2 Technique de FNS (Formule Numération Sanguin)	42
2.2.3 Frottis sanguin	46
2-3- Myélogramme	47
2-4 Les autres examens	48
2.4.1 Phosphates alcaline PAL	48
2.4.2. Acide urique	48
<b>CHAPITRE II: Résultats et discussions</b>	
<b>1. L'enquête</b>	<b>50</b>
1.1.1. Résultats	50
1.1.2. Discussion	56
<b>2. Analyse au laboratoire</b>	<b>58</b>
2.1.1. Résultats	58
2.1.2. Discussion	60
Conclusion générale	62
Références bibliographiques et électronique	64
Annexe	67

---

# ***Introduction***



**Introduction :**

La leucémie est une maladie qui concerne des cellules du sang. Dans le langage courant, ce type de cancer est aussi désigné comme le cancer du sang. Le terme de leucémie signifie littéralement "sang blanc" et provient du fait que le nombre de globules blancs (leucocytes) augmente, si bien qu'ils submergent les globules rouges. La leucémie est divisée en deux catégories, les myéloïdes et les lymphatiques. Elle évolue de différentes façons. C'est pourquoi les médecins font la distinction entre les formes chroniques et aiguës de la maladie (DUPIN *et al*, 2006). Il existe plusieurs types de leucémie et chaque type est provoqué par différentes causes.

Le choix de notre thème concerne l'étude de la leucémie myéloïde chronique (LMC).

La leucémie myéloïde chronique est une variété de syndrome myéloprolifératif prédominant sur la lignée granuleuse. Elle est caractérisée par une hyperactivité de la moelle osseuse aboutissant à une production exagérée de cellules sanguines. (SLIWKA *et al*, 1995).

C'est une maladie qui se voit avec un maximum de fréquence chez l'adulte jeune entre 20 et 40 ans, mais peut être observée à tout âge (SMAILI, 1999).

La leucémie myéloïde chronique qui est rare et peut être mortelle, ce qui conduit à poser la question suivante : quelle est la particularité de ce type de maladie et comment survient-elle ?

Est-ce qu'elle est bien diagnostiquée ? Afin de répondre à ces questions nous avons commencé notre étude par une recherche bibliographique sur les globules blancs du sang et son origine et les différents facteurs impliqués dans leur prolifération, puis une étude approfondie sur la leucémie myéloïde chronique et une étude expérimentale est réalisée au niveau de l'hôpital Mohamed BOUDIAF dans la région de OUARGLA pour rechercher des réponses aux questions précédentes.

---

## ***PARTIE I***

# ***Étude bibliographique de leucémie myéloïde chronique***

## ***CHAPITRE I***

# ***Généralité***

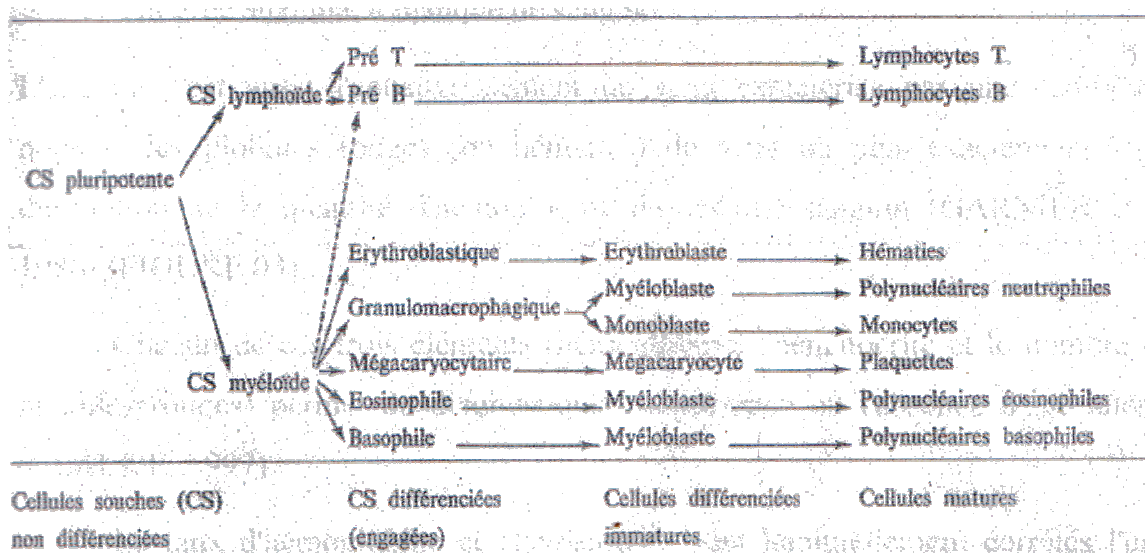
**1-Généralités:**

**1-3-Sang:**

Le sang est essentiellement un organe de transport au circulé dans une phase liquide (le plasma), la cellule mature du sang provenant de la moelle osseuse ou elles sont fabriquées (COLOMBAT *et al*, 1990).

**1-4-L'hématopoïèse:**

L'hématopoïèse est définie comme l'ensemble des mécanismes qui assure le remplacement contenue et régulé des différentes cellules sanguines, l'hématopoïèse chez l'homme adulte a lieu dans la moelle osseuse au niveau des cavités osseuse (sternum, cotes, vertèbres) (SCHAISON, 1995) dans le quelle se trouvent les cellules souches hématopoïétiques (LAURAIN, 2007) qui sont l'origine des différents systèmes cellulaires sanguines (SLIWKA, 1995).



**Figure 01 : Hématopoïèse (COLOMBAT *et al*, 1999).**

**a- Les cellules souche primitive:** Elles sont localisées dans la moelle osseuse mais certaines peuvent passer temporairement dans le sang. Elles ne représentent que 0.01 à 0.05% des cellules médullaires et ne sont identifiables morphologiquement. Elles sont, pour les plupart, en dehors du cycle cellulaire, en stade G0. Les cellules souche possèdent deux propriétés caractéristiques. Elles peuvent à la fois s'autorenouveler et se différencier.



- l'autorenouveau est une multiplication des cellules totipotentes sans différenciation. Cela permet maintenir intact le nombre de cellules souches primitives et donc de maintenir le potentiel de l'hématopoïèse.
- la différenciation est la capacité des cellules totipotentes, sous l'influence de facteurs de croissance, de se diviser et de s'engager, de façon irréversible, vers une ou plusieurs lignées. la cellule perd alors sa « totipotence » Pour devenir un « progéniteur » ou une cellule souche engagée (LAURINE, 2007).

#### **b- Les cellules souche "pluripotentes" (ou progéniteurs) :**

La première différenciation d'une cellule souche totipotente, après sa mise en cycle cellulaire de division, se fait soit vers la lignée lymphoïde qui produit les lymphocytes, soit vers la lignée myéloïde qui aboutit aux Polynucléaires. La cellule « totipotente » devient alors « pluripotente » ce qui veut dire qu'elle a perdu sa capacité de se différencier en n'importe quel type cellulaire (LAURINE, 2007).

#### **c- La cellule souche myéloïde:**

Cette cellule est appelée par les scientifiques « CFU-GEMM ». Chaque nom de « progéniteur » est défini par l'association d'un préfixe et de lettres représentant des abréviations anglaises.

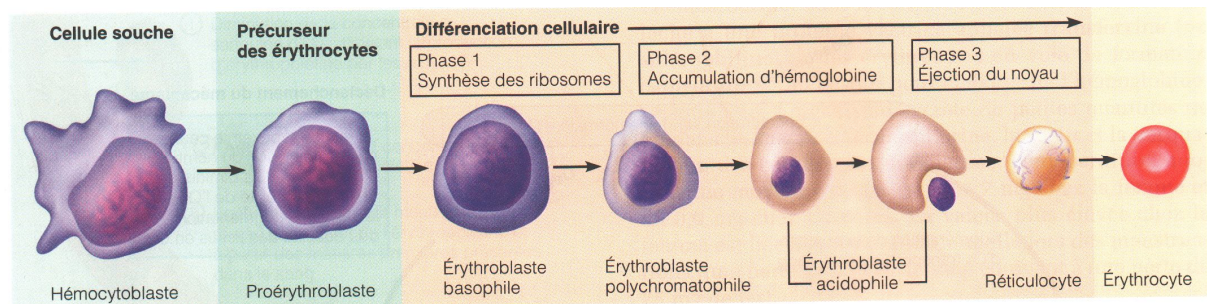
-Du préfixe CFU « Colony Forming Unit »

-De(s) lettre(s) qui caractérisent les lignées dont elles gardent le potentiel de différenciation, comme, par exemple : **GEMM**= Granuleuse, Erythrocytaire, Macrophage et Mégacaryocytes.

Cette cellule va poursuivre son programme de différenciation et donner naissance à des progéniteurs encore plus engagés (LAURINE, 2007).

#### **d-Formation du globule rouge (Erythropoïèse):**

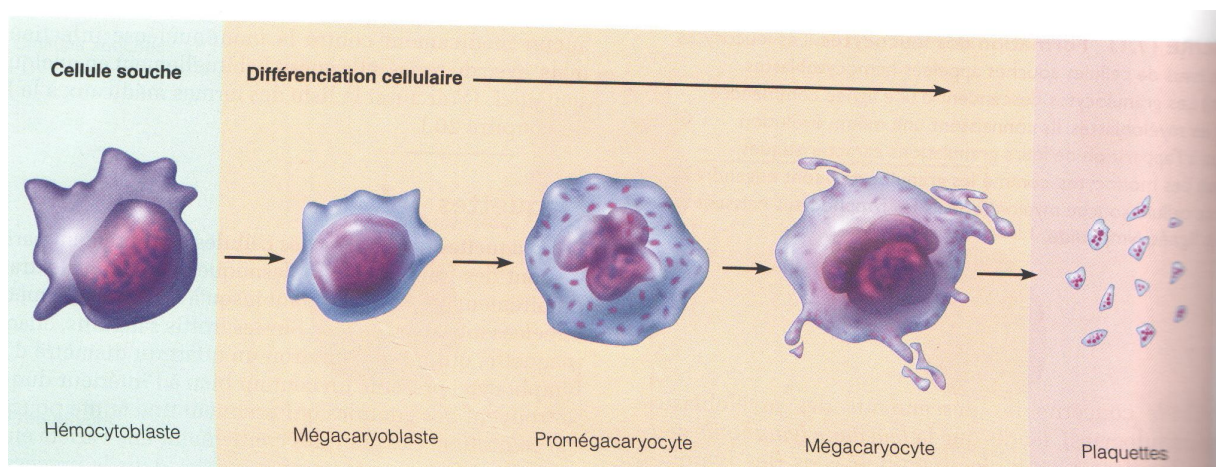
Est un processus de prolifération et de différenciation de précurseur de la moelle osseuse rouge. la production des érythrocytes, début lorsqu'un descendant de l'hémocytoblaste, la cellule souche myéloïde, se différencie en proérythroblaste, A son tour, celui-ci engendre un érythroblaste basophile puis transformé en érythroblaste polychromatophile puis en érythroblaste acidophile. Qui présente une concentration d'hémoglobine d'environ 34 %, il éjecte la plupart de ses organites. De plus, ses fonctions nucléaires cessent et son noyau dégénère. Le noyau est ensuite expulsé, ce qui cause l'affaissement de la cellule et lui donne sa forme biconcave. on a alors un réticulocyte, la transformation dure de trois à cinq jours et en fin donne un érythrocyte (voir figure2) (MARIEB, 2005).



**Figure 02 : L'érythropoïèse (production des globules rouges) (MARIAB, 2005).**

### e-Formation des plaquettes (thrombopoïèse):

La formation des plaquettes est régie par une hormone appelée thrombopoïétine. Les cellules dont les plaquettes descendent directement, les mégacaryocytes, sont issues de l'hémocytoblaste et de la cellule souche myéloïde, dans cette lignée il se produit des mitoses répétées du mégacaryoblaste qui donnent des cellules possédant un très grand nombre de bases de chromosomes (jusqu'à  $64n$ ). Des membranes compartimentent le cytoplasme du mégacaryocyte, puis la membrane plasmique se fragmente, libérant les plaquettes, ou thrombocytes (voir figure :03) (MARIAB, 2005).



**Figure 03: Genèse des plaquettes (MARIAB, 2005)**

### f- Formation du granulocyte (granulopoïèse):

La formation des polynucléaires on appelle également "granulocyte" car leur cytoplasme contient des granulations (COLOMBAT et al, 1990). Les myéloblastes représentent le premier stade différencié de la granulopoïèse qui va donner naissance aux promyélocytes caractérisés par leurs granulations azurophiles, appelées granulations primaires car elles apparaissent avant les granulations spécifiques. Comme nous l'avons vu plus haut, les granulations primaires sont simplement de volumineux lysosomes. Le stade suivant de la différenciation est le myélocyte marqué par le développement des granulations spécifiques, en passant par le stade

métamyélocyte jusqu'à la forme mature possèdent un noyau en forme de fer à cheval irrégulier ou parfois en anneau (**WH ETER et al, 2001**).les granulocytes, qu'ils soient neutrophiles, basophiles, eosinophiles.les monocytes, comme les granulocytes, sont engendrés par la cellule souche myéloïde, seuls les lymphocytes naissent de la ligne lymphoïde (figure :04) (**MARIEB, 2005**).

---



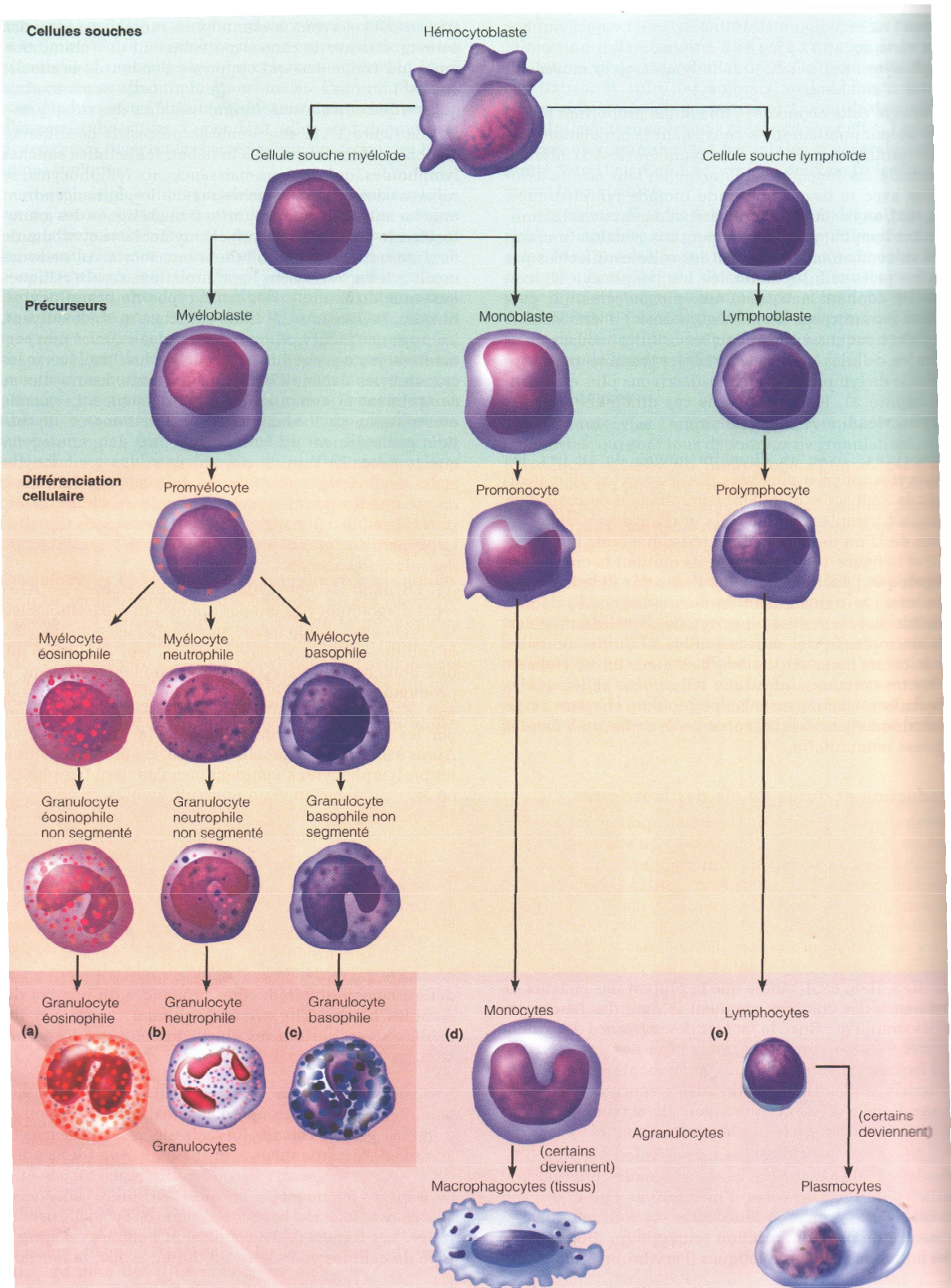


Figure 04 : Formation des leucocytes (MARIAB, 2005).

**1-3-Fonction de différents éléments figurés du sang :****1-3-1 Erythrocyte (les globules rouges):**

Elle circule dans le sang et exercent leur fonction essentiellement est transport d'O<sub>2</sub> au niveau des capillaire tissulaire et le transport du CO<sub>2</sub> vers les alvéoles pulmonaires (COLOMBAT *et al*, 1990).

**1-3-2 Les Thrombocyte (plaquette) :**

C'est une cellule sanguine sans noyau du sang qui joue un rôle important dans le phénomène de coagulation du sang et l'inflammation (MORIN, 1997).

