

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

UNIVERSITE SAAD DAHLAB-BLIDA 1



FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE CELLULAIRE

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du Diplôme de Master Domaine Science de la Nature et de la vie, Filière Sciences Biologiques,

Option : Génétique

Dont le thème :

**LA CINETIQUE DE LA MALADIE RESIDUELLE DANS LA LEUCEMIE MYLOIDE
CHRONIQUE CHEZ LES PATIENTS EN REMISSION MOLECULAIRE PROFONDE
ET EN ARRET DE LA THÉRAPIE CIBLÉE LES ANTI-TYROSINE-KINASES**

Soutenu le : 29 /09/2020

Par ALLAMI SARA et ZEDAM IMANE

Devant le jury composé de :

Nom Prénom	Grade	Lieu	Qualité
Mme. SAADI Leila	Professeur	USDB	Présidente
Mme CHAKHMA Asmaa	MAA	USDB	Examinatrice
Mr. MOHAMED SAID Ramdane	MCA	USDB	Promoteur
Mme BOUCHAKOR M.Y.	MCA	EHS ELCC Blida	Co-Promotrice

Remerciements

Nous tenons à remercier toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire.

Nous voudrions dans un premier temps remercier, notre promoteur Mr MOHAMED SAÏD, pour sa patience, son attention et surtout ses judicieux conseils, qui ont guidé notre réflexion.

Nous tenons à exprimer notre reconnaissance à Mme BOUCHAKOR de nous avoir proposé ce sujet et de nous avoir accueilli dans son service ; on la remercie beaucoup pour l'aide si précieuse qu'elle nous a apporté et ses précieux conseils qui nous ont énormément aidé pour la réalisation et la rédaction de ce mémoire. Nous remercions vivement le Professeur SAADI et Madame CHEKHMA d'avoir accepté et pris l'attention d'évaluer ce modeste travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à tous les enseignants, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont éclairé nos zones d'ombre.

Une pensée très sincère à Mme KEBBAS, que nous estimons énormément « Que Dieu l'accueille dans son vaste Paradis »

Dédicace, Imane.

A MON TRES CHER PERE ZEDAM DJILALI

Tu as été et tu seras toujours un exemple à suivre pour tes qualités humaines, ta persévérance et ton perfectionnisme. Des mots ne pourront jamais exprimer la profondeur de mon respect, ma considération, ma reconnaissance et mon amour éternel. Que Dieu te préserve des malheurs de la vie afin que tu demeures le flambeau illuminant mon chemin... Ce travail est ton œuvre, toi qui m'a donné tant de choses et tu continues à le faire...sans jamais te plaindre. J'aimerais pouvoir te rendre tout l'amour et la dévotion que tu nous as offerts, mais une vie entière n'y suffirait pas. J'espère au moins que ce travail y contribuera en partie. A celui qui m'a aidé à découvrir le 'savoir', le trésor inépuisable. Tu as su m'entourer d'attention, m'apprendre le sens du travail, de l'honnêteté et de la responsabilité. Puisse Dieu tout puissant te protéger du mal, te procurer longue vie, santé et bonheur afin que je puisse te rendre un minimum de ce que je te dois.

A MA TRÈS CHÈRE MÈRE FATMA

A la plus douce et la plus merveilleuse de toutes les mamans Aucun hommage ne saurait transmettre à sa juste valeur ; l'amour, le dévouement et le respect que je porte pour toi. Sans toi, je ne suis rien. Je te dédie à mon tour cette thèse qui concrétise ton rêve le plus cher et qui n'est que le fruit de tes conseils et de tes encouragements. Tu n'as pas cessé de me soutenir et de m'encourager, ton amour, ta générosité exemplaire et ta présence constante ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui. J'espère que tu trouveras dans ce modeste travail un témoignage de ma gratitude, ma profonde affection et mon profond respect. Puisse Dieu tout puissant te protéger du mal, te procurer longue vie, santé et bonheur afin que je puisse te rendre un minimum de ce que je te dois.

A MA TRÈS CHÈRE SŒUR ET CONFIDENTE HAKIMA

Toi qui m'a assisté dans les moments difficiles et m'a pris doucement par la main pour traverser des épreuves pénibles.... Je te suis très reconnaissante, et je ne te remercierai jamais assez pour ton amabilité, ta générosité et ton soutien moral et ton aide précieuse.

*Et je remercie son mari **MOULOUD** pour leur encouragement, et leurs enfants **ABDERRAOUF**, **MOUAD** et **WASSIM***

A mes chers frères

***TAREK** je te remercie pour ton aide précieuse et ta générosité, **MOUHAMED** et **BILEL** pour leur appui et leur encouragement.*

*A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire. A ma très chère binôme **SARA**, merci pour ton sérieux et tes sacrifices pour réaliser ce travail ensemble. Je te souhaite le bonheur dans toute ta vie.*

Merci d'être toujours là pour moi.

Dédicace, Sara.

Dédicace : Je dédie ce modeste travail à : Avant tous, à mes parents pour leur amour, leur soutien, leur compréhension et l'aide précieuse (tant morale que matérielle) qu'ils m'ont toujours apporté. Ma sœur pour tous ce qu'elle a fait pour m'encourager. Ma petite famille bilal et tasnime. Mon oncle hamza qui m'a aidé. Toutes les familles ALLAMI et BAILA. Toutes ceux et celles que j'aime de près ou de loin.

Sara.

Résumé

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est un syndrome myeloprolifératifs prédominant sur la lignée granuleuse, résulte d'une régulation de la production de la tyrosine kinase induite par la protéine BCR/ABL produite à partir du gène de fusion de la translocation (9 ; 22) caractéristique de la maladie. L'étude cytogénétique (caryotype, FISH) et la biologie moléculaire (RT-PCR) sont actuellement des examens clés pour le diagnostic et le suivi thérapeutique.

L'objectif de notre travail est de suivre la cinétique de la maladie résiduelle dans la leucémie myéloïde chronique, chez les patients en rémission moléculaire profonde et en arrêt de la thérapie ciblée les anti-tyrosines kinases de première génération et en première ligne par la technique récente de biologie moléculaire la PCR GeneXpert complètement automatisée dont le but crucial du suivi est l'évaluation de la rémission moléculaire sans traitement de chaque patient (TFR) la première année de l'arrêt .

Nous rapportons les résultats d'une étude rétrospective sur 20 patients atteints de LMC sous Imatinib en rémission moléculaire profonde et en arrêt de l'Imatinib Il s'agit d'une étude réalisée au sein de laboratoire de cytogénétique conventionnelle et moléculaire du service d'hématologie de l'EHS ELCC Blida.

Les résultats de notre étude révèlent que l'âge moyen des patients, de notre cohorte était de 45 ans avec une prédominance masculine. Le score sokal de cette cohorte était faible dans 35%, un risque intermédiaire dans 50%, un haut risque à 15% et 100% des patients étaient en phase chronique de la maladie et ont été mis sous Imatinib en première ligne, 60% des patients ont eu une réponse optimale à 3 mois, 55% à 6 mois et 95% à 12 mois et plus , la rémission moléculaire profonde obtenue chez les 20 patients confirmée pendant 24 mois avec une prise de l'Imatinib de plus de 5 ans avec une moyenne de 8,5 ans. Les 20 patients ont arrêté le traitement, le suivi était fait par PCR GeneXpert, qui nous a permis de suivre la cinétique de la RMM. L'évaluation de la TFR faite selon les recommandations internationales chaque mois les 6 premiers mois et chaque 2 mois les 6 autres. Les résultats obtenus ,60% de nos patients ont pu garder leurs RMP. Au-delà de 6 mois et 40 % ont perdu leurs RMM dans les 6 premiers mois et qui ont nécessité une reprise du traitement par l'Imatinib, et que le traitement était aussi efficace puisque, une RMM est réobtenue après 5 et 9 mois de la reprise. La PCR automatisée par GeneXpert est un outil nécessaire pour le suivi moléculaire de la maladie résiduelle chez les patients atteints de LMC sous et en arrêt de l'antityrosine kinase pour évaluer la RST.

Mots clés : leucémie myéloïde chronique, antityrosine kinase, PCR GeneXpert, maladie résiduelle, score pronostic, réponse optimale, TFR, RMM.

ABSTRACT

Chronic myelogenous leukemia (CML) is a myeloproliferative syndrome predominant on the granular lineage, results from regulation of the production of tyrosine kinase induced by the BCR / ABL protein produced from the translocation fusion gene (9; 22) characteristic of the disease.

The cytogenetic study (karyotype, FISH) and molecular biology (RT-PCR) are currently key examinations for diagnosis and therapeutic monitoring.

The objective of our work is to follow the kinetics of the residual disease in chronic myeloid leukemia, in patients in deep molecular remission and in stopping the targeted therapy of the first generation anti-tyrosine kinases and on the first line by the technique. Recent molecular biology, the fully automated GeneXpert PCR whose crucial monitoring goal is the evaluation of the untreated molecular remission of each patient (FRT) in the first year of discontinuation.