**1-3-3 Les leucocytes (globules blanc):**

Ces cellules sont impliquée dans la défense de l'organisme contre les agents infectieuse, mais aussi contrôle la repense immunitaire (SLIWKA, 1995). Els se repartissent en fonction de leur forme et de leur granule cytoplasmique en:

**a-Leucocyte mononuclées :** sont les lymphocytes et monocytes

**b- Granulocyte:** possédant de nombreuses granulations, en fonction des propriétés des granules intracellulaire permettent distinguer trois types cellulaires:

- 1. Granulocyte neutrophile:** Sont les plus nombreux dans le sang (50 – 70% des globules blanc) exercent une fonction antibactériennes (EPINOSA et CAILLET, 2006).
  - 2. Granulocyte éosinophile:** Jouent un rôle dans la défense antiparasitaire, également comme inhibiteurs des processus anaphylactique en stoppant les effets des médiateurs chimique de l'allergie (THEML, 2000).
  - 3. Granulocyte basophile:** Leurs formes fixes tissulaires exercent surtout une fonction de régulation de l'inflammation par libération certain substance (Histamine) (THEML, 2000).
-










Cellule	Illustration	Description*	Nombre de cellules par litre de sang	Durée du développement (D) et de la vie (V)	Fonction
<b>Érythrocytes</b> (globules rouges)		Disques biconcaves, anucléés; couleur saumon; de 7 à 8 $\mu\text{m}$ de diamètre	De $4 \text{ à } 6 \times 10^{12}$	D: de 5 à 7 jours V: de 100 à 120 jours	Transport de l'oxygène et du gaz carbonique
<b>Leucocytes</b> (globules blancs)		Cellules sphériques nucléées	De $4,8 \text{ à } 10,8 \times 10^9$		
<b>Granulocytes</b>					
▪ Granulocytes neutrophiles		Noyau plurilobé; granulations cytoplasmiques difficilement visibles; de 10 à 12 $\mu\text{m}$ de diamètre	De $3 \text{ à } 7 \times 10^9$	D: de 6 à 9 jours V: de 6 h à quelques jours	Phagocytose des bactéries
▪ Granulocytes éosinophiles		Noyau bilobé; granulations cytoplasmiques rouges difficilement visibles; de 10 à 14 $\mu\text{m}$ de diamètre	De $0,1 \text{ à } 0,4 \times 10^9$	D: de 6 à 9 jours V: de 8 à 12 jours	Destruction des vers parasites et des complexes antigène-anticorps; inactivation de certaines substances chimiques allergènes associées à la réaction inflammatoire
▪ Granulocytes basophiles		Noyau lobé; grosses granulations cytoplasmiques bleu violet; de 8 à 10 $\mu\text{m}$ de diamètre	De $0,02 \text{ à } 0,05 \times 10^9$	D: de 3 à 7 jours V: ? (de quelques heures à quelques jours)	Libération de l'histamine et d'autres médiateurs chimiques associés à la réaction inflammatoire; contient de l'héparine, un anticoagulant
<b>Agranulocytes</b>					
▪ Lymphocytes		Noyau sphérique ou échancré; cytoplasme violacé; de 5 à 17 $\mu\text{m}$ de diamètre	De $1,5 \text{ à } 3,0 \times 10^9$	D: de quelques jours à quelques semaines V: de quelques heures à quelques années	Défense de l'organisme par l'attaque directe de cellules ou par l'entremise d'anticorps
▪ Monocytes		Noyau en forme de U ou de haricot; cytoplasme gris bleu; de 14 à 24 $\mu\text{m}$ de diamètre	De $0,1 \text{ à } 0,7 \times 10^9$	D: de 2 à 3 jours V: plusieurs mois	Phagocytose; transformation en macrophagocytes dans les tissus
<b>Plaquettes</b>		Fragments cytoplasmiques discoïdes contenant des granulations violettes; de 2 à 4 $\mu\text{m}$ de diamètre	De $150 \text{ à } 400 \times 10^9$	D: de 4 à 5 jours V: de 5 à 10 jours	Réparation des petites déchirures des vaisseaux sanguins; coagulation

Tableau : 01 Résumé des éléments figurés du sang (MARIEB, 2005).



## **1-4-Régulation de l'Hématopoïèse:**

### **1-4-1- Les facteurs de croissance médullaires:**

Les facteurs de croissance hématopoïétiques sont des substances (glycoprotéines) agissant comme des hormones, tous les facteurs des croissances sont synthétisés par un grand nombre de cellules présentes dans divers organes: cellules endothéliales, fibroblastes, monocytes, macrophages, lymphocytes. Elles portent aussi le nom de « cytokines » et pour celles synthétisées par les lymphocytes, de lymphokines et "Interleukine", (IL). Ces "cytokines" reconnaissent leurs cellules cibles par l'intermédiaire de récepteurs membranaires spécifiques. Selon leur lieu d'application ou cours de l'hématopoïèse, il existe trois grands types de facteurs de croissance : **(LAURINE, 2007)**.

#### **a. Les facteurs de promotion:**

Se sont principalement des "cytokines" comme l'interleukines 1 (IL-1) ,l'IL-4 , l'IL-6 et le facteur de croissance médullaire **SCF (Stem Cellular Factor)** .les facteurs de promotion augmentent le nombre de cellules souches en cycle cellulaire et sensibilisent les cellules souches "totipotentes" à l'action des autres facteurs de croissance.

#### **b. Les facteurs "multipotents" :**

Ce sont principalement l'Interleukine 3 (IL-3) et le facteur de croissance des cellules Granuleuses et des Macrophages : **GM-CSF (CSF pour Colony Stimulating Factor)**. Ces facteurs agissent sur les cellules souches les plus immatures après sensibilisation par les facteurs de promotion, Ils permettent la survie et le mûrissement (différenciation) des cellules souches **(LAURINE, 2007)**.

#### **c. Les facteurs restreints:**

Ils agissent sur les cellules "progéniture" et favorisent la multiplication cellulaire et la maturation des précurseurs:

- Le "**G-CSF**" permet la maturation des polynucléaires neutrophiles.
  - Le "**M.CSF**" permet de la maturation des monocytes.
  - L'Interleukine 5 "**IL-5**" permet la maturation des polynucléaires éosinophiles.
  - l'Interleukine 4 "**IL4**" permet de la maturation des polynucléaires basophiles.
  - L'Interleukine 6 "**IL6**" et la thrombopoïétine (TPO) permettent la maturation de mégacaryocytes qui donnent naissance aux plaquettes.
- Erythropoïétine (EPO) stimule la production de globules rouges **(LAURINE, 2007)**.
-

## ***CHAPITRE II***

# ***Expression clinique de Leucémie myéloïde chronique***

### **1- Définition:**

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est une prolifération maligne monoclonale de cellules souches myéloïdes. Elle résulte de la transformation néoplasique d'une cellule souche hématopoïétique pluripotente. Elle est caractérisée par une forte augmentation des cellules granulocytaires et la présence de formes immatures dans le sang (**LEWALLE et MARTIAT, 2003**).

Elle est dite "myéloïde" car ce point de départ est la prolifération d'une cellule souche différenciée de la moelle osseuse "pluripotente" qui acquiert un chromosome anormal appelé "chromosome Philadelphie" (**LAURINE, 2007**).

### **2- Epidémiologie:**

La Leucémie Myéloïde Chronique est une maladie rare, pouvant se manifester à tout âge, est typiquement une maladie de l'adulte (médiane de survie entre 45 et 50 ans) et sa fréquence augmente avec l'âge. Son incidence annuelle globale est de 1 à 2/ 100.000 personnes pour l'ensemble de la population ; en dehors de l'exposition aux radiations ionisantes aucun autre facteur de risque ; (**LEWALLE et MARTIAT, 2003**).

Elle est exceptionnelle chez les enfants. Elle se voit principalement chez l'homme: le ratio est proche de deux hommes pour une femme.

Environ 600 nouveaux cas par an en France (**LAURINE, 2007**).

### **3- Aspect clinique:**

#### **3-1- Signes cliniques:**

Il peut être strictement normal mais peut mettre en évidence le signe clinique majeur: une splénomégalie de volume variable rarement très volumineuse pouvant être responsable de pesanteur abdominale (**THIERRY et GUILHOT, 1999**).

La maladie peut être découverte lors d'un examen systématique, soit clinique, soit hématologique.

Les signes cliniques les plus fréquents sont; une asthénie, un amaigrissement modéré, sensation de pesanteur de l'hypochondre gauche, une douleur abdominale, une tendance aux hémorragies (hémorragies muqueuses) (**SMAILI, 1999**).

#### **3- 2 Les autres signes:**

- L'hépatomégalie est retrouvée dans la moitié des cas mais de volume modéré avec des fonctions hépatiques normales, douleurs osseuses surtout au niveau du sternum peuvent être spontanées ou plus souvent provoquées par la pression les ganglions sont presque toujours normaux ou de volume modeste (inférieur 1cm). (**SMAILI, 1999**).

Une fièvre modérée aux alentours de 38°C peut être notée (**ANONYME, 1977**).

---

#### 4- Examen biologique

##### 4-1- Hémogramme (NFS):

Numération sanguine chez l'adulte également appelé hémogramme a lui seul permet dans la majorité des cas de poser le diagnostic de LMC.

La numération des globules blancs révèle une hyperleucocytose considérable, en règle comprise entre 100.000 et 300.000 leucocytes est fait d'une augmentation des polynucléaires neutrophiles dont le pourcentage n'est cependant que de 30 à 50%. La basophilie est très caractéristique de la maladie et une éosinophilie est possible (**THIERRY et GULHOT, 1999**).

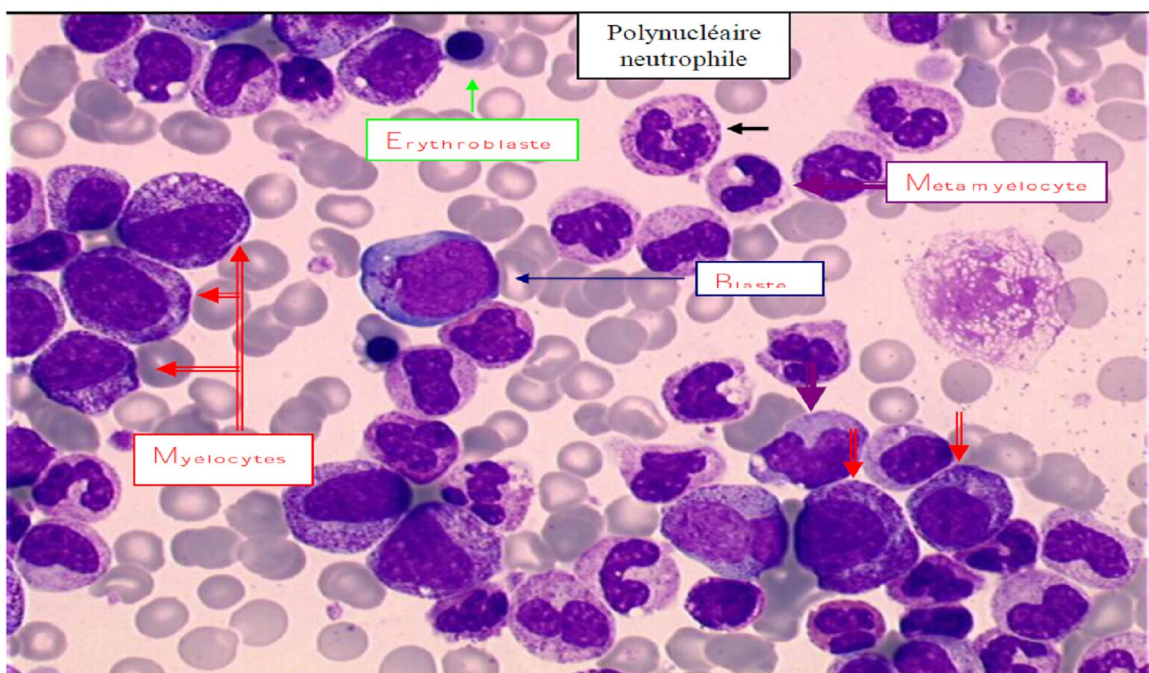
Les plaquettes sont normaux par fois on retrouve une hyperplaquettose (400.000 à 600.000/mm<sup>3</sup>); la thrombopénie est rare (**SMAILI, 1999**). (Tableau 2)

	Unite	Homme	Femme
Hematie	10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	4,5 -6,5	3,8 -5,8
Hémoglobine	g/dl	13 - 18	11,5 -16,5
Hematocrite	%	40 - 54	37 - 47
VGM	Um	75 - 95	
TCMH	Pg	27 - 32	
Plaquette	10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	150 - 500	
Leucocytes	10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	4-11	
Polynucleaire neutrophile	10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	1,5 - 4,0	
Polynucleaire esionophile	10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	< 0,5	
Polynucleaire basophile	10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	< 0,1	

**Tableau 02 : Numération Formule Sanguine (NFS) ou Hémogramme de l'adulte (SLIWKA et al, 2001)**

#### 4-2- Frottis sanguin:

Cette analyse des frottis au microscope reste capitale dans tous les cas Pathologiques, notamment en cas de numération globulaire anormale ou chaque fois que l'appareil donne des alarmes. Elle permet la vérification de l'analyse différentielle leucocytaire, et l'identification des cellules pathologiques de façon plus précise que celle effectuée par les appareils. Elle permet aussi une appréciation qualitative des anomalies morphologiques éventuelles des hématies et des plaquettes. La morphologie des éléments sanguins est étudiée après étalement du sang sur lame de verre. La « formule sanguine » est le pourcentage de chaque catégorie de leucocytes, obtenu après Coloration panoptique des frottis sanguins et observation microscopique (ZITTOUN *et al*, 1992).



**Figure 05: Frottis sanguin représenté la myélémie de LMC au diagnostic (BERTHOU, 2004)**

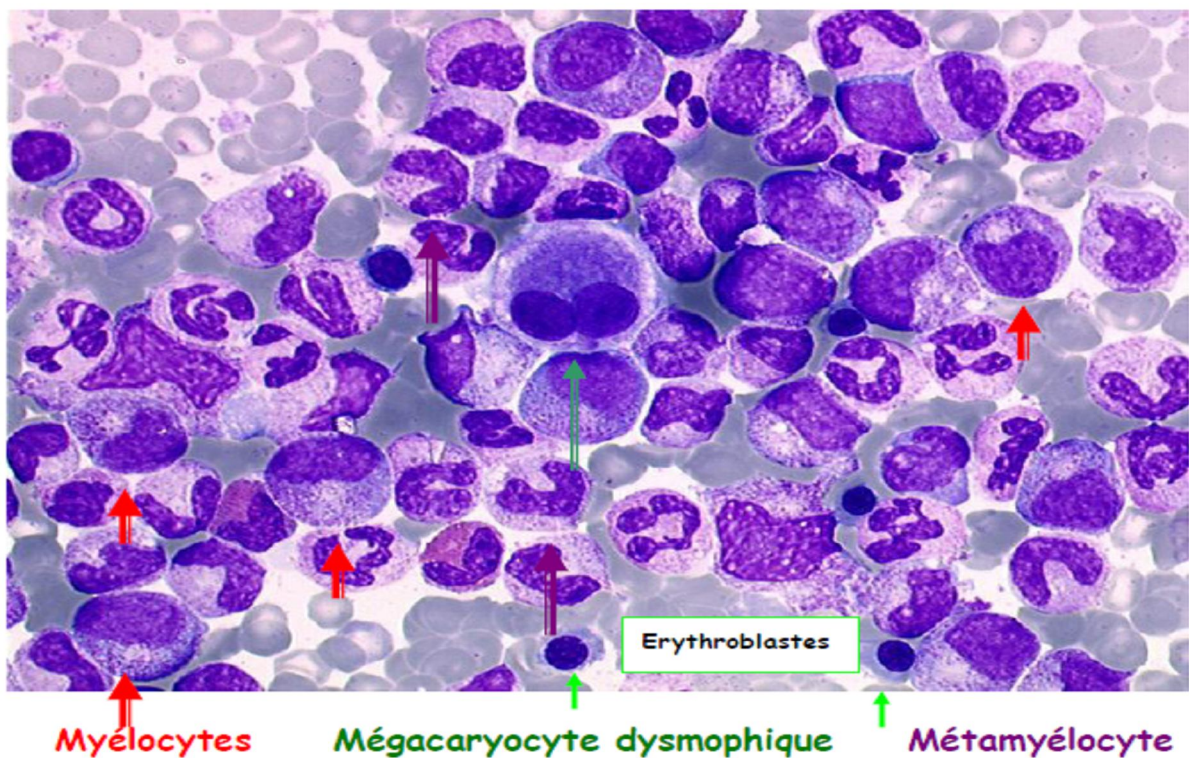
#### 4-3- Myélogramme:

Il n'a guère d'intérêt pour de diagnostic dans les formes typique (Splénomégalie + hyperleucocytose importante + myélémie) ou il ne fait que confirmer l'hyperplasie granuleuse (figure :06).

Lors de la ponction l'os est de dureté normal les érythroblastes sont très diminuées la série granuleuse représente 80 à 90% des cellules. Les mégacaryocytes sont en nombre élevé dans les formes atypiques en particulier lorsque la leucocytose reste modérée supérieure de  $50.000/\text{mm}^3$  avec myélémie discrète (SMALLI, 1999). (Voir tableau 03 ), ( figure 06).

Les cellules	pourcentage
cellule souche	0 à 3%
Erythroblastes	7 à 32 %
myéloblaste	0 à 5%
promyéloblaste	1 à 8%
myélocytes neutrophile	5 à 19%
myélocytes eosinophile	0 à 3%
myélocytes basophile	0 à 0,5%
métamyélocyte	13 à 32%
polynucléaire neutrophile	7 à 30 %
polynucléaire éosinophile	0 à 0,7 %
mégacaryocyte	variable

**Tableau 03: Myélogramme normale (BLACQUE A ; 1995)**



**Figure 06 : Myélogramme de LMC. Noter les dysmorphies mégacaryocytaires et l'hyperplasie myélocytaire et granuleuse (BERTHOU, 2004).**



#### **4.4. Biopsie médullaire:**

Examen qui a pour but de prélever un fragment de "moelle rouge" pour étudier la structure de la moelle hématopoïétique et le stroma médullaire. (VARET ,1997)

Elle se pratique, en milieu spécialisé, avec un trocart qui permet de découper un petite fragment osseux dans l'épine iliaque postéro supérieure, sous anesthésie locale, son principal mérite est de permette une étude histologique de la moelle non dilacérée comme elle l'est sur le myélogramme par l'aspiration et la confection du frottis, de la moelle, mais moins bien que la morphologie cellulaire, en pratique c'est un examen spécialisée complémentaire du myélogramme (LEVY et al ,2004).

#### **4-5- Test spécialisée:**

##### **a- Le caryotype:**

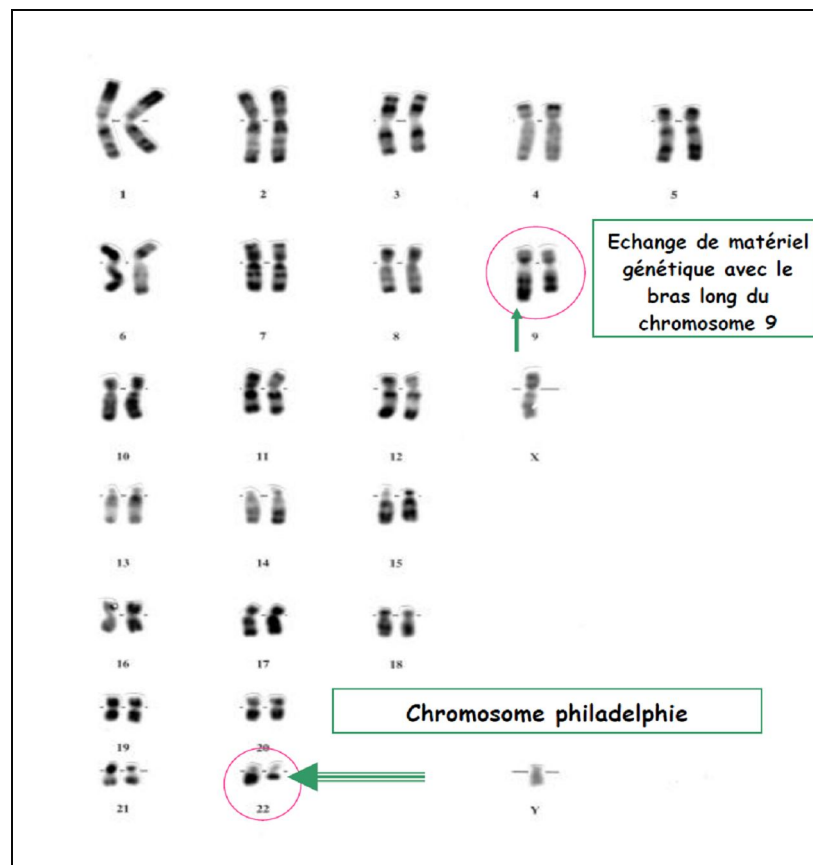
Sur prélèvement de sang si myélémie nette si non sur prélèvement médullaire (ZANDECKI, 2007).