We report the results of a retrospective study on 20 patients with CML under Imatinib in deep molecular remission and in discontinuation of Imatinib, This is a study carried out in the conventional and molecular cytogenetics laboratory of the department of hematology of EHS ELCC Blida.

The results of our study reveal that the mean age of the patients in our cohort was 45 years with a male predominance. The sokal score of this cohort was low in 35%, an intermediate risk in 50%, and a high risk in 15%. 100 % of the patients were in the chronic phase of the disease and were started on Imatinib in first line, 60% of the patients had an optimal response at 3 months, 55% at 6 months and 95% at 12 months and more. The deep molecular remission obtained in the 20 patients confirmed for 24 months with taking Imatinib for more than 5 years with an average of 8.5 years. The 20 patients stopped the treatment; PCR GeneXpert, which allowed us to follow the kinetics of the RMM, did the follow-up. The TFR assessment made according to international recommendations, every month for the first 6 months and every 2 months for the other six. The results obtained, 60% of our patients were able to keep their RMP beyond 6 months and 40% lost their RMM in the first 6 months; and which required a resumption of treatment with Imatinib, and that the treatment was also effective since an RMM is obtained again after 5 and 9 months of the recovery.

GeneXpert automated PCR is a necessary tool for molecular monitoring of residual disease in patients with CML on and off antityrosine kinase to assess RST

Key words: chronic myeloid leukemia, antityrosine kinase, PCR GeneXpert, residual disease, prognosis score, optimal response, TFR, RMM.

ملخص

هو متلازمة تكاثر نقوي سائد على السلالة الحبيبية، وينتج عن تنظيم إنتاج التير وزين كيناز (CML) ابيضاض الدم النقوي المزمن النمط النووي، (الناتج من جين الاندماج الانتقالي (9؛ 22) صفة المرض. تعد الدراسة الوراثية الخلوية BCR / ABL الناجم عن بروتين حالياً من الاختبارات الرئيسية للتشخيص والمراقبة العلاجية (RT-PCR) والبيولوجيا الجزيئية (FISH)

الهدف من عملنا هو متابعة حركية المرض المتبقي في ابيضاض الدم النخاعي المزمن، وفي المرضى الذين يعانون من مغفرة جزيئية عميقة ووقف العلاج المستهدف للجيل الأول من كينازات التير وزين وعلى الخط الأول من خلال التقنية. علم الأحياء الجزيئي الأخير، (FRT) المؤتمت بالكامل والذي يتمثل هدفه الأساسي في رصده في تقييم مغفرة الجزيئية غير المعالجة لكل مريض GeneXpert PCR في السنة الأولى من التوقف

في مغفرة جزيئية Imatinib أبلغنا عن نتائج دراسة بأثر رجعي أجريت على 20 مريضاً مصاباً بسرطان الدم النخاعي المزمن تحت EHS ELCC هذه دراسة أجريت في مختبر الوراثة الخلوية التقليدي والجزيئي في قسم أمراض الدم في Imatinib عميقة وفي إيقاف البلدة

تكشف نتائج دراستنا أن متوسط عمر المرضى في مجموعتنا كان 45 عامًا مع غلبة ذكور، وكانت النتيجة السوكالية لهذه المجموعة منخفضة بنسبة 35٪، وخطر متوسط في 50٪، ومخاطر عالية في 15٪، 100٪ من المرضى كانوا في المرحلة المزمنة من المرض في الخط الأول، 60٪ من المرضى لديهم استجابة مثالية في 3 أشهر، 55٪ في 6 أشهر و95٪ في 12 Imatinib وبدأوا في علاج شهرًا وأكثر، تم تأكيد مغفرة الجزيئات العميقة التي تم الحصول عليها في 20 مريضًا لمدة 24 شهرًا مع تناول إيماتينيب لأكثر من 5 ، مما سمح لنا بمتابعة حركية GeneXpert PCR سنوات بمتوسط 8.5 سنوات. أوقف 20 مريضًا العلاج، وتمت المتابعة بواسطة يتم إجراء تقييم معدل الخصوبة الإجمالي وفقًا للتوصيات الدولية كل شهر لأول 6 أشهر وكل شهرين للأشهر الستة الأخرى. RMM. في الأشهر الستة RMM لأكثر من 6 أشهر و40٪ فقدوا RMP النتائج التي تم الحصول عليها، 60٪ من مرضانا تمكنوا من الاحتفاظ بـ مرة أخرى RMM ، وأن العلاج كان فعال أيضًا منذ ذلك الحين، يتم الحصول على Imatinib الأولى والتي تطلبت استئناف العلاج مع أداة ضرورية للرصد الجزيئي للمرض المتبقي في المرضى GeneXpert الألي بواسطة PCR بعد 5 و9 أشهر من الشفاء، يعد RST إلى تقييم antityrosine kinase

الكلمات المفتاحية: ابيضاض الدم النخاعي المزمن، كيناز مضاد التيروزين، المرض المتبقي، درجة الإنذار، الاستجابة المثلى ،

TFR PCR GeneXpert CML

Liste des abréviations.

- ABL** : Abelson. **BCR**: Break point Cluster Region.
- EDTA** : ÉthylèneDiamineTétraAcétique.
- ELN** : European Leukemia Net.
- FISH** : Fluorescence In Situ par Hybridation.
- FNS** : Formule de Numération Sanguine.
- GAP**: GTPases-activating protein.
- GDP**: GuanosineDiphosphate.
- GTP**: Guanosine Triphosphate.
- ITK**: Inhibiteur de Tyrosine Kinase.
- LMC**: LeucémieMyéloïdeChronique.
- M BCR-ABL**: Major BCR-ABL.
- m BCR-ABL**: Minor BCR-ABL.
- Ph.**: chromosome de Philadelphie.
- PI3K**: Phosphoinositide 3-kinase.
- SH**: Src homology Domain.
- STAT**: Signal Transducer and Activators of Transcription.
- CSH**: cellule souche hématopoïétique.
- EUTOS**: European Treatment and Outcome Study of CML.
- IFN- α** : interferon-alpha.
- NCCN**: National Comprehensive Cancer Network.
- RCyC** : Réponse cytogénétique complète.
- RCyM** : Réponse cytogénétique majeure.
- RCyP** : Réponse cytogénétique partielle.
- RHC** : Réponse hématologique complète.
- RMC** : Réponse moléculaire complète.
- RMM** : Réponse moléculaire majeure.
- RQ-PCR** : Real-Time Quantitative Polymerase Chain Reaction.
- RT-PCR** : Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Découvertes majeures dans les syndromes myeloproliferatifs.....	4
Figure 2 : Historique de la leucémie myéloïde chronique : un paradigme de traitement du cancer.....	5
Figure 3 : Représentation schématique de l'hématopoïèse normale et leucémique.....	6
Figure 4 : Impact de la LMC sur la lignée granuleuse.....	8
Figure 5 : Formation de chromosome Philadelphie.....	8
Figure 6 : Structure du gène ABL.....	9
Figure 7 : Structure de la protéine ABL.....	11
Figure 8 : DTK (domaine de tyrosine kinase) d'ABL et mécanisme d'activation.....	12
Figure 9 : Structure du gène BCR.....	13
Figure 10 : Structure de la protéine BCR.....	13
Figure 11 : Les différents points de cassures du gène BCR-ABL.....	15
Figure 12 : Les différentes voies de signalisation cellulaire activées par BCR-ABL1.....	17
Figure 13 : Frottis sanguin LMC.....	20
Figure 14 : Caryotype médullaire.....	22
Figure 15 : Technique de FISH.....	23
Figure 16 : Les étapes de polymérase Chain réaction.....	24
Figure 17 : La technique de PCR par méthode automatisé GeneXpert.....	26
Figure 18 : Mécanisme d'action de l'imatinib sur BCR-ABL.....	32
Figure 19 : Conformation des différentes molécules imatinib, Nilotinib et dasatinib et leurs liaisons à la protéine BCR-ABL.....	34
Figure 20 : Les étapes de la préparation de l'échantillon.....	55
Figure 2 : Image de l'appareil Cepheid et son équipement (scanner, ordinateur, clavier, cartouche)....	56
Figure 22 : Répartition des patients selon la tranche d'âge.....	57
Figure 23 : Répartition des patients selon le sexe.....	57
Figure 24 : Distribution des patients selon l'origine	58
Figure 25 : Distribution des patients selon la profession	59

Figure 26 : Répartition des patients selon les résultat cytogénétique au diagnostic.....	60
Figure 27 : Division des patients selon le score de Sokal.....	61
Figure 28 : Division des patients selon le score EUTOS.....	61
Figure 29 : Division des patients selon le score d'ELTS.....	62
Figure 30 : Répartition des patients selon la phases de la maladie.....	63
Figure 31 : Répartition des patients selon l'années du début de traitement.....	63
Figure 32 : Evaluation de la réponse à l'imatinib à 3 mois.....	65
Figure 33 : Evaluation de la réponse à l'imatinib à 6 mois.....	66
Figure 34 : Evaluation de la réponse à l'imatinib à 12 mois.....	67
Figure 35 : Evaluation de la réponse à l'imatinib à 18 mois.....	68
Figure 36 : Evaluation de la réponse à l'imatinib selon l'ELN.....	69
Figure 37 : Evaluation de la RMP après 5 ans de l imatinib.....	70
Figure 38 : La confirmation de la RMP pendant 24 mois.....	71
Figure 39 : La répartition des patients selon la perte /ou maintien de la RMM.....	73
Figure 40 : La répartition des patients selon le maintien ou la rechute de la RST	74
Figure 41 : résultat des patients selon la durée de la RST (Duré de TFR Ayant perdu la RMM).....	75
Figure 42 : résultat des patients selon la durée de la RST (Duré de TFR Sans traitement)	75
Figure 43 : la répartition des patients selon la réponse après reprise d'imatinib	76
Figure 44 : La répartition des patients selon les événements secondaire (syndrome de sevrage).....	77

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Récapitulatif de la symptomatologie clinique de la LMC (ELN)	19
Tableau II : les différents inhibiteurs de tyrosines kinases.....	33
Tableau III : réponse au traitement pour la LMC	35
Tableau IV : Critères de réponses au traitement selon l'ELN 2013(CML avocates).....	39
Tableau V : Critères de réponses au traitement selon l'ELN 2020	40
Tableau VI : Evaluation de la réponse à l'imatinib à 3 mois	64
Tableau VII : Evaluation de la réponse à l'imatinib à 6 mois	65
Tableau VIII : Evaluation de la réponse à l'imatinib à 12 mois.....	66
Tableau IX : Evaluation de la réponse à l'imatinib à 18 mois	67
Tableau X : Evaluation de la réponse à l'imatinib selon l'ELN	68
Tableau XI : Résultats du suivi de la rémission sans traitement (RST) (TFR)	72
Tableau XII : Résultat des patients selon la durée de la RST	74
Tableau XIII : Résultat des patients selon RMM après reprise d'imatinib	75
Tableau XIV : Résultat des patients selon les évènements secondaires (syndrome sevrage).....	76

SOMMAIRE

Introduction

Partie bibliographique

Chapitre I : La leucémie myéloïde chronique	3
I.1. généralités.....	3
I.2. historique.....	3
I.3. épidémiologie.....	5
I.4. Étiologies.....	6
I.5. Physiopathologie.....	6
I.5.1. Mécanisme hématologique.....	6
I.5.2. Mécanisme moléculaire.....	8
I.5.3. Gène ABL	9
I.5.4. Gène BCR.....	12
I.5.5. Signalisation Induite par les oncogène BCR ABL.....	16
Chapitre II. Diagnostic de la leucémie myéloïde chronique	18
II.1. Diagnostic clinique.....	18
II.2. Diagnostic biologique.....	19
II.3. Diagnostic cytogénétique.....	21
II.3.1. Caryotype.....	21
II.3.2. FISH.....	22
II.4. Diagnostic cytogénétique et moléculaire.....	23
II.4.1. PCR en temps réel la RQ-PCR	23
II.4.2. PCR automatisée par GENEXPERT.....	24
Chapitre III. Evolution et Pronostic de la LMC	27
III.1. Les phases de la LMC.....	27
III.2. Le Pronostic de la LMC	28
III.2. Score de Sokal.....	28
III.3. Indice de Hasford ou score EURO.....	28
III.4. Score EUTOS.....	29
III.5. Score d'ELTS.....	29
Chapitre IV Traitement de la LMC	30
IV.1. L'objectif du traitement.....	30
IV.2 Moyens thérapeutiques.....	31
IV.3. Indication des ITK.....	34
IV.4. La Surveillance de traitement et les intérêts de réponse.....	35
IV.5. les résultats de traitement.....	38
IV.6. La rémission sans traitement (RST).....	38
Chapitre V. L'arrêt de traitement	39
V.1- Intérêt de l'arrêt de traitement.....	39
V.2-Indications de l'arrêt des ITK.....	40
V.3-Surveillance lors de l'arrêt de traitement.....	41
V.4-Les études d'arrêt de l'ITK	42
Chapitre VI. : PATIENTS ET METHODES	49
VI. PATIENTS ET METHODE	49
VI.1 Patients	49

VI.2 Méthodes	50
VI.2.1. Prélèvements et comptage.....	50
VI.2.2. Hémogramme.....	50
VI.2.3. Frottis sanguin.....	51
VI.2.4. Médullogramme (ou myélogramme).....	51
VI.2.5. Prélèvement pour la cytogénétique	51
VI.2.6. La biologie moléculaire par Gene-Xpert PCR Ultra pour le suivi moléculaire des patients sous traitement.....	53
VI.3 Analyse statistique.....	56
Chapitre VII : RESULTATS	57
VII. RESULTATS	57
VII.1.Au diagnostic.....	57
VII.1.1.Le diagnostic cytogénétique	59
VII.1.2 Les Scores Pronostiques.....	60
VII.1.3.Phases de la maladie.....	63
VII.2.Traitement	63
VII.2.1 Le suivi du traitement par l'imatinib	64
VII.2.2 La réponse au traitement de première ligne.....	64
VII.2.3. La réponse à 3 mois.....	64
VII.2.4. La réponse à 6 mois.....	65
VII.2.5. La réponse à 12 mois.....	66
VII.2.6. La réponse à 18 mois.....	67
VII.2.7. L'arrêt du traitement :	70
VII.2.8. Evaluation de la rémission sans traitement (RST) (TFR).....	71
Chapitre VII : DISCUSSION	78
DISCUSSION	78
CONCLUSION.....	80
REFERENCESBIBLIOGRAPHIQUES.....	81
ANNEXE	

Introduction

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est une hémopathie maligne appartenant au groupe des syndromes mélo-prolifératifs (SMP) ou néoplasies mélo-prolifératives selon la classification OMS 2008 et son actualisation de 2016 (1). L'anomalie cytogénétique acquise définissant la LMC, nommée chromosome de Philadelphie (Ph), témoigne d'une translocation réciproque t(9q; 22q) entre les bras longs des Chromosomes 9 et 22. Elle est retrouvée dans plus de 95% de cas de LMC en cytogénétique conventionnelle. Cette translocation entraîne la production d'un gène de fusion BCR-ABL (Break point Cluster Région-Abelson Murine Leukemia) qui est retrouvé dans 100% des cas (2).

En Algérie, ce type de cancer a enregistré une prévalence passant de 472 cas en 2004 à 1330 cas en 2014, avec une incidence de 0.40 à 0,53/100.000 habitants en 2018 (3). Selon le groupe algérien de travail sur la LMC (GAT-LMC), les moyens de suivi moléculaire demeurent très insuffisants dans notre pays, puisqu'à ce jour, seulement 39% ont pu bénéficier des tests Biomoléculaires. Ainsi, en l'absence de ces moyens, la prise en charge des patients pose un problème de santé publique majeur, ces derniers peuvent, à défaut de dépistage précoce, développer des résistances au traitement, aboutissant éventuellement à des épisodes brusquement fatales. Depuis quelques années, le traitement de la leucémie myéloïde chronique a connu plusieurs révolutions dont le principal est l'avènement des thérapies ciblées, des médicaments agissant sur les signaux responsables de la croissance anarchique des cellules cancéreuses. Dans la leucémie myéloïde chronique, ces médicaments ciblent les cellules malades porteuses du chromosome Philadelphie et du gène Bcr-Abl. Ils permettent d'empêcher l'évolution de la leucémie myéloïde chronique et de la maintenir dans sa phase chronique.

Le traitement en phase chronique a pour objectif la rémission hématologique rapide et surtout l'éradication la plus complète possible des cellules porteuses du chromosome Ph.

L'année 2001 a vu naître la première molécule d'une nouvelle génération de médicaments qui allaient métamorphoser l'arsenal thérapeutique en oncologie. L'imatinib a été le premier inhibiteur de la tyrosine kinase à être commercialisé dans le monde entier. Cette thérapie ciblée a ouvert la voie à la découverte d'une centaine autres agents et a révolutionné la thérapie de la leucémie myéloïde chronique (LMC). Depuis, deux autres molécules se sont ajoutées au traitement de cette maladie : le dasatinib et le Nilotinib. (4)

Le monde a connu des avancées thérapeutiques majeures grâce à une meilleure compréhension de la maladie et au traitement par inhibiteur de la tyrosine kinase (ITK), qui a donné des résultats spectaculaires. En fait, de nombreux patients atteints de LMC sous ITK, qui obtiennent une réponse profonde et stable au traitement aspirent aujourd'hui à une rémission sans traitement (RST). On parle de rémission sans traitement lorsqu'un patient qui cesse le traitement par ITK arrive à maintenir une réponse moléculaire profonde (RMP) sans devoir reprendre le traitement.