Un caryotype est l'établissement de la carte chromosomique des chromosomes humains, pour ce faire on cultive les cellules granuleuses de votre moelle osseuse du myélogramme.

À la bonté d'une durée précise, on bloque leur croissance par la colchicine. On fait ensuite éclater les cellules et l'on étale les chromosomes qui sont colorés. Par différentes techniques (LOURAINE, 2007).

Le but est le rechercher la présence d'un chromosome de Philadelphie. Ce chromosome anormal; se voit chez plus de 90% des patients atteint par la maladie (LOURAINE, 2007).

---



**Figure 07: Caryotype anormal montrant la Chromosome philadelphie ( BERTHOU, 2004 )**

### **b-Biologie moléculaire:**

Actuellement l'étude cytogénétique est complétée par des technique moléculaires, en particulier le **Southern blot** le diagnostic est facilement retenu sur la présence du chromosome Philadelphie ou par la mise en évidence d'un arrangement chromosomique par de technique moléculaire (**THIERRY et GUILHOT, 1999**).

### **c-Autres examen :**

Le score des phosphatases alcalines leucocytaires (activité cytochimique des polynucléaires neutrophiles) s'effondre dans la leucémie myéloïde chronique en phase chronique (**THIERRY et GUILHOT, 1999**). Les valeurs normales pour 100 granulocytes sont comprises entre 60 et 80)

Une hyper uricémie est habituelle, elle peut se majeur au moment du traitement initial

Les transcobalamines (I surtout) et La vitamine B12 sont élevées, en relation avec hyper leucocytose (**LYCEE et NARBONNE, 2004**).



## 5- Evolution de la LMC:

La leucémie myéloïde chronique est une maladie divisée en 3 phases à savoir la phase chronique la phase intermédiaire d'accélération toujours suivie d'une phase aigüe. Ces différentes phases sont associées à différents symptômes caractéristiques qui peuvent être diagnostiqués par diverses techniques (**Dupin et al, 2006**).

### 5-1- Phase chronique:

La phase chronique de LMC est caractérisée par une prolifération excessive et une accumulation des granulocytes et de leurs précurseurs dans la moelle et le sang de façon habituelle de chiffre des globules blancs est élevé, souvent supérieur à 200.000 par  $\text{mm}^3$ . À ce stade les myéloblastes sont inférieurs à 5% dans le sang et la moelle osseuse (**HARISON, 1988**).

Cette première phase de la maladie dure de 4 à 5 ans les signes cliniques sont rarement présents et le diagnostic est souvent fait à l'occasion d'une prise de sang systématique pour autre chose plus rarement les patients peuvent présenter

- Une altération de l'état général avec de la fatigue une perte de poids ou plus rarement une fièvre et des sueurs.
- Une augmentation de la taille de la rate (splénomégalie) par fois responsable de troubles digestifs, et de douleurs dans le ventre. Ces signes en rapport avec un très grand nombre de globules blancs (**LOURAINE, 2007**), repartissent en:
  - ✓ Blastes >15% (le sang); ou > 5% (la moelle)
  - ✓ Polynucléaire basophile >7% (sang) ou >3% (moelle)
  - ✓ Plaquette >700.10<sup>9</sup>  $\text{dm}^3$  (**LYCEE et NARBONNE, 2004**).

### 5-2- La phase d'accélération :

C'est la phase intermédiaire entre la "phase chronique" et la "phase aigüe" sa durée est de 12 à 18 mois en moyenne (**LOURAINE, 2007**).

Elle est marquée par l'augmentation du volume splénique (**BERGERAT et al 1996**). De plus on note la persistance des sueurs nocturnes. Ainsi qu'un amaigrissement de plus en plus important malgré le traitement quant au nombre de leucocytes il est de plus en plus important et induit une diminution significative du taux de globules rouges expliquant l'anémie on remarque également que le taux de blastes augmente d'environ 5% par rapport à la phase chronique (**DUPIN et al, 2006**).

Réapparition d'une myélémie comprenant:

- Blastes >15 % ou blastes + promyélocytes: >30% (sang) ou myéloblastes >10%
-

- Basophiles >20% (sang)
- plaquette < 100 .10<sup>9</sup>/dm<sup>3</sup> (LYCEE et NARBONNE, 2004).

### 5-3- La phase plastique ou transformation aigue :

Cette phase, souvent appelée crise blastique est caractérisée par les mêmes symptômes que précédemment, ce pendant, on constate que le taux de blastes a continué d'augmenter pour atteindre un taux supérieur à 30% (voir Figure) (DUPIN *et al.* 2006).

La blastose dépassé 30% dans le sang, et 20% dans la moelle. La nature de ces blaste est majoritairement granuleuse, mais peut porter sur d'autres lignées, en particulier lymphoïde B le pronostic est particulièrement sévère et la survie courte quelles que soient les modalités de traitement (BERGEAI *et al.* 1996).

La transformation aigue est observée dans la plupart des cas après un délai très variable, en moyenne de quatre ans ; parfois après un délai beaucoup plus court, de quelques mois ; dans d'autres cas très tardivement : 20% des malades traités ont une survie supérieure à disc ans. L'évolution est défavorable même en l'absence d'une telle transformation plastique, du fait d'autres complications de myélofibrose d'insuffisance médullaire (ZITTOUN *et al.* 1992).

## ***CHAPITRE III***

# ***Expression cytogénétique et moléculaire***

Le plus de 95% de patient atteint de LMC on un marquer chromosomique unique et caractéristique retrouve dans la métaphase de cellules médullaires (cellules souche myéloïdes) il s'agit le chromosome Philadelphie (Ph) (**HARRISON, 1988**).

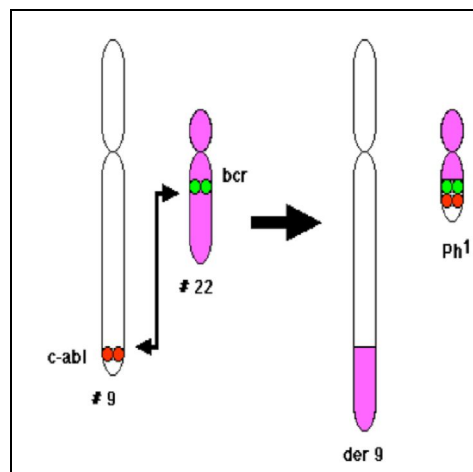
### 1- Chromosome Philadelphie:

Le chromosome Philadelphie, décrit en 1960 et initialement considérée comme chromosome minute, puis une délétion du chromosome 22 représente l'un des meilleur exemples d'anomalie de caryotype associe à un cancer chez l'homme (**ANDRIEU, 1997**).

Cette anomalie chromosomique, est acquise, est due à un mauvais « translocation » lors de la division cellulaire. Cette translocation réciproque se produit entre les grand bras de chromosome 22 et 9, cette aberration chromosomique est décrite par le scientifique par la formule  $t(9.22)(q34-q11)$ .

Dont les points de cassure se situent:

- sur le chromosome 9 au niveau de l'oncogène abelson " c- ABL" localisé en position "9q34".
- sur le chromosome 22 au niveau des gènes BCR (Break- cluster- Régie – région du groupe de cassure) qui positionnée sur "22q11" (**voir figure 08**) (**LAURINE, 2007**).



**Figure 08 : Representation shematique de translocation  $t(9, 22)$ ( BERTHOU, 2004 )**

#### 1-1 L'oncogène "c-ABL":

L'oncogène cellulaire c – ABL (Antigène Binding Lymphocytes) normalement situe sur le bras long de chromosome 9 (**THIERRY et GUILHOT, 1999**). Localisé en position "9q34".

Son nom dérive de son homologue viral le gène Abelson (v-ABL) responsable d'une leucémie chez la souris. (ANDRIEU, 1997)

L'oncogène sont des gènes cellulaires normaux indispensables qui intervient à des étapes bien précis de la prolifération cellulaire normale au développement embryonnaire, l'altération de régulation et de leur activité en quantité à la qualité sera à l'origine de l'anomalie pouvant conduire à un cancer. (HOERNI, 1998).

Le gène ABL normale est hautement conservé dans l'évolution; et d'une taille approximative de 230 kb, il contient au moins onze exons et donne naissance à une protéine 145 kd (P145c-ABL) (ANDRIEU, 1997).

### **1-2- Le gène BCR :**

Le gène BCR (Break – Cluster Région) positionnée sur le bras long du chromosome 22 a été découvert en clonant une région appelée M-BCR "Major- Break point cluster Région" au lieu la majorité de point de cassure dans le cas de LMC (leucémie myéloïde chronique) (LAURAIN, 2007), ceci réserve la domination de m-BCR (minor) aux zones de cassure proximales voisines (ANDRIEU, 1997).

Le gène BCR normal a une taille moyenne de 90Kb, bien qu'il ait été cloné et séquencé, sa fonction demeure inconnue, il semble exprimé dans tout les tissus, y compris le cerveau, rein, foie foetal, sa traduction fournit une protéine de 160 kDa (ANDRIEU, 1997).

### **2- Mécanisme de translocation de chromosome Philadelphie:**

La translocation réciproque est un échange de matériel génétique entre deux chromosomes non homologues après cassure sur chacun des chromosomes impliqués, cet échange accompagne d'une perte de matériel génétique (ZADA *et al*; 2006).

La cassure sur le chromosome 22 est localisée dans la région extrêmement limitée (5.8kb), contient 4 exons, appartenait à un gène dont la fonction n'est pas élucidée ; sont la région de M- BCR (major break, cluster région) et au gène dont occupe la partie médiane de celui de BCR (ANDRIEU, 1997).

La translocation juxtapose d'une partie du gène BCR du chromosome 22 et l'oncogène Abelson c-ABL située sur le chromosome 9, le point de cassure sont regroupés entre Ib et la sur ABL et la région de M-BCR est majoritairement impliquée dans la leucémie myéloïde chronique, le transcrite est le b3 a2 (60% des cas de LMC) au b2 a2 (35% des cas) (on parle de la transcrite M- BCR pour major BCR), on peut trouver les 2 transcrits chez 5 -10 % des patients atteints.

La région M-BCR (micro- BCR) est impliquée dans < 0.1% des LMC le transcrite est e19a12 qui produit de P230 ; la conservation de cadre de lecture permet de la synthèse

---

d'ARN messagers hybrides dite chimérique comportant des séquences BCR en 5' et en 3' (LOURAINÉ, 2007).

La transcription du gène chimérique BCR – ABL produit une protéine chimère (P 210 KDa) qui modifie le processus de la production de cellule du sang (ZADA *et al*, 2006).

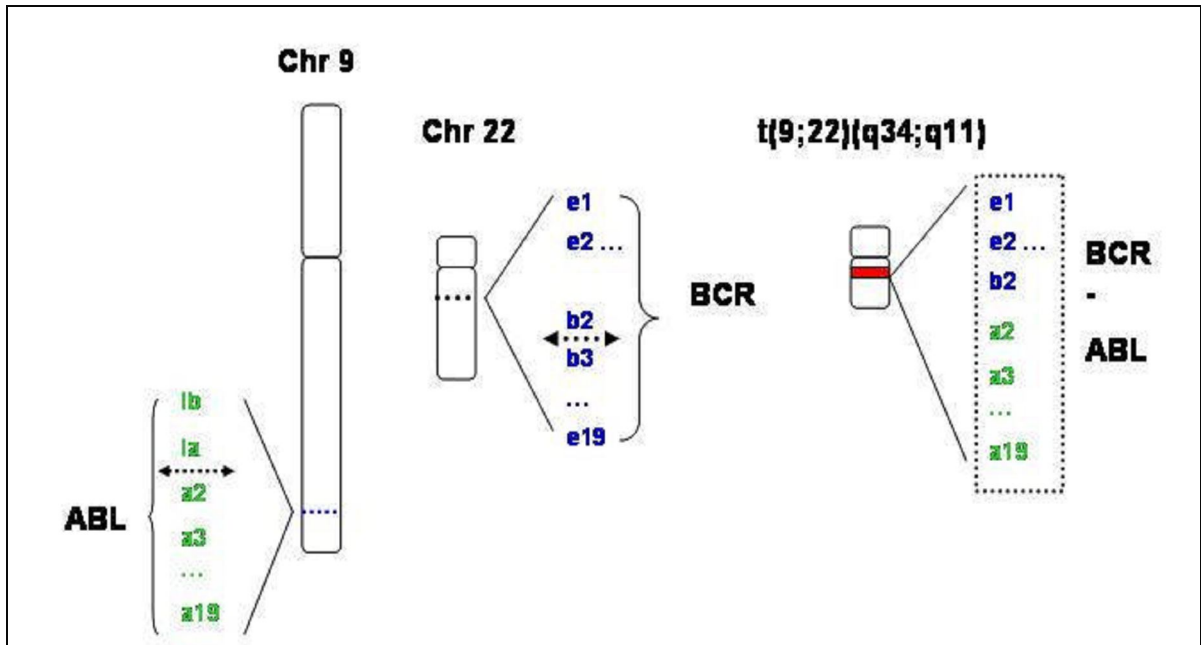


Figure 09 : Mécanisme de translocation chromosomique t (9 ; 22) et fusion des gènes BCR-ABL (ZANDECKI, 2007).

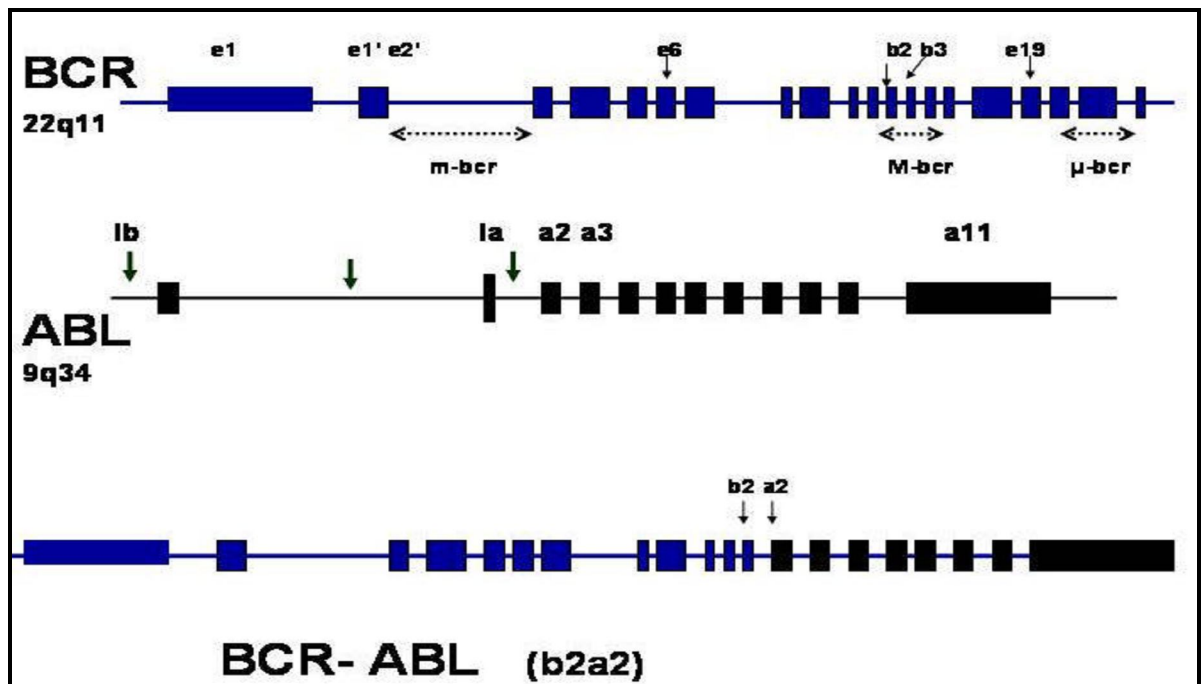


Figure 10 : Représentation schématique de point de cassure sur les gènes BCR-ABL (ZANDECKI, 2007)

**3- Analyse cytogénétique:**

Le diagnostic posé par la mise en évidence des caractéristique précédant doit être confirme, par la mis en évidence de l'anomalie chromosomique spécifique, le chromosome Philadelphie le transcrite chimérique BCR-ABL, et la protéine de fusion BCR-ABL sont caractéristique de leucémie myéloïde chronique, le chromosome Philadelphie est considéré comme des forme particulière des translocations variante, est conservé lors de la transformation aigue (**LYCEE et NARBONNE, 2004**).

**3- 1-Caryotype :**

L'examen qui a pour le but d'étudier les anomalies des chromosomes, le prélèvement se fait généralement au niveau de la moelle, mais aussi il peut être fait au niveau du sang si les cellules se divisent suffisamment. (**VAERT ,1997**)

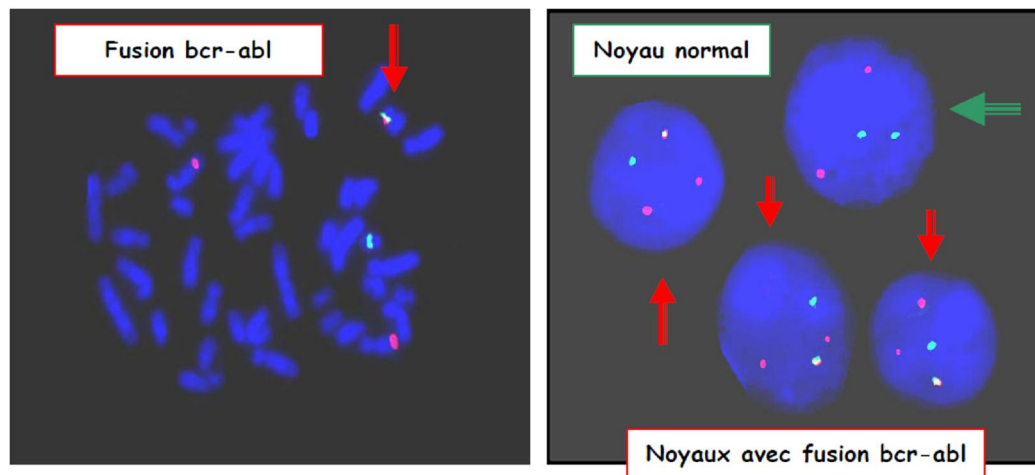
Après un choc hypotonique, les chromosomes sont colorés par la quinaire permettant d'observer des bonde Q soit par le Giemsa pour obtenir des bande G, soit par dénaturation par la chaleur pour obtenir des bandes reverses au R but est le rechercher la présence d'un chromosome de Philadelphie. (**VAERT, 1997**).

L'obtention des bandes R et Q permet dans 95% des cas de reconnaître l'anomalie chromosomique caractéristique : translocation t (9;22) (q34q11) aboutit morphologiquement l'observation d'un chromosome 22 amputé des 2/3 distaux au niveau des bras longue (ce chromosome est appelé le chromosome Philadelphie). Et d'un chromosome 9 dont les bras longs sont légèrement plus long que le de sont homologue normal (**LYCEE et NARBONNE, 2004**)

**3-2-Le technique Fish (fluorescence in situ par hybridation)**

Les sondes spécifique BCR et ABL out été choisies en fonction de leur position par rapport au point de cassure .le diagnostic repose alors sur la fusion des spots du 9 et 22 sur le chromosome Philadelphie. Cette recherche ciblée peut s'appliquer sur le chromosome métaphasique mais aussi interphasique, c'est-à-dire sur le noyau cellulaire (voir figure 11) (**LYCEE et NARBONNE ,2004**)

---



**Technique FISH en métaphase**                      **Technique FISH en interphase**  
**Figure 11 : Hybridation in situ de la translocation chromosomique t (9 : 22) de la LMC (BERTHOU, 2004).**

**4- Biologie Moléculaire:**

**4- 1- transcrit de BCR ABL:**

Les différents transcrits de fusion sont générés par des points de cassure qui varient sur le gène BCR et ABL. La majorité de ces cassures surviennent dans les régions introniques, cette grande variabilité empêche une détection aisée à partir de l'ADN génomique. En revanche, après épissage des introns, les brins d'ARN sont aisément détectables à l'aide d'un couple d'amorce nucléotidiques. Les principaux transcrits mis en évidence (sont présentés dans le tableau 03)

Exon BCR	Exon ABL	ARNm hybride	Protéine		
e13	a2	e13a2	P210	Fréquent	LMC
e14	a2	e14a2	P210	Fréquent	LMC
e13	a3	e13a3	P210	Rare	LMC
e14	a3	e14a3	P210	Rare	LMC
e19	a2	e19a2	P230	Rare	LMC-PN*
e1	a2	e1a2	P190	Rare	LMC-Mono**
e6	a2	e6a2		Très rare	LMC

\* Leucémie Myéloïde Chronique à Polynucléaires Neutrophiles  
 \*\* Leucémie Myéloïde Chronique avec Monocytose

**Tableau 03: Les principaux Transcrit de gène BCR-ABL (LYCEE et NARBONNE, 2004).**



**4-2-PCR compétitive:** (polymérase chaîne Réaction)

A travers la PCR, différents transcrit peut être mise en évidence, en effet, en fonction du point de cassure sur le gène ABL et BCR et de la fusion différent transcrit obtenue la plupart de ces cassures souviennent dans la région intronique et offrent une grande variabilité dans les différent point de fusion (**ZADA et al, 2006**).

La PCR compétitive consisté à l'amplifier l'échantillon de base pour cela l'ADNc (ADN complémentaire) est dénaturé sont ajoutées et vont fixer par complémentarité aux brins d'ADN, va Alor commencer la polymérisation, l'échantillon a analysée sera alors amplifié de manière exponentielle (**ZADA et al, 2006**).

Cette technique, longue et difficile a appliqué, a en routine, a cependant permis de montrer l'importance des technique quantitative pour les suivi des patient atteinte (**LYCEE et NARBONNE, 2004**).

**4-3- PCR en temps réel (Real Time PCR):**

L'étude moléculaire par RT- PCR constitue une bonne alternative à l'étude cytogénétique dans la LMC. Elle ne nécessite pas obligatoirement de prélèvement de moelle et permet de s'affranchir des contraintes liées à la culture cellulaire et à l'étude des mitoses. (**LYCEE et NARBONE, 2004**).

La PCR en temps réel associe un thermocycleur et un système de détections de la fluorescence en temps réel (laser et système informatique d'intégration des données). Le nombre de cycle d'amplification nécessaire à une augmentions délectable de la fluorescence proportionnel à la quantité d acides nucléiques spécifiques présente dans l'échantillon initial. Ces techniques ont été adaptées à la détection des transcrits BCR-ABL.

- l'amplification se fait en présence d'une sonde spécifique complémentaire situe entre les deux amorce de la PCR, cette sonde est couplée à son extrémité 5' a une fluorochrome dit "reporter" (R) et sa extrémité 3' a un fluorochrome dit "quencher" (Q), lors du passage de la polymérase va hydrolyser la liaison entre le reporter et la sonde, libérant le reporter Q et chaque passage de la polymérase va entrainer une augmentation de la fluorescence (**LYCEE et NARBONE, 2004**).

---

## ***CHAPITRE IV***

### ***Expression Biochimique***

Dans le cas de LMC, le génome de la cellule est lourdement modifié avec l'apparition d'un chromosome de Philadelphie, le chromosome possède un gène chimère qui code pour une protéine chimère appelé BCR-ABL.

### **1. le protéine ABL :**

Les protooncogène codent généralement pour des protéines impliquées dans les signaux de la prolifération cellulaire et leur transmission au noyau qui exécute le programme de multiplication cellulaire (**HOERNI, 1998**).

Le gène ABL code une protéine tyrosine kinase 145KDa. Elle est exprimée de façon ubiquitaire et retrouve dans le noyau et dans le cytoplasme (**LYCEE et NARBONNE, 2004**).

La P145 (tyrosine kinase) de c-ABL appartient à une famille de protéines dont la fonction est probablement de phosphoryler de message secondaire exerçant une action mitogène. Une augmentation de cette activité est toujours observée soit lors de la prolifération cellulaire normale soit lors de transformation par certain rétrovirus, cette activité apparaît également après stimulation des récepteurs cellulaire pour certain facteurs de croissance (**ANDRIEU, 1997**).

### **\*structure de protéine ABL :**

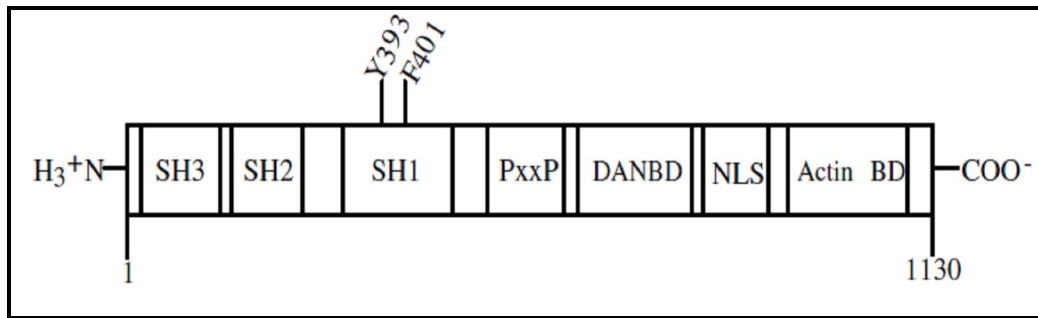
La région N-terminal de la protéine présente une structure proche de la protéine Src, comporte un domaine d'interaction SH<sub>2</sub>, un domaine d'interaction SH<sub>3</sub>, ainsi que le domaine catalytique SH<sub>1</sub> qui présente l'activité tyrosine kinase.

Un domaine central riche en prolines permet des l'interaction avec des protéines possédant des domaines SH<sub>3</sub>, à l'exemple de la protéine Crk.

La région C-terminal présente un domaine de liaison à l'ADN, trois signaux de localisation nucléaire NLS : (Nucléé Localisation Signal) et un site de liaison à l'actine (voir figure : 13).

La protéine ABL est impliquée dans la régulation de cycle cellulaire, elle inhibe la croissance cellulaire en interagissant directement avec la protéine rétinoblastome (Rb). Il apparaît, d'après les données obtenues in vitro sur des lignées pures de fibroblastes, que la protéine ABL intègre de nombreux signaux tant intracellulaire qu'extracellulaire et est impliquée dans le choix entre le maintien du déroulement du cycle cellulaire et l'apoptose. (**LYCEE et NARBONNE, 2004**).

---



**Figure 13 : Structure de la protéine ABL (LYCEE et NARBONNE, 2004).**

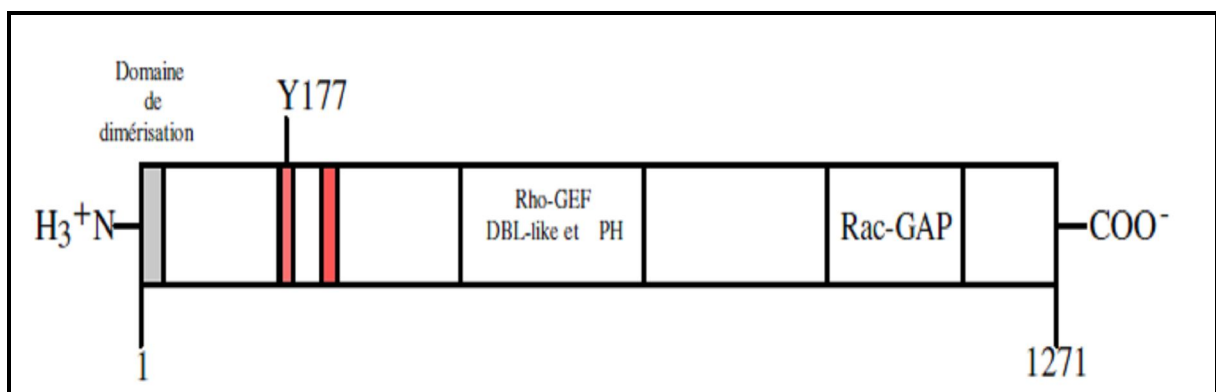
## 2- structure et fonction de protéine BCR

Les fonctions biologiques normales de la protéine BCR sont encore mal connues. Cette protéine de 160 kDa est, comme la protéine ABL, exprimée de façon ubiquitaire.

La région N terminal présente un domaine sérine/thréonine kinase et un domaine de dimérisation, A l'heure actuelle les seuls substrats identifiés sont : la protéine BCR elle-même, la protéine Bap-1 (BCR associated protein1).

On retrouve dans la région centrale un domaine composé de séquences DBL like et homologues à la pleckstrine qui stimulent l'échange, GTP- GDP par les Rho-GEF (Guonine nucleotide Exchange Factor) (voir figure14).

La région C- terminale présente des séquences homologues aux domaines catalytiques des protéines GAP (GTPases activating protéin). Elles agissent sur Rac, petite protéine GTPase de la famille Ras, protéine qui régule la polymérisation de l'actine ainsi que l'activité NADPH, H<sup>+</sup> oxydase des macrophages et granulocyte neutrophiles. La production des dérivés actifs du dioxygène est très augmentée, ce qui valide l'implication de la protéine BCR dans la régulation de L'activité NADPH, H<sup>+</sup> oxydase mediée par Rac. La protéine BCR peut être phosphorylée sur plusieurs résidus tyrosyl notamment, dans la région N -terminal, sur le résidu Tyr-177 Ce résidu lié Grb<sub>2</sub>, protéine adaptatrice impliquée dans l'activation de la voie Ros (LYCEE et NARBONNE, 2004).



**Figure 14: Structure de la protéine BCR (LYCEE et NARBONNE, 2004).**

### 3-la protéine 210<sup>bcr-abl</sup>:

En fonction du site de cassure dans le gène BCR, différents transcrits hybrides sont produits. Le type majeur mène à la production d'une protéine hybride de 210 KDA (P210), à localisation cytoplasmique. Cette protéine semble être seule responsable des phénomènes menant à la transformation leucémique. La conséquence de ce néogène hybride est une hyperactivité, une perte de la régulation et de la spécificité de l'activité tyrosine kinase (LAWELLE et MARTIAT, 2003).

#### \*structure de P210<sup>bcr-abl</sup>:

Structurellement, la P210<sup>bcr-abl</sup> contient la plupart des domaines fonctionnels de c-ABL à l'exception de domaines SH<sub>2</sub> et SH<sub>3</sub> du domaine tyrosine kinase, du domaine de fixation à l'ADN et du domaine de liaison à l'actine. Le domaine de tétramérisation de BCR, situé à l'extrémité N-terminal de protéine la protéine de fusion, permet une activation constitutive de la fonction tyrosine kinase de c-ABL et la localisation majoritairement cytoplasmique de P210<sup>bcr-abl</sup> (voir figure 15) (LYCEE et NARBONNE, 2004).

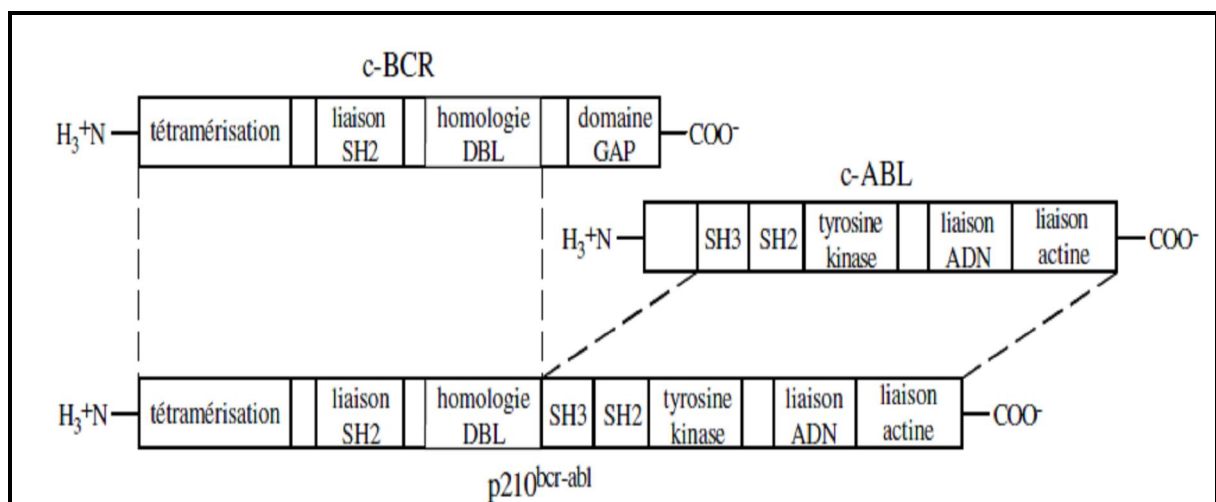


Figure 15 : Structure de la protéine p210BCR-ABL (LYCEE et NARBONNE, 2004).

### 4-les voies affectées par protéine BCR-ABL (P210):

Avant d'étudier en détail les voies de désignation affectées par BCR-ABL et pour bien comprendre le résultat de l'effet de cette protéine kinase dérégulée explique aux ce que sont les protéines kinase de manière générale.

#### 4-1-les protéines kinases:

Les protéines kinase sont des enzymes qui catalysent la réaction d'attachement d'un groupement phosphate ( $H_2PO_4$ ) sur une protéine. (CHOUAIB et al, 2006)

La tyrosine kinase de l'ABL catalyse la phosphorylation de nombreuses molécules effectrices qui signalent de la croissance cellulaire. (LAMBET, 2006), ces protéines activées par les kinases pourront par exemple, atteindre le noyau de la cellule, et ainsi y induire l'expression de gènes spécifiques (on parle de transcription de gènes), cette expression induira la synthèse de nouvelles protéines comme les facteurs de croissance ou pourra entraîner la cellule dans une nouvelle voie métabolique. (CAYATTE et al, 2006)

L'activité kinasique dérégulée est responsable du développement de leucémie myéloïde chronique, elle va agir en phosphorylant certains effecteurs de ces voies, les voies touchées sont les voies Ras, la voie PI3K, la voie Jak-STAT (CHOUAIB et al, 2006).

#### **4-2-la voie Ras:**

La protéine de fusion BCR-ABL active la voie RAS, conduisant à l'expression anormalement élevée de gènes indispensables pour la prolifération cellulaire, tel que C-Fos (un facteur de transcription induisant la multiplication de l'ADN), C-Myc (nécessaire pour la transcription de l'ARN ribosomale), ou c-jun. Cette voie active également la synthèse protéique en favorisant la traduction au niveau des ribosomes. (CHOUAIB et al, 2006).

La protéine BCR-ABL possède, sur sa partie BCR, une tyrosine phosphorylable, la Tyr177 au y177. Elle va permettre l'association avec une protéine adaptatrice Grb<sub>2</sub> et ainsi déclencher la voie RAS. En effet, Grb<sub>2</sub> possède un domaine SH<sub>2</sub> qui s'associe à la Tyr177 phosphorylée, et deux domaines SH<sub>3</sub> qui s'associent à un domaine riche en proline d'une autre protéine, SOS. Puis SOS va retrouver la protéine RAS qui se trouve à la membrane. RAS est une petite protéine G. Elle est associée à la membrane par une ancre lipidique, ne contient qu'une seule petite sous-unité et possède une activité GTPasique. SOS favorise l'échange d'un GDP contre un GTP dans la boucle effectrice de Ras, RAS-GTP active va alors s'associer avec un domaine Raf-RBD de la protéine RAF-1. Raf<sub>1</sub> activée phosphoryle une autre protéine MEK<sub>2</sub> puis MEK-P active va à son tour phosphoryler ERK, ERK est une protéine de la famille de MAP-Kinase (Mitogène activator protéin Kinase donc activant la mitose), ERK-P active se dimérise, chacun des deux monomères porte deux phosphates (Thr 183 et Thy 185). Le dimère va ensuite être transloqué dans le noyau et phosphoryler des facteurs de transcription qui vont activer la transcription de certains gènes, qui fixent sur une séquence de l'ADN, par exemple la séquence SRE (Serum Response Element) située sur le promoteur en amont du gène c-FOS (voir figure 16) (CHOUAIB et al 2006).