Plusieurs études ont évalué la faisabilité d'un arrêt de traitement par ITK avec suivi rapproché de la maladie résiduelle par biologie moléculaire (PCR) et les risques associés à cette option chez des patients triés sur le volet qui avaient obtenu une réponse moléculaire profonde (RMP) et l'avaient maintenue pendant au moins deux ans.

A travers notre étude, nous allons mettre en évidence l'intérêt d'une technique de biologie moléculaire très développée et complètement automatisé, notamment la PCR GeneXpert dont le but est de suivre la cinétique de la maladie résiduelle des patients LMC sous Imatinib en rémission moléculaire profonde confirmée , en arrêt de l'Imatinib en vue d'une rémission sans traitement .(5)

I. La Leucémie Myéloïde Chronique : LMC

I. 1. Généralités :

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est une hémopathie maligne chronique, rentrant dans le cadre des syndromes myeloprolifératifs (granuleux) caractérisée par :

Une anomalie monoclonale acquise de la cellule souche hématopoïétique pluripotente avec prolifération myéloïde au niveau de la moelle osseuse, une conservation de la maturation avec passage dans le sang périphérique et les organes normalement dépourvus de tissu myéloïde «la rate et le foie».

Une anomalie cytogénétique acquise, le chromosome Philadelphie qui résulte d'une translocation (9;22) (q34 ; q11) présente dans les cellules granuleuses, monocytaires, erythroblastiques, mégacaryocytes et aussi dans les lymphocytes B, parfois dans les lymphocytes T.

Une évolution biphasique : une phase chronique myelocyttaire et une phase de transformation blastique de très mauvais pronostic réalisant un tableau de leucémie aiguë.

I.2. Historique :

La plupart des affections malignes regroupées aujourd'hui au sein des syndromes méloprolifératifs ont été décrites dans la deuxième partie du XIXème siècle; c'est le cas de la leucémie myéloïde chronique (LMC), de la myélofibrose primitive (MP) et de la polyglobulie de Vaquez (PV). Il a fallu attendre la première moitié du XXème siècle pour que la thrombocytémie essentielle (TE) soit décrite et pour que le concept de SMP soit développé par William Dameshek (6) (Figure 1). En 1841, David Craigie a remarqué chez un patient l'association d'une fièvre, splénomégalie et hyperleucocytose, et dont l'évolution était fatale. 3 ans plus tard il a remarqué les mêmes symptômes et évolution chez un second patient, ce qui a poussé son collègue John Hughes Bennett, médecin et pathologiste d'Edinburgh, à faire une autopsie et décrire ses conclusions en 1845 dans le journal médical et chirurgical d'Edinburgh(7), et a pensé que le patient est décédé suite à la présence de pus dans le sang secondaire à une infection (8).

Quelques semaines plus tard, R. Virchow a estimé que la cause de la maladie était une altération dans l'hématopoïèse. Il a ainsi inventé le terme descriptif « Weisses blut » ou « sang blanc » qui va devenir en allemand « Leukämie » (9).

Chapitre I : LA LEUCEMIE MYELOÏDE CHRONIQUE

La prochaine étape importante dans l'histoire de la LMC s'est produite 100 ans plus tard, quand au début des années 1960, et avec l'apparition de la cytogénétique, deux chercheurs de Philadelphie ; Peter Nowell et David Hungerford, ainsi que d'autres chercheurs, ont identifié un chromosome de petite taille dans les cellules tumorales des patients atteints de LMC, auquel ils ont donné en accord avec le comité de normalisation des chromosomes, le nom de la ville d'origine de sa découverte: le chromosome Philadelphie (Ph1) **(10)** (Figure 1) Ensuite, en 1973, Janet Rowley a reconnu que le chromosome Philadelphie était, en effet, le produit d'une translocation réciproque avec échange de matériel chromosomique entre les bras longs des chromosomes 9 et 22 **(11)**. En 1977, Philip J. Fialkow et al. ont mis en évidence la nature clonale de la maladie. En fait, le chromosome Philadelphie n'est retrouvé que dans les lignées hématopoïétiques **(12)**. Plus tard et grâce à la biologie moléculaire, le début des années 1980 a vu l'identification de deux gènes : BCR et ABL, qui encadrent le point de fusion de la translocation **(13)**.