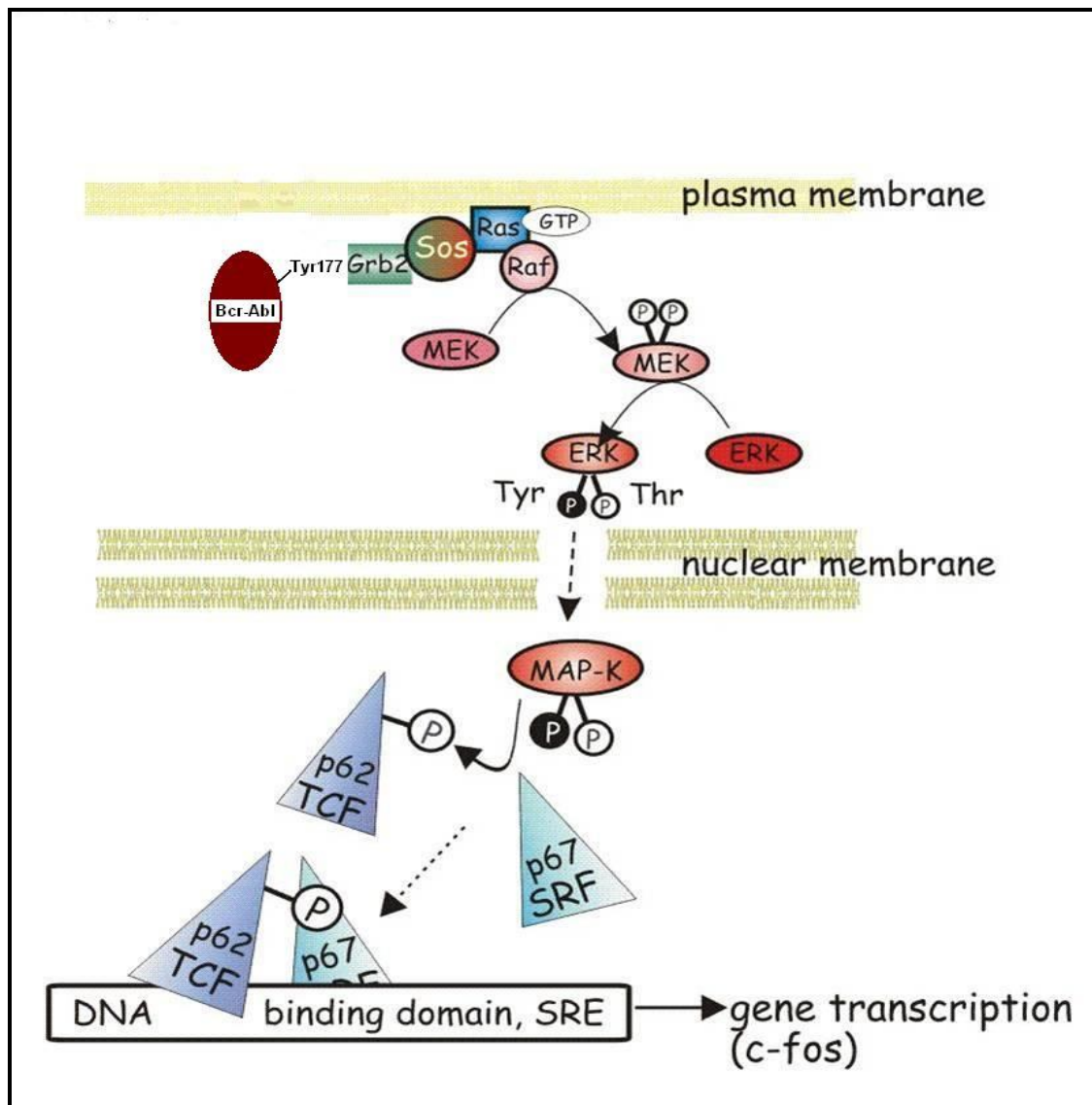


Figure 16 : La voie de signalisation RAS (CHOUAIB et al ,2006).

#### 4-3- La voie PI 3Kinase:

Le PI3 ou phosphatidyl inositol triphosphate agissent comme seconde messenger diffuser à travers du cytoplasme vers le réticulum endoplasmique (VOET et VOET, 1998).

Cette voie est impliquée dans le rôle transformant de la protéine BCR,- ABL. Elle est l'une des voies responsables de la prolifération de cellules cancéreuses et de la survie cellulaire.

BCR-ABL forme des complexe avec la protéine PI3 Kinase, Cbl et les adaptateurs Crk et Crkl, le Cbl est phosphorylée sur résidu tyrosyl par BCR-ABL et peut alors se lier au domaine SH<sub>2</sub> de Grkl (protéine adaptatrice contenant des domaines SH<sub>2</sub> et SH<sub>3</sub> .Les domaines SH<sub>3</sub> des protéines Crk et Crkl lient BCR-ABL.

Un des substrats de la PI 3 kinase phosphorylée est la sérine-thréonine kinase : PKB /AKT .Lorsque cette dernière est phosphorylée, elle phosphoryle la protéine BDA.

Cette protéine est une molécule pro-apoptique qui a la capacité de se lier avec BCLX au niveau du domaine BH3 de BAD lorsque ce dernier se trouve à l'état déphosphorylé .Or dans le cas de leucémie myéloïde chronique ,associée à la protéine de fusion BCR-ABL ,la protéine BAD est phosphorylée ,elle est donc incapable de se lier aux protéines anti apoptotiques BCLX .BAD est alors neutralisée dans le cytosol par une protéine 14-3-3, elle n'exerce donc plus la fonction pro-apoptotiques . Il en résulte une inhibition de l'apoptose et donc une survie cellulaire (voire figure : 17) (CHOUAIB et al, 2006).

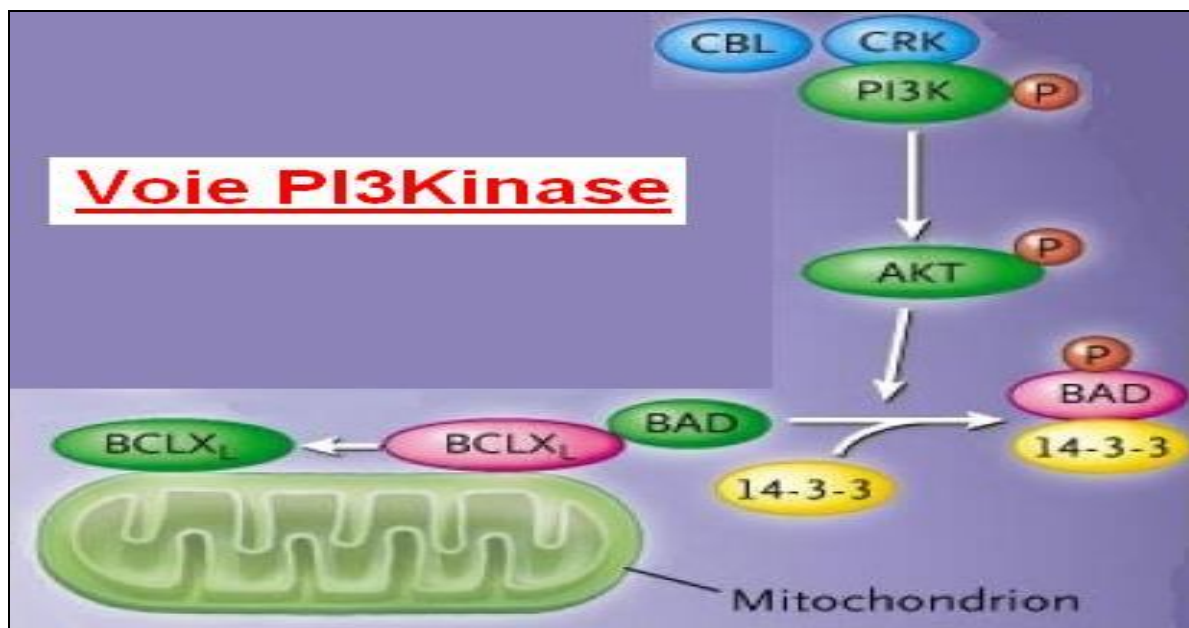


Figure: 17 La Voie PI3Kinase (CHOUAIB et al ,2006)

#### 4-4- La voie JAK/STAT:

La protéine de fusion BCR-ABL sert de la voie de signalisation appelée JAK-STAT pour influencer sur des gènes favorisant le développement des cellules cancéreuses .La famille des JAK-kinases, compose de tyrosines kinases intracellulaires,et les protéines STATsont impliquées directement dans la transduction du signal à partir des membres de la famille des récepteur aux cytokines .

La cytokine induit en se fixant à son récepteur un rapprochement physique entre deux protéines accessoires (appelées gp 130) qui servent d'intermédiaire. Les protéines JAKsont activées par autophosphorylation ,elle changent de conformation induisant la phosphorylation des résidus tyrosine des gp130.Ces protéines accessoires vont encore servir



d'intermédiaire car ce sont elle qui attirent et amènent les protéines STAT jusqu'aux JAK. Les STAT phosphorylées se dimérisent et rentrent dans le noyau dans lequel elles jouent le rôle de facteur de transcription. Leur régulation s'effectue principalement dans le cytosol lorsque la protéine est encore inactive car les inhibiteurs bloquent son activité tyrosine-kinase en se fixant sur son site phosphorylable.

Dans les lignées BCR-ABL positives, les protéines STAT1 et STAT5 sont tyrosines-phosphorylées de manière constitutive et leur activité de liaison à l'ADN est maximale. STAT5 présente une activité anti-apoptotique en activant la transcription des gènes codant pour les protéines anti-apoptotiques BCLX (voir figure:18) (CHOUAIB et al, 2006).

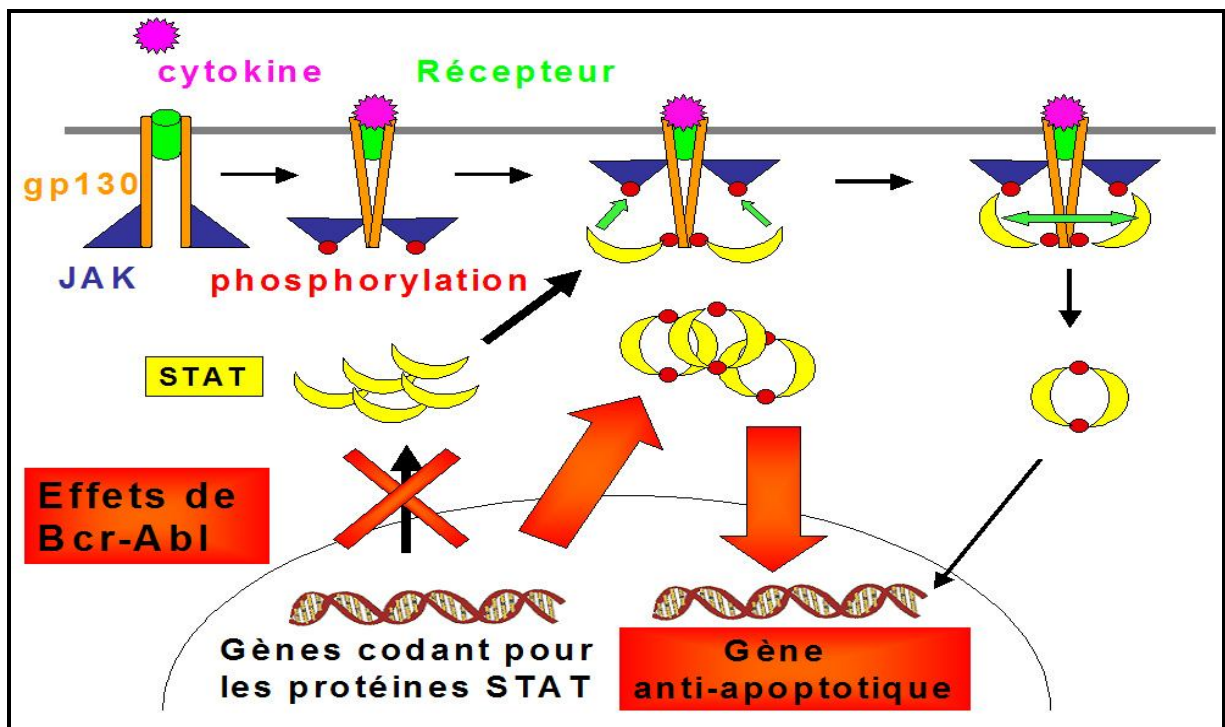


Figure 18 : La voie de signalisation JAK-STAT (CHOUAIB et al, 2006).

Protéine	Fonction
Fes	Différenciation myéloïde
Ras-GAP	Ras-GTPase
PLC $\gamma$	Phospholipase
PI3 kinase	Sérine kinase
Syp	Phosphatase cytoplasmique
Bap-1	Protéine de la famille 14-3-3
Vav	Différenciation hématopoïétique

Protéine	Fonction
P62 <sup>DOK</sup>	Adaptateur
Crkl	Adaptateur
Crk	Adaptateur
Shc	Adaptateur

Tableau 04: les substrats de phosphorylation de protéine BCR-ABL (LYCEE et NARBONNE; 2004).

**▪ Traitements:****1- traitements des symptômes:**

Une hyper hydratation alcaline et la prise d'allopurinol (Zyloric<sup>R</sup>) sont nécessaires dès le diagnostic pour éviter les accidents par mobilisation urique, les doses pourront être réduites ou arrêtées lors des phases stables une surveillance régulière de l'uricémie et l'azotémie est indiquée (ZITTOUN *et al*, 1992).

**2- la chimiothérapie:****a- le busulfan (MISULBAN<sup>R</sup>)**

Il est donné à la dose quotidienne de 2 à 3 comprimés à 2 mg, selon les taux leucocytaires. Le traitement est arrêté une fois l'hyperleucocytose réduite. Les rémissions sans traitement sont plus ou moins durables selon l'activité de la prolifération (ZITTOUN *et al*, 1992).

**b- L'HYDROXYURÉE (HYDRE A<sup>R</sup>):**

(La chimio) l'hydroxyurée qu'est aussi efficace, plus facile d'emploi (effet plus rapide et plus rapidement réversible) et moins toxique que le busulfan qui n'est plus utilisé. L'objectif est la disparition du syndrome tumoral et le maintien des leucocytes à moins de 10000/mm<sup>3</sup> (SCHAISON, 1995).

Elle permet d'obtenir rapidement une rémission hématologique (disparition de la splénomégalie et hémogramme normal) (THIERRY *et* GUILHOT, 1999).

**C- L'interféron alpha:**

L'interféron  $\alpha$  recombinant permet d'obtenir, essentiellement pour les formes peu évoluées de la maladie, un bon contrôle clinique et hématologique de l'affection avec, de façon fréquente, la disparition partielle voire totale du chromosome Philadelphie dans les cellules médullaires (LYCEE *et* NARBONNE, 2004).

L'IFN  $\alpha$  est initialement associé à l'hydroxyurée, pour un contrôle plus rapide de l'organomégalie et de la leucocytose. (SCHAISON, 1995).

**D- STI 571 (2- phenylaminopyrimidine)**

Pour faire face à la leucémie myéloïde chronique, plusieurs traitements (en plus de la chimiothérapie) agissant sur plusieurs niveaux, plus ou moins efficaces selon les cas et les stades de la maladie, ont été élaborés. Parmi eux, on trouve des molécules inhibitrices de la protéine kinase BCR ABL, ces molécules ayant pour rôle essentiel d'intercaler dans la protéine de fusion de manière à rendre elle-ci inactive car inaccessible pour le substrat. On trouve parmi ces molécules inhibitrices, une petite molécule, le Gleevec, STI – 571 ou encore appelée imatinib mésylate, celle-ci est un dérivé du 2-phenylaminopyrimidine qui a une très

---

haute affinité et spécificité pour la tyrosine kinase Abelson (ABL) et est cliniquement un véritable succès dans le traitement des leucémies à BCR-AbL. (ZADA *et al*, 2006).

Cette hémopathie est la cible idéale du traitement par STI 571, et c'est surtout dans sa phase chronique que l'inhibition de la tyrosine kinase bcr- abl. Pourrait produire l'effet anti leucémique que le plus démonstratif.

Structure du STI 571 (signal transduction inhibition) en phase d'acutisation, l'efficacité pourrait être réduite du fait d'anomalies chromosomiques additionnelles. (LYCEE et NARBONNE, 2004).

Ces réponses complètes sont survenues le plus souvent dans les trois premières semaines du traitement avec l'obtention de réponses durables jusqu'à 8 mois. D'autres travaux plaident en faveur de combinaison de STI 571 avec l'interféron ou la cytosine arabinoside (LYCEE et NARBONNE, 2004).

Plus de 90% des patients atteints de CML en phase précoce montrent une complète normalisation de la réponse hématologique après un traitement avec STI 571 (ZADA, 2006).

#### **E- Allogreffes:**

Elle est proposée actuellement, malgré ses risques, dès la phase chronique à tant malade de moins de 45 ans ayant un donneur HLA identique (ZITTOUN *et al*, 1992).

Elle permet de l'obtenir un taux de guérison d'environ 70% après la greffe, le caryotype est normal et les tests moléculaires (Southern Blot, PCR) sont négatif / néanmoins cette technique ne concerne que le petit nombre de malades ayant un donneur (THIERRY et GUILHOT, 1999).

L'indication est malheureusement limitée : âge inférieur 45 ans et donneur HLA compatible dans la fratrie.

En pratique seuls 10% des malades peuvent bénéficier d'une allogreffe. La moitié d'entre eux surmontent les complications liées à la greffe. (LYCEE et NARBONNE, 2004).

#### **F- Autogreffes :**

Elle est en cours d'évaluation, elle est pratiquée chez des patients encore en phase chronique mais mauvais répondeurs à LIFN $\alpha$ . Les premiers résultats sont encourageant au moins en termes de prévention de l'acutisation chez des patients de mauvais pronostic. On utilise principalement les cellules souches périphériques (CSP) (SCHAISON, 1995).

Parmi les cellules les plus immatures (CD 34+), il existe un important contingent de cellules normales, indemnes de l'anomalie chromosomique, qui assurent la reconstitution hématologique à long terme.

---

L'autogreffe ne permet pas, comme l'allo greffe, de guérir les malades mais, dans certains cas de sensibiliser les cellules clonales à l'action de l'interféron, ce qui allongerait la survie. Elle est donc utile chez les patients de moins 65 ans (**LYCEE et NARBONNE, 2004**).

## ***PARTIE II***

### ***Partie expérimentale***

# ***CHAPITRE I***

## ***Matériels et méthodes***

## Chapitre I : Matériel et méthodes

### 1-Matériel

#### 1-3 Présentation de lieu d'étude :

Notre travail a été réalisé au niveau de laboratoire d'analyse Hématologique et analyse biochimique de l'hôpital « Mohamed BOUDIAF » de la région de Ouargla.

#### 1-2 Matériel biologique :

Le sang et un échantillon de moelle rouge d'os, utilisée au laboratoire est recueillie à partir d'un sujet âgé qui représente un mauvais état de santé, les symptômes les plus fréquents sont : splénomégalie, fatigue, perte de poids, sueur, asthénie, sensation de pesanteur de l'Hypochondre gauche.

### 2- Méthodologie de travail :

#### 2-1 L'enquête :

Les objectifs principaux de cette étude sont les suivants :

- Connaître la prévalence de la maladie leucémie myéloïde chronique dans la région d'Ouargla.
- Etablir la répartition de cette affection selon les caractéristiques des patients (sexe, âge, origine).

#### 2-2 Analyse au laboratoire :

Au laboratoire, les analyses sont basées essentiellement sur la réalisation des examens biologiques (hématologie, biochimie) qui permettent de confirmer l'existence de leucémie myéloïde chronique.

##### 2.2.1. Prélèvement du sang :

Le prélèvement de sang est habituellement effectué par une ponction veineuse, le sang recueilli sur anticoagulant, et le tube agité après prélèvement pour éviter la coagulation (MARIEB, 2005).