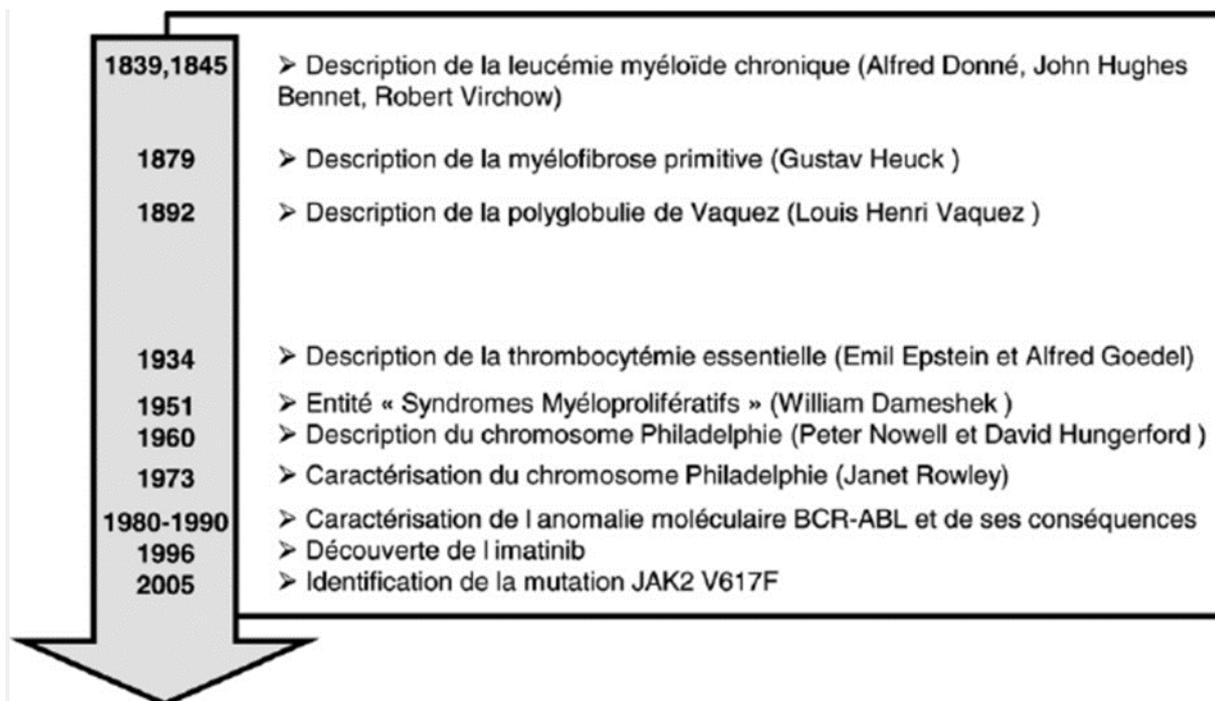


Figure 1 : Découvertes majeures dans les syndromes myéloprolifératifs **(10)**

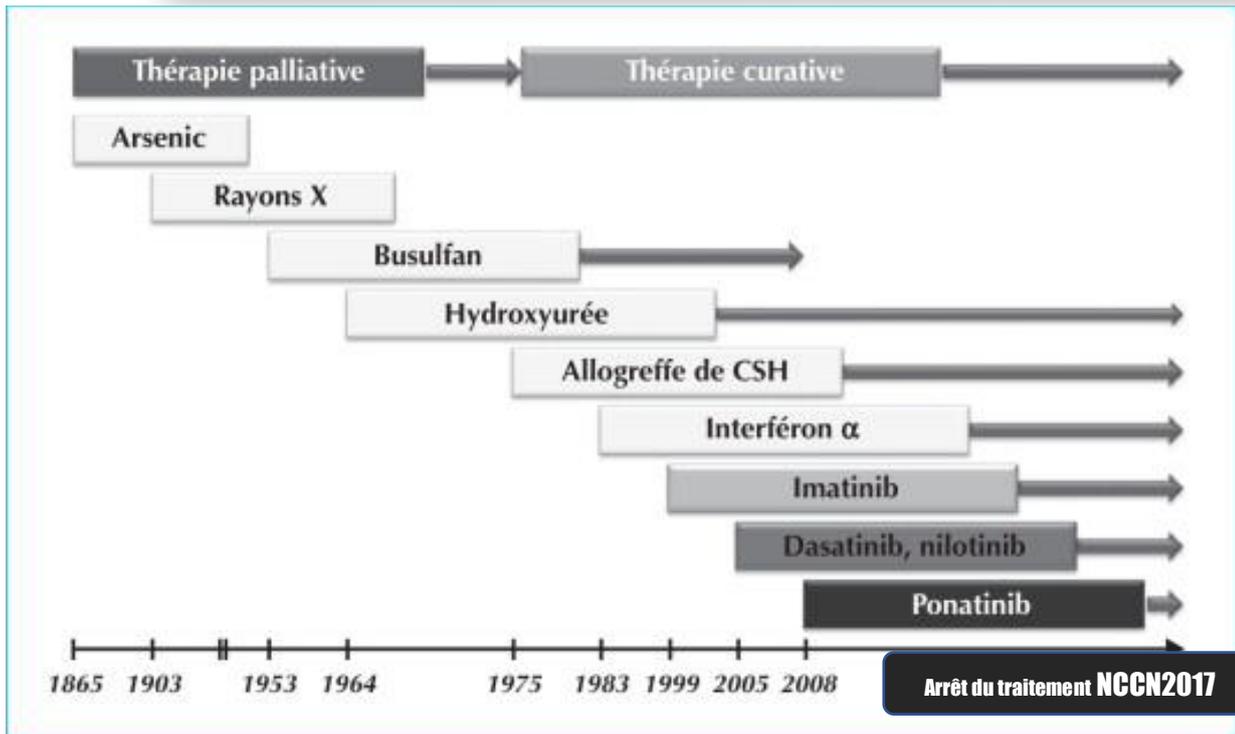


Figure 2 : Historique de la leucémie myéloïde chronique : un paradigme de traitement du cancer. (13)

I.3. Épidémiologie :

La LMC est une maladie rare représentant environ 15-20 % des leucémies nouvellement diagnostiquées de l'adulte.

Elle affecte les deux sexes, avec une légère prédominance masculine, le sex-ratio Homme / Femme est estimé à 1,3. Son incidence est relativement faible, estimée entre 1 et 1.5 / 100000 habitants, sa prévalence est en augmentation en raison des progrès observés en termes de survie après l'introduction des ITK (14). Elle augmente avec l'âge, passant d'un cas pour 1 million d'enfants de moins de 10 ans, à plus de 30 pour 1 million d'individus après 60 ans.

L'âge médian au moment du diagnostic est variable selon les séries et se situe entre 30 et 60 ans (15)

En Algérie, l'âge médian au diagnostic est de 48 ans. On décrit une atteinte préférentiellement masculine avec un sex-ratio de 1,2 (16).

On note une augmentation de l'incidence qui passe de 0,19 pour 100.000 habitants en 1994 à 0,44 pour 100.000 habitants en 2009 puis, reste stable, elle oscille entre 0,41 et 0,51 /100000 habitants entre 2010 et 2018. Le nombre moyen de nouveaux cas par an est de 170. La prévalence de la LMC en Algérie est actuellement en progression, elle n'était que de 472 cas en 2004 et 806 cas en 2009. Elle est autour de 1000 en 2013 et 1688 cas en 2018 avec un taux de prévalence de 4 %. La prévalence prédictive en Algérie en 2030 est de 8,25% (17).

I.4. Etiologies :

Le rôle des radiations ionisantes dans l'apparition des leucémies a été le premier à être décrit, à partir de la cohorte des survivants de Hiroshima et Nagasaki, chez lesquels un excès de cas de leucémie a été retrouvé (18). Une méta-analyse portant sur 14 études publiées entre 1984 et 2004 a permis de confirmer une association possible entre une exposition aux pesticides (herbicides phénoxyacétiques) et le développement d'une LMC chez les agriculteurs ou fermiers (19). Des facteurs génétiques héréditaires ont été incriminés dans la survenue de la translocation. En effet, plusieurs SNP (single nucléotide polymorphisme) ont été identifiés comme pouvant être associés à une prédisposition à développer une LMC (20).

I.5. Physiopathologie

I.5.1. Mécanisme hématologique :

La LMC est un syndrome myeloprolifératif prédominant sur la lignée granuleuse, elle est caractérisée par l'existence d'une hyperleucocytose à polynucléaire neutrophile avec une myélémie initialement équilibrée, une basophilie et une éosinophilie, fréquemment associée à une thrombocytémie. (Figure 3) La leucémie myéloïde chronique se développe lorsqu'une cellule-souche pro génitrice pluripotente anormale initie une production excessive de toutes les cellules de la lignée myéloïde, principalement dans la moelle osseuse, mais aussi dans des sites extra médullaires (p. ex., rate, foie). Bien que la production de granulocytes prédomine, le clone malin comprend des globules rouges, des mégacaryocytes, des monocytes et même une certaine proportion de lymphocytes B et T. Les cellules-souches normales sont inhibées et peuvent émerger après suppression du clone leucémique de la leucémie myéloïde chronique par le traitement.

Chapitre I : LA LEUCEMIE MYELOÏDE CHRONIQUE

Il existe différentes formes de leucémie en fonction du type de cellules sanguines touchées. Le terme « chronique » décrit une progression graduelle ou lente, et « myéloïde » indique qu'elle prend son origine dans les cellules myéloïdes, qui sont des cellules immatures évoluant normalement en globules rouges, globules blancs, ou plaquettes.

Dans la leucémie myéloïde chronique, la moelle osseuse produit beaucoup trop de cellules sanguines myéloïdes à différents stades de maturation, comprenant notamment des cellules connues sous le nom de granulocytes, de métamyélocytes, myélocytes, promyélocytes et de myéloblastes immatures. Les plaquettes et les basophiles (différentes cellules myéloïdes responsables, en partie, des réponses allergiques) sont souvent également en excès lors du diagnostic. La production excessive de cellules sanguines myéloïdes dans la moelle osseuse empêche la production normale de globules rouges, dont le rôle dans le transport de l'oxygène à destination des cellules de l'organisme est essentiel. Cette surproduction peut aussi réduire le nombre de plaquettes (thrombocytopenie). Or, les plaquettes sanguines jouent un rôle crucial en cas de saignement (21).

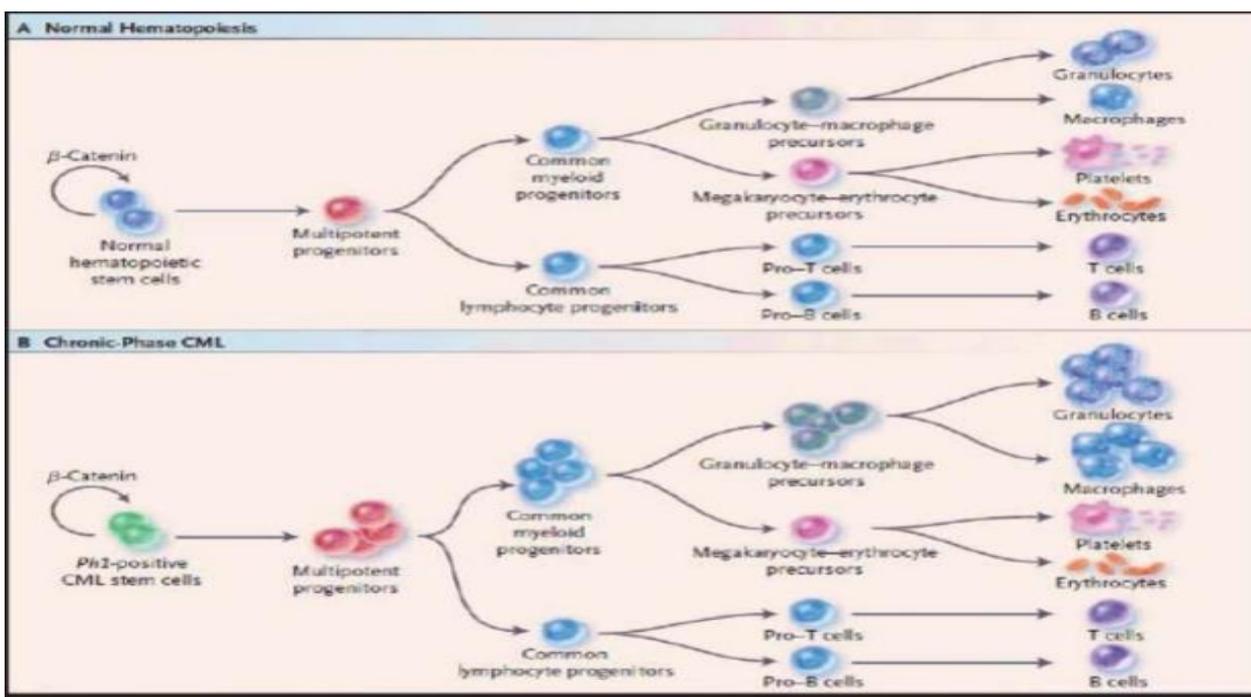


Figure 3 : Représentation schématique de l'hématopoïèse normale et leucémique (22).