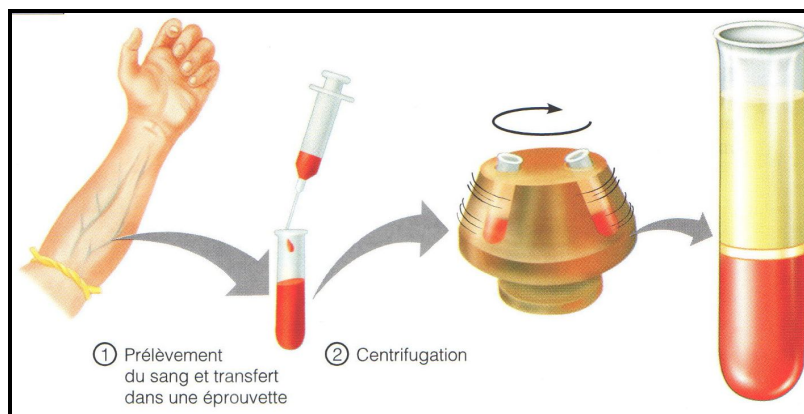


Figure 19 : prélèvement et centrifugation du sang (MARIAB, 2005)

**2-2-2 Technique de FNS (Formule Numération Sanguin) :****a. Méthode électronique :**

Le développement technologique de ces dernières années permet l'utilisation des compteurs électroniques pour la numération des éléments figurés du sang. Ces compteurs existent en plusieurs modèles. L'un de ces compteurs est le « Coulter d'hématologie ».

**-Principe :**

Le Coulter est un monomètre permet à une certaine quantité de cellule en suspension dans une solution d'électrolytes (Isoton) de passer au travers d'un orifice de dimension spécifique un courant d'ouverture passe entre deux électrodes dont l'un est placé à l'intérieur du tube à orifice et l'autre à l'extérieur au passage de chaque cellule à travers l'orifice, l'impédance entre les deux électrodes change et ce changement produit une impulsion de tension dont l'amplitude est proportionnelle au volume de la particule. Les impulsions de tension sont amplifiées et transmises à un circuit de seuil d'examineur puis enregistrées sur oscilloscope et totalisée par un compteur électronique relié à un compteur mécanique où se lie le résultat de la numération des éléments comptés (Annexe : 3)

Le colloscope, le Digicel et le Hycel sont des compteurs fondés sur le même principe (ORSINI *et al*, 1982).

**b- Méthodes manuel :****b.1- Taux de globules rouge :**

On appelle la concentration érythrocytaire le nombre d'érythrocytes contenus dans un litre de sang, elle est exprimée en nombre de globules par millimètre cube.

**-Principe :**

Le sang est dilué avec un liquide qui prévient la lyse des érythrocytes (Hématie), cette dilution est étalée dans un hématimètre de **Neubauer** et les érythrocytes sont comptés. (LORD-DUBE et L'ITALIEN, 1983)

**-Matériel et réactif :**

- 2 à 5 ml de sang veineux recueilli sur EDTA.
- Pipette a globules rouges appelés pipette de Thomas.
- Liquide de dilution.
- Liquide de Mauno Marcano : sulfate de sodium formol pour la conservation et l'eau distillée. (DIEUSEART, 2002).

**-Technique :**

- Aspirer le sang lentement sans bulles jusqu'au trait 0.5 d'une pipette à globules rouges.
-



- Aspirer le liquide de dilution (jusqu'au 1mm) puis mélanger pour homogénéiser le mélange.
- Placer soigneusement la lamelle sur hématimètre (cellule thomas).
- Placer soigneusement l'hématimètre sur le platine du microscope et vérifier à faible grossissement (G : x10) (**LORD-DUBE et LITALIEN, 1983**).

### **b.2. Taux de globule blanc :**

#### **-But et principe :**

Pour déterminer le nombre de globules blancs présents dans un volume donné de sang, celui-ci est dilué dans la pipette à numération avec une solution de dilution qui lyse les globules rouges. (**LORD-DUBE et L'ITALIEN, 1983**)

Le comptage est effectué en cellule de Malassez. (**LOISEAU, 2007**)

#### **Matériel et réactif :**

- 2 à 5 de sang vineux recueilli sur EDTA.
- Solution de Türk qui contient un agent hémolysant de l'acide acétique (qui lyse les globules rouges et colore les globules blanc).
- Une pipette de Potain à leucocytes.
- Cellule de Malassez.

#### **-Technique :**

- Une pipette de Potain est remplie avec du sang jusqu'à la marque 0.5, puis complète avec solution de Turk jusqu'à 11.
- Agiter soigneusement pendant une à deux minutes.
- Remplie en déposant des gouttes sur la chambre de comptage (chambre malassez).
- Mettre sur le microscope puis en obtiens le nombre de monocyte par  $\text{mm}^3 = \mu\text{L}$  (**THEML, 2000**).

### **b.3- Taux de plaquettes (ou thrombocyte) :**

#### **-But et principe :**

On détermine le nombre de thrombocytes dans un volume donné du sang, soit le nombre de thrombocytes dans un litre de sang, la numération peut être effectuée au microscope (**LORD-DUBE et L'ITALIEN, 1983**)

La détermination du nombre des Plaquettes se fait en comptant le nombre de plaquettes observées sur 1000 érythrocytes. D'après la formule :

$$\frac{\text{nombre de plaquette observées} \times \text{nombre de globules rouges} / \mu\text{L}}{1000}$$

On obtient le nombre de plaquette par microlitre

---

**Matériel et réactif :**

- Pipette de dilution.
- Liquide de dilution.
- Boîte humide.

**Technique ;**

- Le sang est dilué avec un liquide de dilution, à l'aide d'une pipette dilution de (1 /100).
- Après agitation pendant environ cinq minutes, est un tiers du mélange est rejeté.
- Une chambre de comptage fermée comme pour la numération des hématies et des globules blancs est alimentée avec les deux tiers restants puis incubée pendant vingt minutes dans une boîte humide.
- La numération des plaquettes est réalisée sous le microscope (THEML, 2000).

**b.4- Dosage de l'hémoglobine :****-Principe :**

- Le sang est dilué dans du réactif de drabkin, qui hémolyse les hématies, les transformant en cyanméthémoglobine.
- La solution obtenue est examinée au spectrophotomètre .sa densité optique est proportionnelle à la quantité d'hémoglobine du sang.

Cette méthode est celle qui donne les estimations d'hémoglobine les plus précises. Elle doit être préférée aux autres dans toute mesure possible.

**Les réactifs et le matériel :**

- Spectrophotomètre.
- Pipette pour sang (sahli) graduée a 0.02 ml ( $20 \text{ mm}^3$  ou  $20\mu\text{l}$ ). avec tube caoutchouc et embout.
- Pipette graduée de 5 ml.
- Tube à essai.
- Diluant de Drabkin (ANONYME 1, 1982).

**-Mode opératoire :**

Tout d'abord le sang total doit être utilisé immédiatement ou recueilli sur héparine ou EDTA (anticoagulant), on mélange dans un tube à essai 5 ml de la solution (1) et 0.02 de sang total. On lave la pipette ayant contenue le sang avec le réactif en aspirant à plusieurs reprises. En fin on mélange et on mesure l'absorbance A par rapport a l'eau distillé à 540 nm après 3 minutes au moins.

**-Expression des résultats :**

---

La valeur de la concentration (c) de l'hémoglobine dans le sang, est obtenue soit en multipliant la valeur lue au spectrophotomètre à 540 nm par 36.77 pour obtenir une valeur exprimée en g/100 ml ou bien en multipliant cette valeur par 22.82 pour obtenir une valeur exprimée en m mol/L (SERA - PAK, 2001).

### **b.5- Taux d'hématocrite :**

#### **-Principe :**

La mesure de l'hématocrite ( $H^t$ ) est exprimée en pourcentage ou en 1/1, la centrifugation de sang dans un tube sépare les éléments figurés (essentiellement les GR) qui tombent au fond du tube (phase solide, et la phase liquide, le plasma)

L'hématocrite est le rapport entre le volume occupé par les GR et le volume de sang total (ANONYME 1, 1982).

#### **-Réactif et matériel :**

-Centrifugeuse électrique pour micro-hématocrite avec plateau spécial tournant à grande vitesse.

-Echelle spécial pour lecture du résultat (généralement fournie avec le centrifugeur)

-Tube capillaires « héparines » (75mm de long, 1,5mm de diamètre). (Ils contiennent un dépôt d'héparine séchée servant d'anticoagulation)

Vaccinostyle et alcool, pour le prélèvement du sang capillaire. (ANONYME 1, 1982).

#### **-Mode opératoire :**

- Placer le sang dans un long tube capillaire et centrifuger sur le plateau d'un centrifugeur pour micro hématocrite.
- Lire la hauteur de la colonne d'hématies à l'aide d'un appareil de mesure. Cette méthode est préférable elle est plus rapide et permet d'utiliser du sang capillaire prélevé au doigt (OMS, 1982).

#### **-Expression des résultats :**

La mesure de l'hématocrite (HT) exprimé en pourcentage ou en 1 g/L ; il y a un rapport entre la concentration érythrocytaire et la fraction de volume érythrocytaire normalement il existe un certain rapport entre la concentration érythrocytaire (nombre d'hématie fois  $10^{12}$  par litre) et la fraction de volume érythrocytaire.

Si l'on désigne la première valeur par C, la fraction de volume érythrocytaire se situera normalement dans l'intervalle allant de (C-0.2) (10 à (c-0.4)/10 (OMS, 1982).

Figure : 1+2 (les modèles de l'appareil et la table de lecture) (ANONYME 1, 1982).

---

**b.6- Mesure de VGM :**

Le volume globulaire moyen (VGM) est donné par la formule suivante :

$$\text{VGM} = \frac{\text{hémocrite (L/L)}}{\text{nombre d'erythrocyte}(10^{12} / C)}$$

Les résultats exprimée en femtolitres (FL) et le taux normal est entre 80-95 FL (ORSINI et al, 1992)

**2-2-3 Frottis sanguin :****-But et principe :**

La réalisation et l'examen de frottis sanguin permettent d'effectuer une étude morphologique des différents éléments figurés du sang et de déterminer le pourcentage respectif (BEROUD, 2001).

**-Matériel et réactif :**

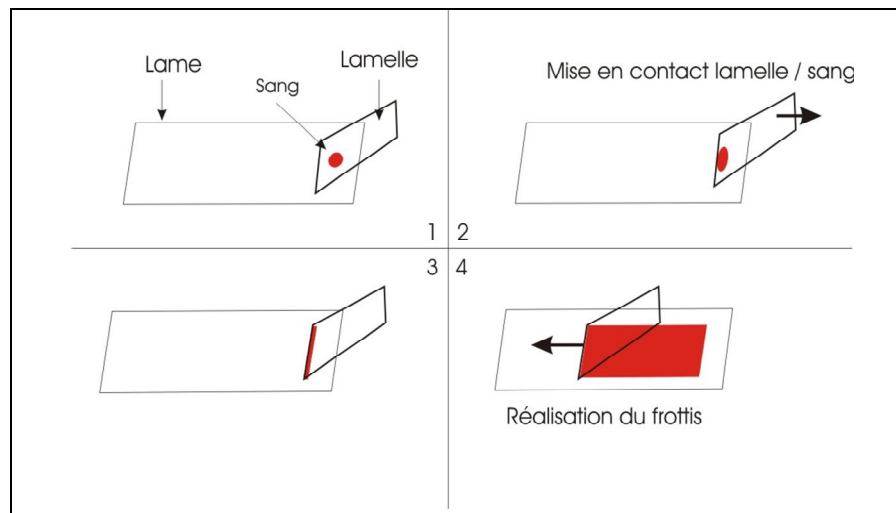
- Lame et Râtelier.
- Réactif de **May Grunwald** : est un mélange contenant un colorant acide, l'éosine et un colorant basique bleu de méthylène (BERAUD, 2001).
- Le réactif de **Giemsa** est une solution composée d'un colorant acide, l'éosine et d'un colorant basique d'azur de méthylène. Et l'eau tamponnée.

**-Technique :**

- Fixer l'étalement mince au méthanol pendant 2 à 3 minutes.
- Couvrir la lame de colorant de May Grunwald dilue laisser agir 5 minutes.
- Egoutter le colorant et le remplacer par Giemsa dilué .laisser agir 10 minutes.
- Verser de l'eau tamponnée pour laver le colorant.
- Laisser de l'eau propre sur la lame pendant 2 à 3 minutes pour obtenir une coloration différentielle.
- Laisser égoutter l'eau et faire sécher la lame sur un râtelier (voire figure : 20).
- Mettre sur microscope avec petite objectif (x40) (BERAUD, 2001).

Il existe une coloration automatique de frottis sanguin utilisée dans le laboratoire (voire annexe : 04).

---



**Figure 20: Réalisation du frottis sanguin**  
([www.pedagogie.ac.montpellier.fr.hemato.hmt](http://www.pedagogie.ac.montpellier.fr/hemato.hmt))

### 2-3- Myélogramme :

Cet examen effectué par le médecin spécialiste.

#### -But et principe :

Examen de la moelle osseuse réalisé par ponction et aspiration permettant une étude cytologique du prélèvement (VARET, 1997).

L'examen cellulaire de la moelle permet d'analyser un dérèglement de la fonction de production de ces cellules et d'en cibler la cause. Le prélèvement d'effectue généralement au niveau de sternum (SLIWKA et al, 1997).

#### -Matériel :

- Un antiseptique cutané
- Des compresses stériles
- un anesthésique de contact
- un trocart de Mallarmé
- une seringue de 20 ml adaptable au trocart des gents stériles
- des lames de verres
- un pansement stérile (SLIWKA, 1997).

#### -Mode opératoire :

- il effectué à partir d'une ponction de moelle faite à l'aide d'un trocart.
- La ponction se fait sous une anesthésie locale, généralement au froid au niveau du sternum dans la grande majorité des cas (VARET, 1997).

- Après retrait du mandrin, effectué une aspiration médullaire grâce à une seringue. (SLIWKA, 1997).
- Le produit de l'aspiration médullaire est immédiatement étalé sur des lames afin de réaliser un frottis cellulaire (voir figure 3)
- Puis un frottis est préparé et coloré comme pour le sang (LEVY, *et al*, 2004).

#### -L'expression de résultats :

L'examen de myélogramme permet de découvrir l'origine de cellule anormale et de noter si les précurseurs normaux sont présents :

densité du frottis	}	aplasie médullaire myélofibrose
0 : désertique		
1 : pauvre		
2 : médiocre	}	densité normale
3 : moyenne		
4 : riche		
5 : très riche	}	hyperplasie (BERAUO, 2004)

#### 2-4 Les autres examens :

##### 2-2-1 Phosphates alcaline PAL:

Les phosphatases sont des mono estérases à large spécificité qui hydrolysent, entre autre, l'ester phosphorique du p.nitrophénol= p.nitrophényl phosphatase. (SERGE, 1985).

Les phosphatases alcalines sont douées d'une activité enzymatique phosphohydrolasique et transférasique localisée dans les membranes cytoplasmiques des cellules. Leur activité est dépendante d'ions métalliques (surtout  $Mg^{2+}$  et  $Zn^{2+}$ ).

Les iso enzymes d'origine hépatique et osseuse représentent 90% de l'activité circulant et leur caractérisation est une devant une hyperphosphatasémie inexpliquée et dans la surveillance de sujets cancéreux (PASCAL, 2002). (Annexe 01)

##### 2.4.2. Acide urique :

Acide urique est la 2-6-8 hydroxypurique elle peut exister sous forme cétonique et sous forme enolique (KRUH, 1971), que résulte de la dégradation des acides nucléiques (ADN, ARN) de l'organisme (BOURRILLON, 1995).

L'acide urique provient surtout de la destruction des bases puriques alimentaires

Et organiques (BOURRILLON, 1995). Chez l'homme, il en représente le catabolite final (ADRIAN *et al*, 1995). Qui éliminé par voie urinaire (KRUH, 1971).

Le dosage d'acide urique est détaillée en (annexe : 02).

## ***CHAPITRE II***

### ***Résultats et discussions***

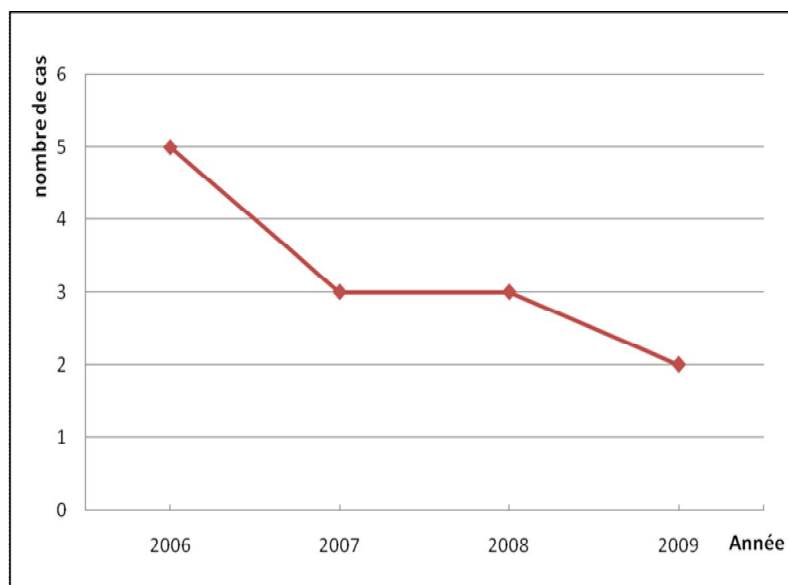
**3. L'enquête :**

**3.1. Résultats:**

Ces résultats sont récapitulés dans le tableau 06 :

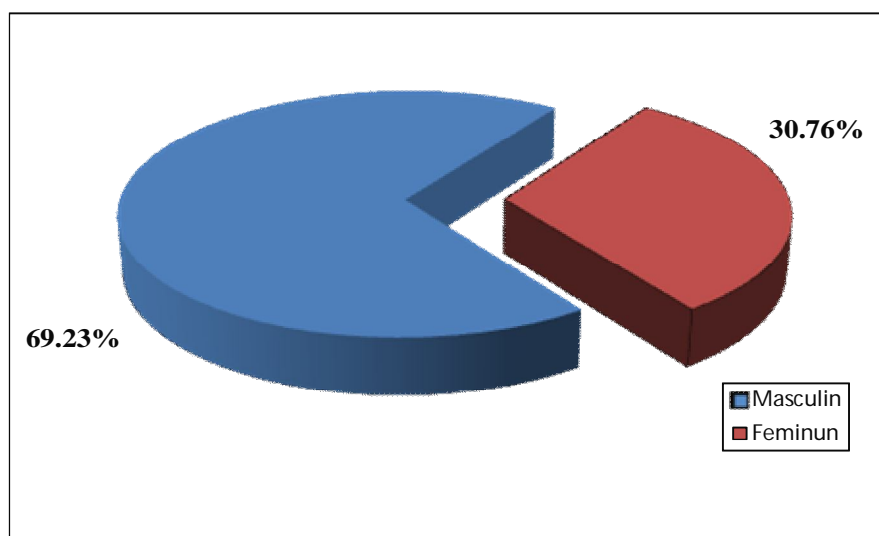
Annés	Sexe		Age (ans)				Totale
	Masculin	Féminin	25-40	40-45	55-70	70-85	
<b>2006</b>	3	2	1	1	2	1	5
<b>2007</b>	3	-	-	2	1	-	3
<b>2008</b>	1	2	1	-	2	-	3
<b>2009</b>	2	-	-	1	-	1	2
<b>Totale</b>	9	4	2	4	5	2	13

**Tableau 06 : Résultats de l'enquête sur la leucémie myéloïde chronique.**

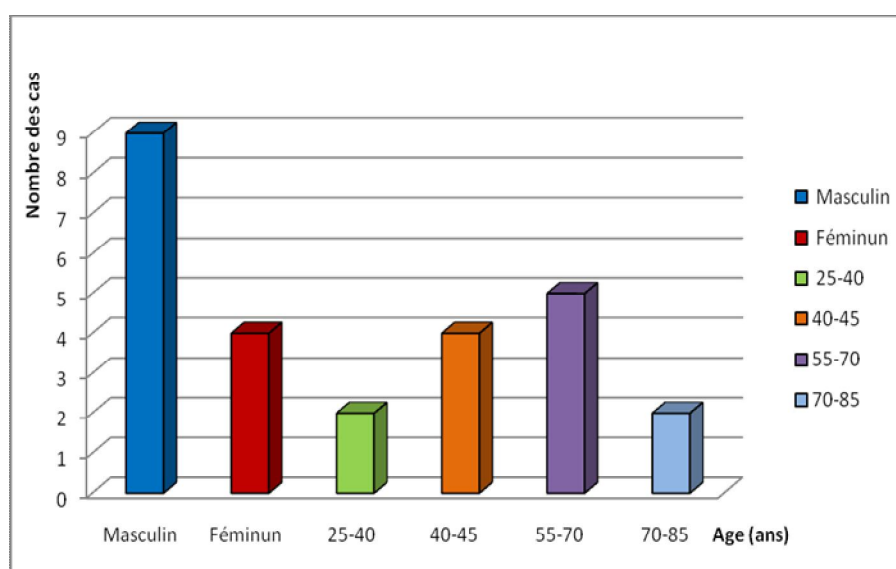


**Figure 21: Evolution de Leucémie Myéloïde Chronique sur une période de 4 ans.**





**Figure 22: Répartition des patients selon le sexe.**



**Figure 23: Répartition des patients selon l'âge**

**a-évolution de la leucémie myéloïde chronique sur une période de 4ans ;**

La présentation graphique montre que la répartition des cas de LMC par année sur la période allant de 2006 à 2009 révèle une évolution régressive à savoir : 5 cas en 2006, 3 cas en 2007, «3cas en 2008, 2cas 2009 (figure : 21)

**b-répartition des patients selon les sexes :** Sur 13patients nous avons 9 (69,23%) hommes et 4(30,76%) femmes (figure 22) c'est dire le sexe masculin présente une prévalence élevé par rapport au sexe féminin de rapport approximative d'environ 2/1.