I.5.2. Mécanisme moléculaire :

✚ Prolifération monoclonale

La LMC est une prolifération clonale acquise maligne qui apparaît dans une cellule pro génitrice pluripotente de sorte que l'on retrouve le Ph1 dans toutes les cellules myéloïdes des lignées granulocytaires, érythrocytaires, mégacaryocytaire, monocytaires et dans les lymphocytes B (23) (Figure 4)

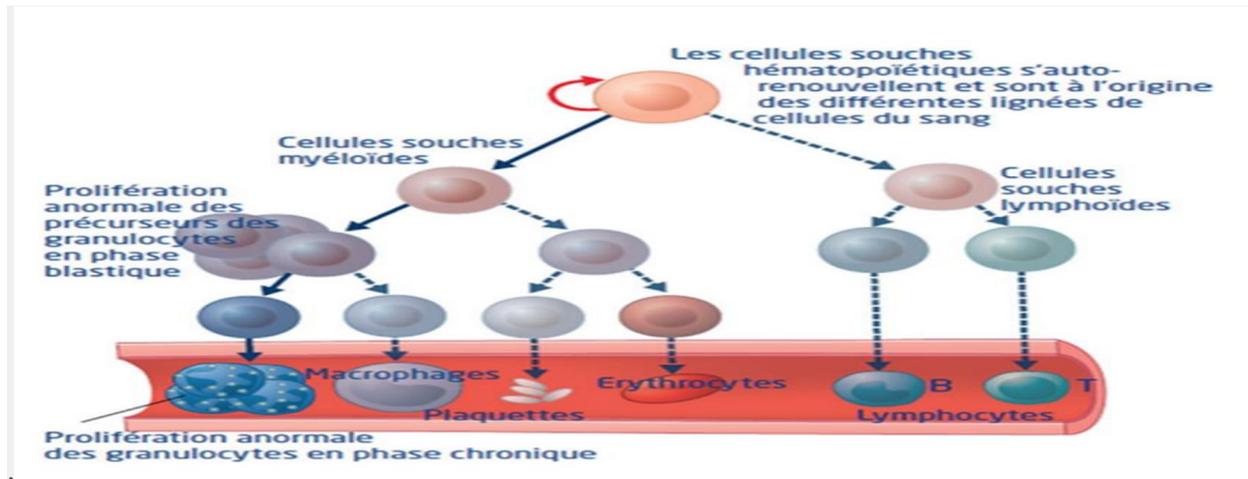


Figure 4 : Impact de la LMC sur la lignée granuleuse. (17)

✚ Le Chromosome Philadelphie

Le chromosome « Philadelphie » est un chromosome 22 porteur d'une délétion partielle du bras long (22q). (Figure 5) .Ce chromosome est le résultat d'une translocation entre le bras long (q) du chromosome 22, au niveau de la bande 11 avec le bras long (q) du chromosome 9, au niveau de la bande 34. L'anomalie est donc notée $t(9; 22)(q34; q11)$.

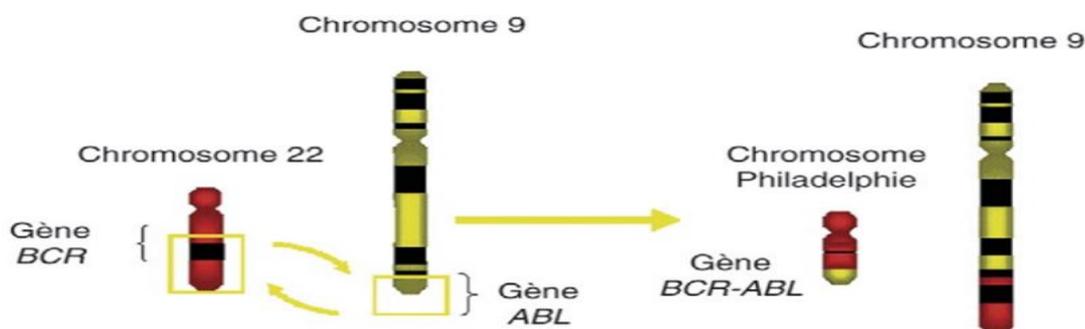


Figure 5 : Formation du chromosome Philadelphie

La translocation (9 ; 22) ceci conduit à la formation d'un gène de fusion spécifique BCR-ABL (24) Sur le chromosome 22 raccourci (Ph1), la translocation met au contact un gène appelé BCR (Break Cluster Région) du chromosome 22 avec un oncogène, le gène ABL (c-ABL) du chromosome 9. La fusion de ces gènes (BCR-ABL) code pour la production d'une protéine chimérique dite BCR-ABL ayant une forte activité tyrosine kinase. L'existence d'un chromosome Ph1 est l'un des critères de diagnostic de la leucémie myéloïde chronique (LMC), présent chez 90 à 95 % des malades. (25) Dans de rares cas, les translocations de variant impliquant d'autres chromosomes ou des translocations cryptiques peuvent survenir. (26) Dans 5% des cas, le gène de fusion BCR-ABL résulte soit, une translocation variante complexe impliquant un 3eme, parfois plusieurs chromosomes, soit d'une insertion cryptique de matériel chromosomique indétectable par les techniques cytogénétiques conventionnelles. Dans ce dernier cas, la LMC est dite Ph négative-BCR-positive et seules les techniques de FISH et de biologie moléculaire (RT-PCR) permettront la détection du gène hybride et du transcrit BCR-ABL. (27).

I.5.3. Gène ABL :

Le gène ABL ou l'oncogène Abelson (c-ABL) est situé sur le bras long du chromosome 9 en position q34, et code pour une protéine sans récepteur de 145 kDa à ATK. Il tire son nom de son homologue viral, le gène Abelson (v-ABL), responsable d'une leucémie chez la souris. Le gène ABL s'étend sur 230 Kb et comporte 11 exons avec un site alternatif d'initiation de la transcription entre les exons 1a et 1b (figure 6). Deux types d'ARNm peuvent donc être transcrits, 1a et 1b mesurant respectivement 6 et 7 kb, et donnant naissance à deux isoformes protéiques respectivement de 1130 et 1149 acides aminé

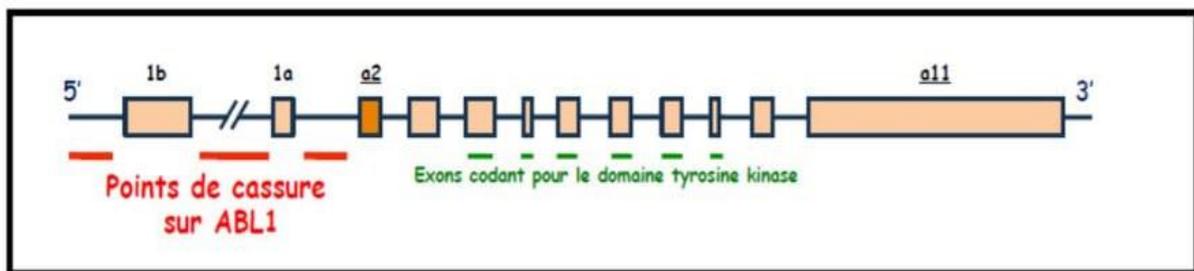


Figure 6 : Structure du gène ABL

✚ La protéine ABL :

La protéine ABL tyrosine kinase de 145 kDa, est exprimée de façon ubiquitaire et est retrouvée tant dans le noyau que dans le cytoplasme. Les protéines TK sont des enzymes permettant la phosphorylation de protéines substrats sur des acides aminés particuliers (transfert d'un phosphate de l'adénosine triphosphate ou ATP à un résidu Tyrosine). Dans les voies de transduction du signal, ces protéines qu'on les appelle protéines de signalisation, forment un véritable réseau pour relayer le signal extracellulaire jusqu'au noyau nucléaire où elles se lient à des facteurs de transcription et induisent l'expression de gènes cibles. La protéine contenant l'exon 1B est myristoylée et de ce fait, elle se trouve localiser au niveau membranaire. Ce phénomène de myristilation est dû à une interaction covalente de l'acide myristique qui est un acide gras saturé et la protéine Ib au niveau de l'azote d'un résidu glycine en position 2 dans la chaîne polypeptidique, ce qui entraîne sa fixation la membrane plasmique. Par contre la protéine contenant l'exon 1A (majoritaire), a une localisation nucléaire prédominante car non myristoylée (28).

A. Structure :

C'est une structure hautement conservée divisée en trois régions bien distinctes (29).

▪ La région N-terminale ou (région cap) :

Le site de myristilation qui possède un double rôle, une régulation de l'activité kinase et un rôle de localisation membranaire (30). Les domaines d'homologie SH (Src homology) semblables à ceux de la protéine Src kinase

Le domaine catalytique SH1 ou domaine tyrosine kinase (DTK) :

Présente l'ATK Il comporte classiquement le site de fixation de l'ATP (c'est la boucle P qui permet la fixation du groupe phosphate de l'ATP), le site de fixation du substrat (c'est la boucle C ou site catalytique) ainsi qu'une boucle d'activation (boucle A) comprenant le site majeur d'autophosphorylation (figure 7).