**C-répartition des patients selon l'âge :**

La répartition des patients selon l'âge retrouve deux pics de fréquence l'un dans la tranche d'âge 55 à 70 ans (38,46%) et l'autre de 40 à 55 ans (30,76%) .

La fréquence dans les autres tranches est : 25 à 40 ans : 15,38%, 70 à 85 ans :

- 15,38%. (figure : 23).
- 25 à 40 ans : 15,38%, 70 à 85 ans : 15,38%

**D-répartition des patients selon l'origine :**

Sur 13 patients nous avons 10 cas (76,92%) d'origine Ouargla et 3 cas (23,07%) d'origine différent (1 cas d'origine Ain amenas , 1 cas d'origine Aflou , et l'autre d'origine Tébessa ).

\* Pour confirmer ces résultats on fait une comparaison de celles-ci entre les différents compartiments d'Algérie sur une période de onze ans allant de janvier 1994 à décembre 2004.

Cette étude établit une approche épidémiologique de cette affection en Algérie , que représente 7 à 15% des leucémies de l'adulte selon les séries de la littérature .il s'agit d'une étude coopérative .multicentrique , descriptive et rétrospective réalisée en 2005 , qu'il consiste les étapes suivantes

**Matériel et méthode**

Cette étude a inclus 1.100 patients suivis dans les douze services d'hématologie d'Algérie, la source d'information est représentée essentiellement par les dossiers médicaux et les fiches de consultation des patients. La collecte d'information est réalisée grâce à l'établissement d'une fiche technique diffusée aux différents services d'hématologie. Cette dernière est dupliquée, dûment remplie et retournée pour l'exploitation des données. Les services d'hématologie ayant participé sont : le centre Pierre et Marie Curie d'Alger, le Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) Beni Messous, Hôpital Central de l'Armée, CHU Blida, CHU APPROCHE EPIDEMIOLOGIQUE DE LA LEUCEMIE MYELOIDIE CHRONIQUE EN ALGERIE. Travail coopératif et multicentrique : A propos de 1100 Cas 1994 – 2004)

---

- Tizi-Ouzou, CHU de Sétif, CHU de Constantine, CHU de Annaba, CHU Batna, CHU d'Oran, CHU de Sidi Belabbes et le CHU de Tlemcen.
- Tests biostatistiques : calcul de la prévalence, le taux de prévalence ou prévalence relative (rapportée a 100.000 habitants /an), l'incidence et l'incidence spécifique.
- Nous avons reçu 1100 fiches, réparties comme suit sur les différents Services d'hématologie : centre Pierre et Marie Curie d'Alger : 188, CHU Constantine : 143, CHU Blida : 135, CHU Annaba : 125, Sétif : 85, CHU Oran : 82, CHU Beni Messous : 76, CHU Tizi-Ouzou : 69, CHU Tlemcen : 57, Sidi Belabbes : 47, HCA : 43, Batna : 50.

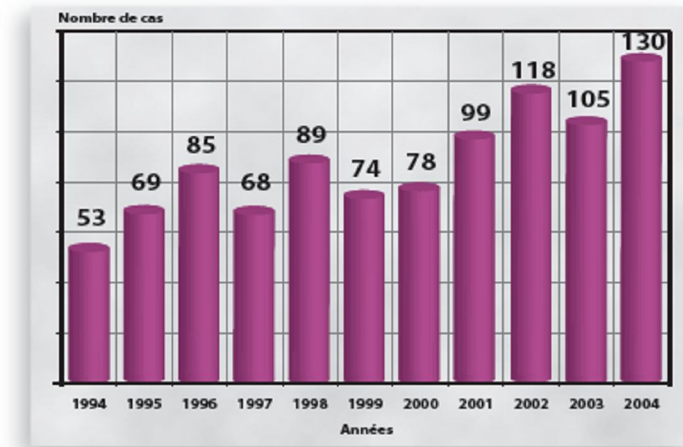
**a. Prévalence** La prévalence absolue de la LMC en Algérie en 2004 est de 472 Cas, sa prévalence relative est de 1,8 cas /100.000 habitants par an.

**b. Incidence** La répartition des nouveaux cas de LMC par année sur la période allant de 1994 à 2004 est de 53 cas en 1994, 69 cas en 1995, 85 cas en 1996, 68 cas en 1997, 89 cas en 1998, 74 cas en 1999, 78 cas en 2000, 99 cas en 2001, 118 cas en 2002, 105 cas en 2003, 130 cas en 2004. Nous avons en moyenne 88 nouveaux cas de LMC par année. Le taux d'incidence annuel est en progression puisqu'il passe de 0,19 en 1994 à 0,4 en 2004. Si on considère que la population dont l'âge est supérieur à 14 ans et qui représente 70% de la population selon les données de l'office national des statistiques en Algérie, ceci nous amènera alors à calculer le taux d'incidence spécifique à cet âge, qui passe de 0,28 en 1994 à 0,58 en 2004.

Ces résultats sont récapitulés dans le tableau I et la figure 1.

ANNÉES	NOMBRE DE CAS	POPULATION EN MILLIONS	TAUX D'INCIDENCE	POPULATION (ÂGE >14 ANS)	INCIDENCE SPÉCIFIQUE
1994	53	27,0	0,19	18,90	0,28
1995	69	27,5	0,25	19,20	0,35
1996	85	28,0	0,30	19,60	0,43
1997	68	28,5	0,31	19,95	0,34
1998	89	29,0	0,30	20,30	0,43
1999	74	29,5	0,25	21,00	0,35
2000	78	30,0	0,26	21,20	0,36
2001	99	30,5	0,32	21,35	0,46
2002	118	31,0	0,38	21,70	0,54
2003	105	31,5	0,33	22,05	0,47
2004	130	32,0	0,40	22,40	0,58
2005	1.100		0,33		0,41

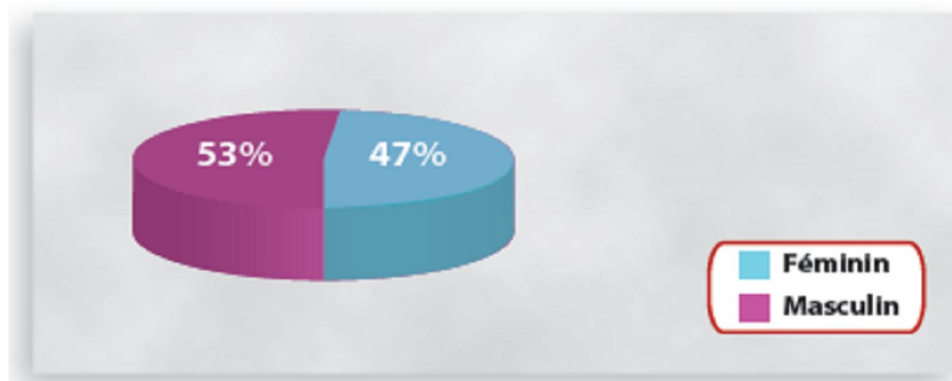
**Tableau.07** : Incidence annuelle et globale de la LMC en Algérie



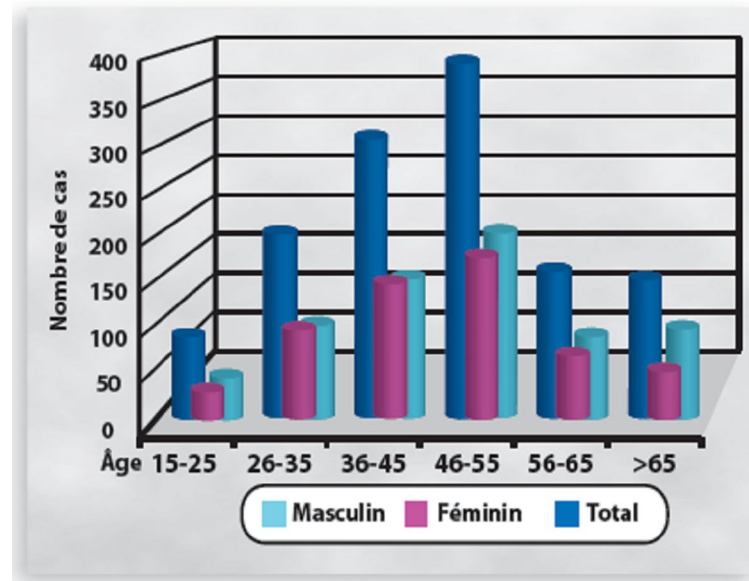
**Figure. 24 :** Répartition des nouveaux cas de LMC par année

### c- Répartition selon les caractéristiques des patients

Sur 1100 patients nous avons 585 (53%) hommes et 515 femmes (47%), le sex. ratio H/F est de 1,12 (figure 2). L'âge moyen est de 44 ans avec des extrêmes allant de 15 à 76 ans. La répartition des patients selon l'âge retrouve deux pics de fréquence l'un dans la tranche d'âge 46 à 55 ans (33%) et l'autre de 36 à 46 ans (31%). La fréquence dans les autres tranches: 15-25 ans : 7,5%, 26-35 ans : 15%, 55-65 ans : 28%, plus de 65 ans : 13% (figure 3). On note une légère prédominance masculine dans les différentes tranches d'âge sus citées.



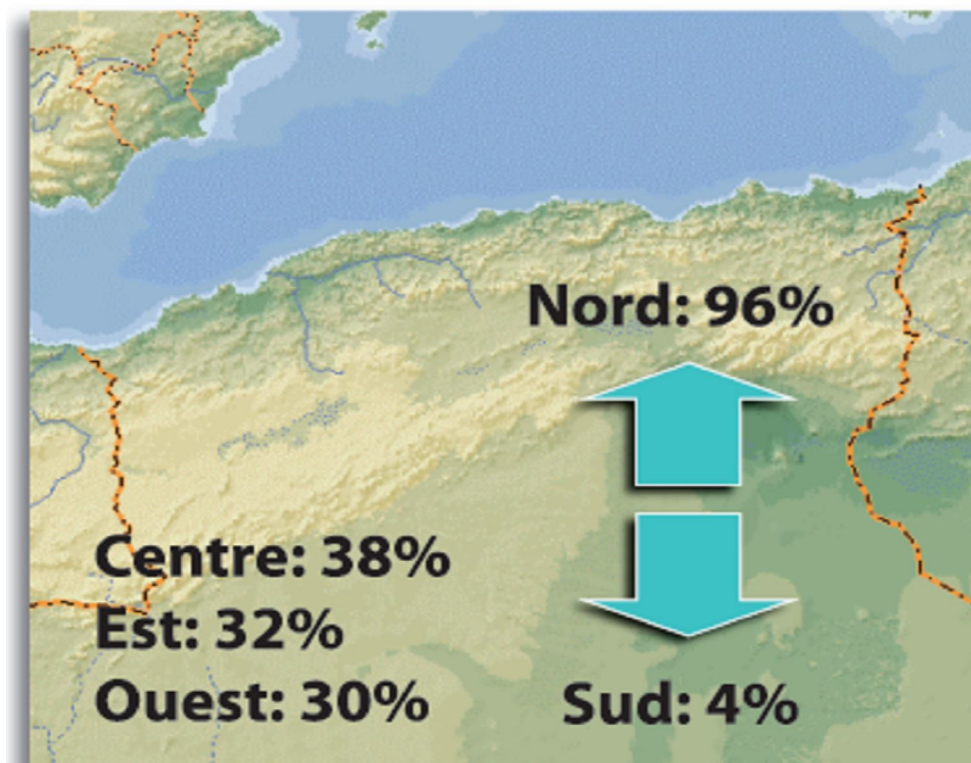
**Figure. 25 :** Répartition des patients selon le sexe



**Figure. 26 :** Répartition des patients selon le sexe dans les différentes tranches d'âge

#### 4- Répartition géographique

Le lieu de résidence est précisé dans 857 cas sur 1100. La majorité des patients sont au nord 824 (96%), seuls 24 patients résident au sud d'Algérie (4%); 315 proviennent de la région centre (38%), 257 du nord Est (32%) et 252 du nord ouest (30%)



**Figure. 27 :** Répartition géographique des patients

### 5- Profession

Sur 1100 patients, la profession n'est précisée, sur les fiches techniques, que dans 400 cas. 103 patients sont sans profession, dans le reste des cas les professions rencontrées sont les suivantes : ouvriers : 148 : (37%; maçon : 70, mécanicien : 46, tourneur : 32), agriculteur : 39 (9,7%), commerçant : 36 (9%), enseignant : 27 (6,8%), chauffeur:16 (4%), technicien :12 (3%), infirmier :10 (2,5%), étudiant : 6 (1,5%), chimiste : 2 (0,5%), dentiste : 1 (0,2%). Dans neuf cas on retrouve dans le passé professionnel la notion d'exposition aux produits aromatiques. (LAHLOU, 2009)

### 1.2. Discussion:

Par notre enquête nous avons compté 13 cas de la leucémie myéloïde chronique sur une période de 4 ans (2006 à 2009) dans la région de Ouargla. le nombre des cas annuel est en régression puis qu'elle passe de :

- 5 cas /522041 habitants en 2006.
- 3 cas/533170 habitants en 2007.
- 3 cas/544367 habitants en 2008.
- 2 cas en 2009.

Cette régression pourrait s'expliquer par une prise en charge des patients par les services sanitaires hors de la région de Ouargla d'une part et la récente ouverture du nouveau service d'hématologie en 2008 d'autre part .mais en Algérie la LMC représente 7à15% chez l'adulte, sa prévalence en 2004 est de 472 cas, le taux de prévalence est de 1,8 /100.000 habitants. son incidence est en progression puis qu'elle passe de 0,19/100.000 habitant en 1994 à 0,4/100 000 en 2004 . cette progression pourrait s'expliquer par l'accroissement de la population et le caractère jeune de cette dernière d'une part , un accès plus facile aux soins et l'ouverture de nouveaux services d'hématologie en Algérie d'autre part.

Ce taux fait de l'Algérie une zone d' incidence relativement faible comparée aux séries publiées ou l'incidence rapporté varie de 1 à 2/100.000 habitants /an.

- Il y a une prédominance masculine que féminine, dans les deux régions (en Algérie 53% masculin , 47% féminin ) et à Ouargla (69,23% masculin, 30,76% féminine )

---

- L'âge moyen au diagnostic est de 44 ans ce qui fait de la LMC une affection de l'adulte jeune, mais elle peut se voir dans toutes les tranches d'âge, elle est exceptionnelle chez l'enfant et l'adolescent.

- La répartition des patients selon l'origine dans la région de Ouargla montre que (76,92% d'origine Ouargla, 23,07% a une autre origine), cette dernière traduit par préoccupation de la population étrangère aussi que la population originaire. En Algérie la répartition selon le lieu géographique nous constatons une fréquence élevée au sud du pays qu'on peut expliquer tout par la répartition très inégale de la population entre le nord et le sud du pays, il est de même pour la répartition entre la région centre où on note une fréquence prédominante par rapport à l'Est et l'Ouest.

L'étiologie de la LMC n'est pas bien élucidée jusqu'à présent, les facteurs génétiques sont très peu incriminés, très peu de cas familiaux sont décrits (1). Dans notre série on ne retrouve pas de cas familiaux, ni d'antécédents de LMC chez les ascendants de patients suivis pour cette affection. 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 (1, 4). Les professions les plus retrouvées dans notre série sont celle de maçon et mécanicien, bien que l'excès d'hémopathies malignes est souvent rapporté dans le milieu agricole, la profession d'agriculteur n'est retrouvée que dans 9,7%. Même si la relation avec certaines professions est suspectée, les produits auxquels ces patients sont exposés, les modalités d'exposition au risque en termes de niveaux et de durée restent souvent méconnues ce qui ne nous permet pas d'établir une relation de cause à effet, c'est le cas de l'exposition aux produits aromatiques rapportée chez neuf patients dans notre série. Nous rapportons un traitement par radiothérapie dans quatre cas. L'existence d'un risque accru de cancers après irradiation à fortes doses est clairement établie (1), c'est le cas des patients irradiés pour spondylarthrite ankylosante, et les femmes traitées par radiothérapie pour cancer du col utérin (LAHLOU, 2009)

Cette étude représente une enquête dans la région de Ouargla et approche épidémiologique de la LMC en Algérie, les données spécifiques de cette affection restent encore très insuffisantes et méritent d'être développées d'au' l'intérêt de mener des études prospectives permettant l'épidémiologie descriptive et analytique plus fine de cette affection.