Le domaine d'interaction SH2 :

Permet l'interaction avec des protéines comportant des résidus tyrosines phosphorylés. C'est un régulateur positif du domaine SH1.

- **Le domaine d'interaction SH3 :**

C'est un domaine d'interaction avec des séquences riches en proline. C'est un régulateur négatif du domaine SH2(31).

- **La région centrale riche en prolines (PxxP) :**

permet des interactions avec d'autres protéines possédant des domaines SH3 comme la protéine CRKL, GRB2 (facteur de croissance lié au récepteur2 ou «growth-factor-receptor-bound 2» et NCK(27).

- **La région C-terminale :**

présente un domaine de liaison à l'ADN ou DNABD(DNA Binding Domain), trois signaux de localisation nucléaire (NLS: Nuclear Localisation Signal), des signaux d'exportation nucléaire (NES: Nuclear export signal) en réponse à un stimulus externes (environnement), et un site de liaison à l'actine (Actin Binding Domain)(27).

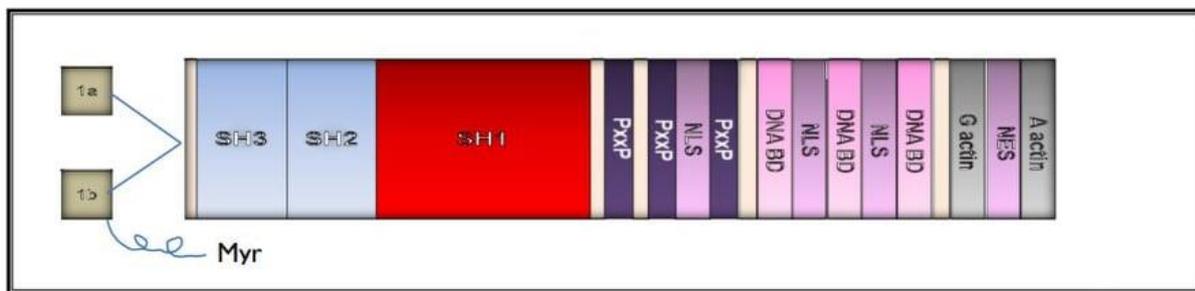


Figure 7 : Structure de la protéine ABL.

B. Fonctions :

L'action de l'ABL dépend de sa localisation nucléaire ou cytoplasmique. Au niveau cytoplasmique, la protéine ABL joue un rôle important dans la croissance et la prolifération cellulaire, participant à la transduction du signal initiée par certains récepteurs aux facteurs de croissance. Alors qu'au niveau nucléaire, elle est surtout impliquée dans la régulation négative du cycle cellulaire (protéine pro-apoptotique) (26). La protéine ABL peut aussi induire l'apoptose en stabilisant la protéine p73 et ou la protéine p53, et peut être aussi impliquée dans la réponse au stress génotoxique et la transmission de l'information passant par les intégrines (30). En interagissant avec des protéines impliquées dans les systèmes de réparation de l'ADN, la protéine ABL participerait également à la réponse cellulaire relative aux dommages causés sur l'ADN (31).

C. Régulation :

La protéine ABL peut exister sous deux formes, une forme auto-inhibée inactive (état fermé où la boucle d'activation est repliée vers l'intérieur) et une forme active (état ouvert où la boucle d'activation est repliée vers l'extérieur) (32, 27) (figure 8). L'auto inhibition d'ABL est assurée principalement par l'action d'un groupe myristoyl, qui est rattaché au domaine N terminal de la kinase (le domaine SH3)(32, 27, 28). Ce myristate trouve également un point d'ancrage réversible, au niveau d'une poche hydrophobe du lobe C terminal du domaine kinase formant ainsi un verrou (27). Ce verrou a pour conséquence de fermer la kinase, en induisant un clamp entre les domaines SH et les deux lobes du domaine kinase, empêchant ainsi la phosphorylation de la Tyrosine 412 du segment d'activation par les kinases, et par conséquent, le domaine catalytique devient inaccessible au substrat d'ABL à l'ATP (27). L'activation se fait par déverrouillage du groupe myristoyl, déclampage des domaines SH2/3 et changement de conformation de la boucle d'activation permettant l'autophosphorylation sur la tyrosine en position 393 stabilisant la protéine sous sa forme active (32) (figure 8).

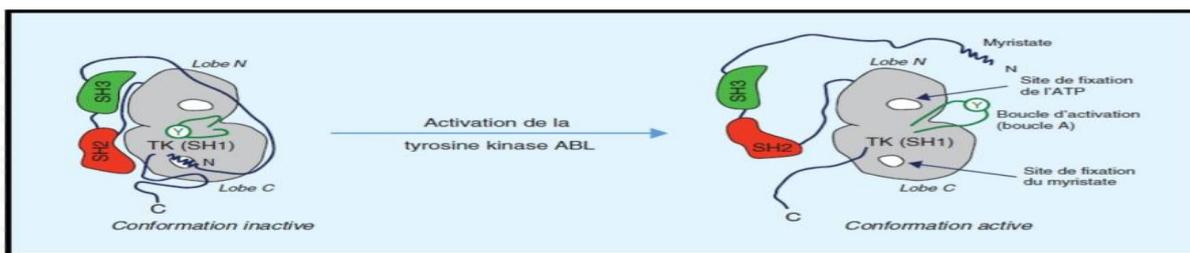


Figure 8 : DTK (domaine de tyrosine kinase) d'ABL et mécanisme d'activation (32)

L'activation de la protéine ABL non transloquée nécessite le déverrouillage du groupe myristoyl, la dissociation des interactions des domaines SH2/3 avec le domaine tyrosine kinase et le changement de conformation de la boucle d'activation.

I.5.4. Gène BCR :

Le gène BCR est situé sur le bras long du chromosome 22 en position q11, et s'étend sur 135 Kb. Il se compose de 23 exons dont deux alternatifs, permettant donc de transcrire deux types d'ARNm dont les poids moléculaires sont respectivement 4,5 et 6,7 kb, qui codent pour deux protéines de 130 et de 160 kDa, d'expression ubiquitaire (26) (figure 9).

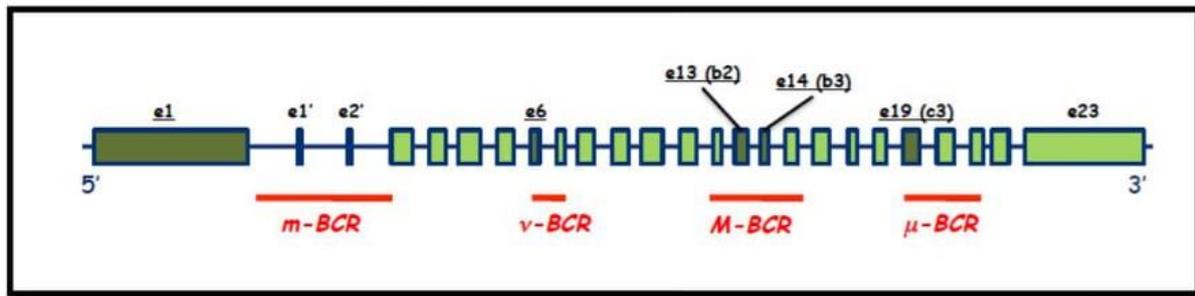


Figure 9 : Structure du gène BCR.(32)

✚ La protéine BCR :

A. Structure :

La partie N-terminale possède deux domaines (figure 10) : Le domaine 1B d'oligomérisation qui permet en cas de fusion BCR-ABL1, la dimérisation de la protéine de fusion, conduisant à l'ouverture de l'activité kinase responsable de l'activité transformante de la molécule. Le domaine 2B d'activité sérine-thréonine kinase, qui comprend deux sites de liaison aux domaines SH2. La région centrale présente un domaine composé de séquences DBL-like homologue à la pleckstrine qui jouent un rôle dans la stimulation de l'échange GTP-GDP par la protéine Rho-GEF (Guanine nucléotide Exchange Factor). La partie C-terminale, absente dans la protéine de fusion BCR-ABL, présente des séquences homologues aux domaines catalytiques des protéines GAP (GTPases activating protein).