---

**4. Analyse au laboratoire :****4.1. Résultats :****1<sup>er</sup> cas :**

Nom: B

Prénom : M

Sexe : féminin

Age : 64 ans

Résidence : Ain Amenas

**FORMULE NUMERATION SANGUINE**

	Résultat	Valeur normale
Globules blancs :	124.0 x 10 <sup>9</sup> /l	4-10 x10 <sup>9</sup> /l
Globules rouges :	2.61 x 10 <sup>12</sup> /l	3.8 x10 <sup>12</sup> /l
Hémoglobine :	9.1 g/dl	11.5 -17g/dl
Hématocrite :	27 %	37 – 54%
VGM :	103 fl	80 – 90 fl
TCMH :	35 pg	27 – 32 g/dl
CCMH :	34 g/dl	29 – 34 g/dl
Plaquettes :	507 x 10 <sup>9</sup> /l	150 – 500 x 10 <sup>9</sup> /l

**Formule leucocytaire**

Lymphocytes % :	3%	
Monocytes % :	0%	
Neutrophile % :	20%	
Eosinophiles % :	0%	
Basophiles % :	4%	
Lymphocytes :	0.0 x10 <sup>9</sup> /l	1- 4 x 10 <sup>9</sup> /l
Neutrophiles :	0.0 x10 <sup>9</sup> /l	1- 7.5 x 10 <sup>9</sup> /l

Présence de myélemie faite de:

Myélocytes % :	20%
Métamyélocyte % :	50%
Erythroblaste % :	2%
Blaste % :	1%



**2<sup>ème</sup> cas**

Nom : B

Prénom : R

Sexe : masculin

Age : 73 ans

Résidence : Tébéssa

**FORMULE NUMERATION SANGUINE**

	Résultat	Valeur normale
Globules blancs :	10 x 10 <sup>9</sup> /l	4-10 x10 <sup>9</sup> /l
Globules rouges :	2.92 x 10 <sup>12</sup>	3.8 x10 <sup>12</sup> /l
Hémoglobine :	9.1 g/dl	11.5 -17g/dl
Hématocrite :	32 %	37 – 54%
VGM :	110 fl	80 – 90 fl
TGMH :	35 pg	27 – 32 pg
CCMH :	32 g/dl	29 – 34 g/dl
Plaquettes :	315x 10 <sup>9</sup> /l	150 – 500 x 10 <sup>9</sup> /l

**Formule leucocytaire**

Lymphocytes % :	10 %	
Monocytes % :	18 %	
Neutrophile % :	69 %	
Eosinophiles % :	3 %	
Basophiles % :	0%	
Lymphocytes :	1.04x10 <sup>9</sup> /l	1- 4 x 10 <sup>9</sup> /l
Neutrophiles :	7.18 x10 <sup>9</sup> /l	1- 7.5 x 10 <sup>9</sup> /l

**Résultats de frottis sanguin :**

L'examen de frottis sanguin montre que la présence de cellules granuleuse immatures circulantes (myélémie), métamyélocytes et myélocytes neutrophiles principalement (ZITTOUN et al ,1992).

Mais aussi quelque myéloblastes et promyélocytes ; c'est la myélémie, qui est supérieure à20% pouvant atteindre 70%

Les polynucléaire neutrophiles sont diminués en valeur relative (30-40%) mais augmentée en valeur absolue avec un aspect peu lobulé et pauvre en grains.

-l'éosinophile et basophile sont fréquemment observées. (SMAILI ,1999).

**Résultats de myélogramme :**

Le myélogramme confirmerait l'hyperplasie granuleuse : moelle très riche avec 80 à 95 % de cellules granuleuses (Lévy *et al*, 2004).

Excès d'éosinophiles et de basophiles, en parallèle de l'excès sanguin.

**2.2 Discussion :**

Les résultats obtenus d'après les analyses au laboratoire montrent:

L'hyperleucocytose importante dépassant habituellement  $>50 \times 10^9/l$ , atteignant parfois  $500 \times 10^9/l$  (ZITTOUN *et al*, 1990). Cette hyperleucocytose est faite d'une augmentation des polynucléaires neutrophiles dont le pourcentage n'est cependant que de 30 à 50%.

La basophilie est très caractéristique de la maladie et une éosinophilie est possible. Il existe également une myélémie correspondant à la présence dans le sang circulant de précurseurs myéloïdes. Elle est faite de métamyélocytes, de myélocytes et promyélocytes avec parfois quelques myéloblastes (THIERRY, et GUILHOT, 1999).

Une forte hyperleucocytose entraînant une diminution plus ou moins importante du nombre de globules rouges, le taux moyen d'hémoglobine et l'hématocrite d'une part et l'augmentation des plaquettes (hyperplaquetose), et le volume globulaire moyen (VGM) d'autre part.

Les phosphatases alcaline sont augmentés au cours d'infections des réactions leucémoides.

L'hyperuricémie eu rapport avec la dégradation des acides nucléiques effarant dans le syndrome de lyse tumorale.

---

## ***Conclusion général***

**Conclusion générale :**

Le présent travail a pour objet l'étude de la leucémie myéloïde chronique dans la région de « Ouargla ».

Au cours d'une enquête effectuée au niveau de l'hôpital ont révélé que le nombre des cas est limité dont le sexe masculin étant le plus touché, et la majorité des patients est âgée (55-70) ans à d'origine Ouargla, elle est exceptionnelle chez les enfants.

Cette résultats est compatible avec l'approche épidémiologique de la leucémie myéloïde chronique en Algérie dans deux point de vie (sexe, l'âge).

-Le diagnostic de LMC est facile, il repose sur une bonne pratique de l'hémogramme complet et une bonne préparation de coloration et lecture des frottis sanguin et des frottis de la ponction sternale

-Les analyse au laboratoire montre une hyperleucocytose et l'existence également une myélémie correspondant à la présence dans le sang circulant de précurseurs myéloïde (métamyélocytes, myélocytes, promyélocytes).

-l'imatinib (Glevec ST 571) fait partie des nouveau traitements de la leucémie myéloïde chronique .ce premier médicament intelligent. Ciblant l'anomalie moléculaire à l'origine de la maladie,

***Références bibliographique***  
***Et électronique***

**Références bibliographiques et électroniques :**

1. ADRIAN J, et al 1981. Dictionnaire de biochimie alimentaire et de nutrition .2<sup>ème</sup> édition. Technique et documentation. Paris pp202-203.
  2. ANDRIEU J M ; 1997. Biologie des cancers ,32 rue bague 75055, paris. PP:322-329.
  3. ANONYME ; 1977. Elément d'hématologie. Institut des sciences médicales, Alger. PP:45-50.
  4. ANONYME ; 1982. Manuel des techniques de base pour laboratoire médicale, Genève.
  5. BERAUD J; 2001. Le technicien d'analyse biologique, Paris .PP: 551-790.
  6. BERGERAT J P ; DUFOUR P ; OBERLING F; 1996 .Onco hématologique guide pratique .Ed heure. France .PP:286- 289.
  7. BERTHOU ; 2004. Leucémie myéloïde chronique, Version actualisée. La Fédération Leucémie Espoir, France. PP: 2-10.
  8. BLACQUE A ; BLACQUE N; 1995. L'infirmière et les examens biologiques et cliniques. Ed .Moloin, 27.Rue de l'école médecine 75006.Paris .P :180- 181.
  9. BOURRILLON A ,1995 .la rousse médicales, larousse, paris pp13.
  10. CYCATTE P A ; HOANG N P ; THIBON D;2006. Développement et mode fonctionnelle Glivec, signalisation cellulaire. université Bordeaux PP: 1- 8.
  11. CHAQET S ; 2002. Hématologie ellipses .Edition Marketing S A .rue bague 75740, Paris. PP : 6-153.
  12. COLOMBAT P H ; BINET C H ; DESBOIS I ; LAMGNERE J P ; 1999.Hématologie pratique .Ed .Doin .Paris. PP:1-55.
  13. DIEUSERAT P ; 2002. Guide pratique des analyses médicales .3<sup>ème</sup> Ed .rue de l'école de médecine 75006, Paris, pp 65-90.
  14. DUPIN A ; DUURA E; LEFRERE A ; SAULINIER A ; 2006. Glivec projet BCP608. 1<sup>er</sup> groupe. université Bordeaux, PP:1-16.
  15. EPINOSA E ; CHILLET P; 2006.Immunologie .Paris, PP: 30-35.
  16. GHAIUIB N. GOUTAUD B. JANVORE J; 2006. Glivec projet BCP608. 3<sup>ème</sup> groupe. université Bordeaux, PP :1-13.
  17. HARISSION TR ; 1988. Principe de médecine interne .science Flammarion. Paris, PP 1528-1531.
  18. LAHLOU D; 2009. Revue Algérienne d'hématologie, Congrès Maghrébin d'hématologie. PP: 1-3
-

19. LAMBERT JF ; DUCHOSAL MA ; 2007.Hématologie – syndrome myéloprolifératif une kinase après l'autre, Lausanne .PP : 1-13.
  20. LAURAIN E P; 2007. Leucémie myéloïde chronique. ARCAGY groupe cinco, Paris. PP: 1-20.
  21. LEVY JP ; VARET B; CHEVEL JP ; LEFRERE F; 2004. Hématologie et transfusion. N° imprimeur 041278, France, PP : 1- 20.
  22. LEWALLE P ; MARIAT P ; 2003. Leucémie myéloïde chronique. Laboratoire d'hématologie expérimentale et service d'hématologie institue jules, Barde. , PP : 420- 430.
  23. LORD – DUBE et L'ETALIEN ; 1983. Hématologie .8<sup>ème</sup> Ed. Maloin éditeur. Paris. PP136-166.
  24. LYCEE FG ; NARBONE L ; 2004. Leucémie myéloïde chronique, Version HTML, 28 Rue Etienne Gaillard 11100 Narbonne, France. PP: 1- 9.
  25. MARIAB E N ; 2005. Anatomie et physiologie humaines.6<sup>ème</sup> Ed, Paris. PP: 665-680.
  26. OMS; ETIENNE LL ; 1982 .OMS Manuel des Technique de base pour laboratoire médicale, PP 360-370.
  27. ORSINI A ; PERRIMOND H ; VOVANL;MALLI M ; 1982. Hématologie pédiatrique, Flammarion médecine – science. 442 P .
  28. KRUH J,1971 .Etudes médicales et biologiques ,Hermann,Paris .pp 437-493 .
  29. KUBAB N ; HAKAWATI I ;KUBAB S ; 2002.Guide examens biologiques . 4<sup>ème</sup> Ed. Lamarre, Paris .PP: 10-48.
  30. SCHAISON G ; BARUCHEL A;LEBLANC T ;1995. Hématologie de l'enfant. médecine science Flammarion, Paris .PP : 2- 390 .
  31. SERGE B ; 1985. Biochimie clinique instruments et technique de laboratoire diagnostic médicochirogique .Moloine , Paris .PP :176-194.
  32. SLIWAKA C; LEFRERE F;TRAINEAU R ; 1995. Hématologie et soins infirmiers, Paris. PP : 10-218.
  33. SMAILI F; 1999. Abrège hématologie comite pédagogique national d'hématologie, PP: 351-360.
  34. THEML H ; 2000. Atlas proche d'hématologie. médecines sciences Flammarion, Paris. PP: 4-58.
  35. VARET B ; 1997. Livre de l'interne hématologie. médecine science Flammarion, Paris. PP : 40- 45.
-

36. VOET D ; ET VOET JG ; 1998. Biochimie, 2<sup>ème</sup> Ed . Paris. PP: 203- 509.
37. WHETER PR ; YONG B; WHEATH J ; 2001.Histologie fonctionnelle. 4<sup>ème</sup> Ed. l'institut curie , Paris. PP : 1- 20.
38. THIERY L ; GUILHOT F ; 1999. Revue de praticien, Paris.
39. YVES MORIN ; 1997.Petite Larousse de médecine .PP 417-717.
40. ZADA BK; MANSOURY K ; TROCOLI A; 2006. Glivec projet BCP608. 2<sup>er</sup> groupe. université Bordeaux, PP: 1- 11.
41. ZANDEKI M ; 2007. Hématologie biologique. Faculté de médecine – CHU 49000 Angers, France .PP :1- 10.
42. ZITTOUN R ; SAMMA M ; MARIE J ; 1992. Manuel d'hématologie .4<sup>ème</sup> Ed, Paris PP: 4–332.

**Site électronique :**

1. [www.pedagogologie.ac.montpellier.fr.hemato.hmt](http://www.pedagogologie.ac.montpellier.fr/hemato.hmt)



# ***Annexes***

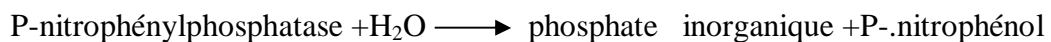
---

**Annexe 01: Phosphatase alcaline****But :**

Mis en évidence, la variation de l'activité phosphatique des polynucléaires neutrophiles sont recherchées essentiellement dans les pathologies mélyoproliférative. (PASCAL ,2002).

**Principe :**

En présence d'ions  $Mg^{+2}$  et de la diéthanolamine comme accepteur de phosphate, le P-nitrophénylphosphatase est scindé par les phosphatases alcalines en phosphate et P-nitrophénol (composé jaune) selon la réaction suivante:

**Réactif1 :R1**

Diéthanolamine	PH10.2	1.4mmol/l
Chlorure de magnésium		0.625mmol/l

**-Réactif 2 :R2**

P-Nitrophénylphosphate	50mmol/l
------------------------	----------

**Echantillons :**

Sérum non hémolysé.

**Mode Opérateur :**

Ce réactif peut être utilisé sur la plupart des automates et en méthode de manuelle .Les adaptation son disponibles sur demande.

-Longueur d'onde : 405 nm

-Température : 37 °C

-Zéro de l'appareil: eau distillée.

**Calcul:**

A450 nm, avec une cuve de 1cm :

**Mono réactif :**

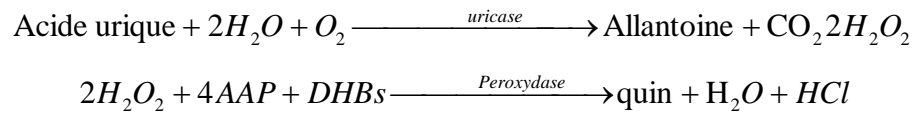
Activité (U/L)=  $\Delta a / \text{min} \times 2750$

---

## Annexe 02 : dosage d'acide urique

### Principe:

Le dosage se fait sur le sérum prélevé à jeun (BERAUD, 2001). Le Principe est. basé sur la détermination enzymatique de l'acide urique selon les réactions suivantes:



DHBS = Acide 3.5 -Dichloro -2. -Hydroxybenzenesulfonique. Quin - Quinoneimine.

4 AAP = Amino - 4 - antipyrine Composition des réactifs

### Réactif 1

Tompon Phosphate, PH 7.50 50 mmol/l

DHBS 2 mmol/L

### Réactif 2

Amino - 4 - antipyrine 0.23 mmol/l

Peroxydase > 660 U/L

Uricase > 60 U/L

### Etalon :

Acide urique 60 mg/L

6 mg/doc

**Réactif de travail** 357 umol/L

Préparation

Dissoudre le réactif 2 dans le réactif 1 comme indiqué sur le flacon de réactif 2. Attendre environ 15 minutes avant utilisation.

### -Mode opératoire :

La méthode ci-dessous est la méthode manuelle pour spectrophotometer.

Ce réactif peut être utilise sur la plupart des automates.

Les adaptations sont disponibles sur demande.

Langueur d'onde:510nm (420-550)

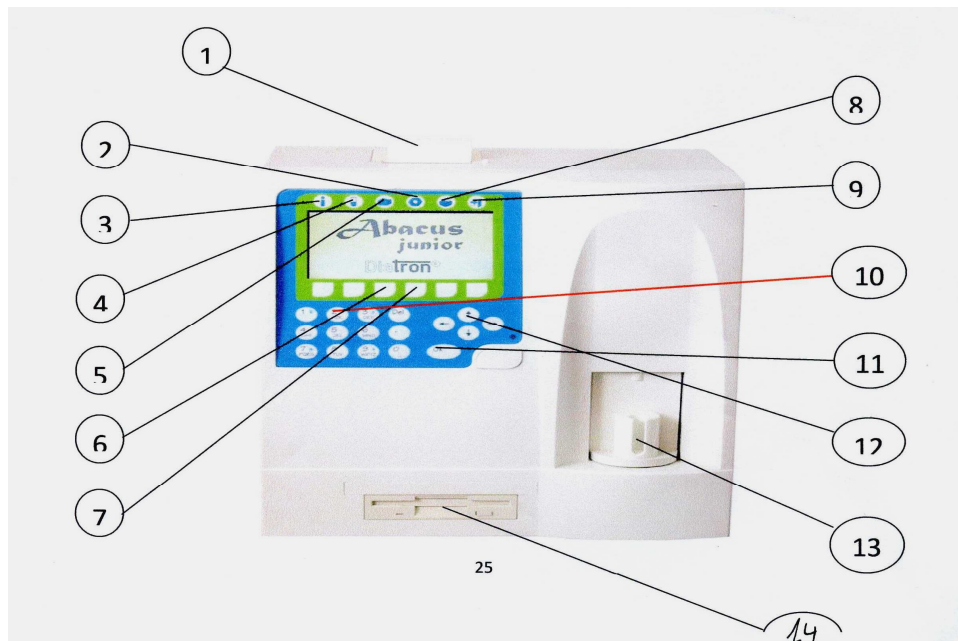
Température; 37

Cuve:trajet optique 1cm

Zéro de l'appareil; blanc réactif.



## Annexe 03:

**Technique d'hémogramme – automatique**

**Abacus+:** l'analyseur hématologique est un instrument de précision et doit être utilisé comme tel. Une utilisation impropre peut générer à une défaillance des composants mécaniques et électroniques, et ou autres problèmes (à utiliser avec prudence).

- |                          |                              |
|--------------------------|------------------------------|
| 1- Imprimante.           | 8- Bouton d'impression.      |
| 2- Bouton de menue.      | 9- Bouton d'exit (sortie).   |
| 3- Bouton d'information. | 10- Bouton Numériques.       |
| 4- Bouton de mesure.     | 11- Bouton OK.               |
| 5- Bouton de données.    | 12- Bouton de control.       |
| 5- Affichage.            | 13- Indicateur de situation. |
| 7- Bouton de fonction.   | 14- Lecteur de disquette.    |

L'analyseur hématologique se compose de trois unités :

**Système de fluidité :** performance des échantillons, dilué malaxage et des fonctions, génère la régulation du VACUUM utilisé pour le mouvement des cellules a travers l'appareil durant le processus de comptage

**Systèmes des processus de données :** il compte, mesure et calcule les paramètres du sang, génère et stocke les résultats numérique et histogrammes.

**Panel de contrôle :** la caractéristique en affichage <<L.C.D>> à 29 boutons et en parallèle (imprimante exterieur) et des interfaces en série (computer).

**Annexe 04 :**



**Figure 02 : coloration automatique de frottis sanguin (héma-tek)**