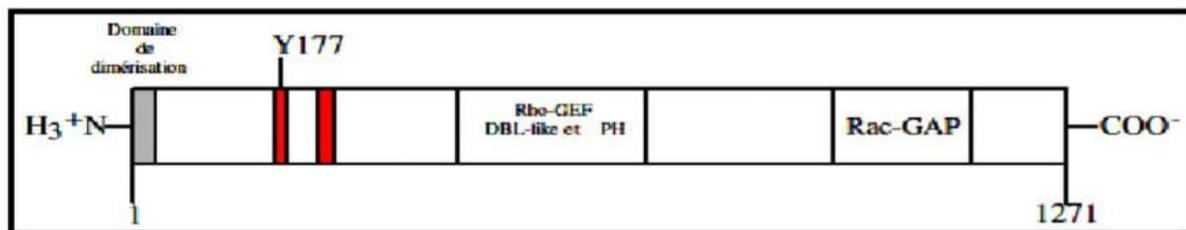


Figure 10 : Structure de la protéine BCR(32).

B. Fonctions :

Les fonctions réelles de la protéine BCR sont, néanmoins, peu connues. Elle semble avoir un rôle important dans la transduction du signal via son activité GAP qui régule négativement l'activité GTP de p21rac2. Elle permet aussi une activation de la voie RAS suite à sa phosphorylation sur

Plusieurs résidus tyrosyl (Tyr) notamment, dans la région N-terminal, sur le résidu Tyr 177 qui lui permet d'interagir avec différentes protéines adaptatrices notamment Grb2, Grb10 et la protéine ABL1 via leur

domaine SH2 (27). La détection de la protéine au niveau nucléaire lors de la mitose, bien qu'elle soit essentiellement cytoplasmique, a suggéré qu'elle joue un rôle dans le cycle cellulaire (33).

C. Régulation :

L'activation de la protéine BCR se fait à travers la phosphorylation de résidus Tyr 177(Y 177), par contre la phosphorylation de la Tyr 260 inhibe l'activité kinase.

D. Gène chimérique BCR-ABL

Le réarrangement moléculaire BCR-ABL1 est la conséquence d'une translocation réciproque et équilibrée (sans perte du matériel génétique) entre les bras longs des chromosomes 9 et 22 (Translocation t(9 ; 22) (q34 ; q11) (34) (figure 1-2). La partie télomérique (la partie 3') de la région ABL du chromosome 9q34, vient se localiser à la place de la partie télomérique (la partie 5') du gène BCR sur le chromosome 22q11, aboutissant à un chromosome 22 raccourci appelé Ch-Ph1(34), et dont la conséquence serait la formation d'un gène de fusion chimérique original BCR-ABL1, qui est transcrit en un ARNm chimérique (35, 36). Cet ARN chimérique est ensuite traduit en une nouvelle protéine de fusion hybride BCR-ABL1.

- Au niveau du gène ABL1, le point de cassure survient le plus souvent entre les exons Ib et a2 (37, 27, 29, 38). Les exons a2 à a11, sont ainsi concernés par l'échange avec la partie BCR.
- Au niveau du gène BCR, trois zones de cassure ont été identifiées.
 - La région M-BCR de 5,8 kb (Major BCR), impliquée dans 95% des cas de LMC. Elle contient les exons e12 à e16 (appelés aussi b1 à b5), qui traduit la protéine p 210. Les points de cassure surviennent soit entre les exons b2 et b3 (ou e13 et e14), soit entre b3 et b4 (ou e14 et e15). Deux types de transcrit sont donc possible, le b3a2 (= e14a2 dans 60% des cas) qui juxtapose l'exon b3 de BCR à l'exon a2 d'ABL1, et le b2a2 (= e13a2 dans 35% des cas), qui juxtapose l'exon b2 de BCR à l'exon a2 d'ABL1. La protéine codée par le variant b3a2 comprend 25 acides aminés de plus que celle du variant b2a2(26). A noter que ces deux transcrits, peuvent être Co exprimés chez 5 à 10% des patients (39).

Chapitre I : LA LEUCEMIE MYELOÏDE CHRONIQUE

- La région Mbc (mineur BCR) : le point de cassure survient entre l'exon e1 et e2 de BCR, formant un transcrite de type e1a2 qui traduit la protéine p190 BCR-ABL1 (190kDa) à ATK plus intense que celle de la protéine de 210 kDa. Cette fusion est impliquée dans 0.4 % de LMC(80), et environ 65% des leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL) à Ch-Ph1 (LAL Ph+) (26, 40, 41).
- La région μ -BCR (micro BCR), impliquée dans moins de 0,1 % des LMC-PN et dont le transcrite est de type e19 a2 (cassure entre l'exon e19 et e20 de BCR), qui traduit la protéine p230 (230 kDa) (26).
- o D'autres transcrits atypiques sont possibles mais de fréquences plus faibles. Il s'agit notamment des fusions e6 a2, e8 a2, b2a3 (ou e13a3) et, b3a3 (ou e14a3) (42) ; Ces différents variant de la translocation t (9 ; 22) ont pu être associés à des phénotypes leucémiques différents (42, 41).
- o Une des explications données pour comprendre le mécanisme responsable de la translocation réciproque chromosomique t (9 ; 22) (q34 ; q11), est la juxtaposition des gènes ABL et BCR au cours du cycle cellulaire (transition S/G2), ce qui les rend sujets à la recombinaison homologue entre ses deux chromosomes (27, 44).

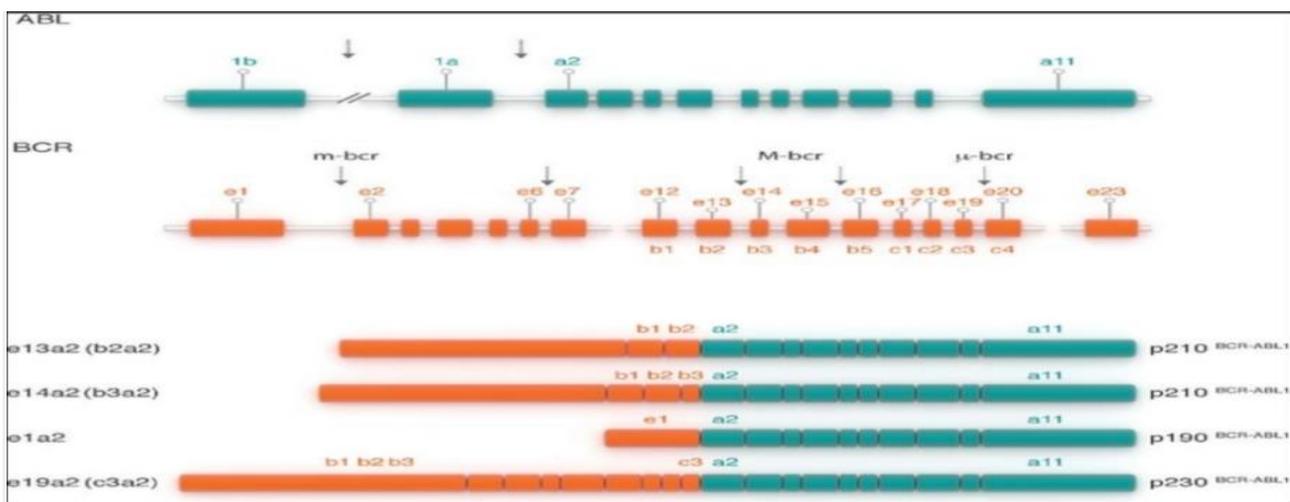


Figure 11 : Les différents points de cassure Le gène ABL situé sur le bras long du chromosome 9, s'étend sur 230 kb et comprend, de l'extrémité 5' centromérique vers l'extrémité 3', deux exons alternatifs (Ia et Ib) séparés par un intron de 200 kb, et dix exons numérotés d'a2 à a11. Le gène BCR situé sur le bras long du chromosome 22, s'étend sur 135 kb et comprend 23 exons. (26).

I.5.5. Signalisation induite par les oncogènes BCR-ABL :

Au niveau du cytoplasme, la dérégulation de l'ATK de la protéine BCR-ABL1 entraîne une cascade de phosphorylations successives aboutissant à l'activation constitutive de plusieurs voies de signalisation intracellulaire impliquées dans les processus d'activation et de répression des gènes, dont les conséquences sont multiples (24, 44) :

- Activation de la prolifération cellulaire et de la différenciation,
- Altération des propriétés d'adhésion entre les progéniteurs leucémiques et le stroma médullaire
- Une inhibition de l'apoptose
- Une régulation négative d'enzymes de réparation de l'ADN (DNA-PKcs) via la voie du protéasome, concourant ainsi à l'apparition d'une instabilité génétique des cellules Ph+.
- Une inhibition de protéines inhibitrices de l'ATK de l'ABL (Abi-1 et Abi-2) en induisant leur dégradation via le protéasome(26).

La protéine Abl, physiologiquement, constitue une navette entre le noyau et le cytoplasme mais, lorsqu'elle est fusionnée à Bcr, l'oncoprotéine perd cette propriété et est, principalement, retenue dans le cytoplasme, où elle interagit avec la majorité des protéines impliquées dans la voie oncogénique. L'activité de tyrosine kinase d'Abl est constitutivement activée par la juxtaposition de Bcr, favorisant ainsi la dimérisation ou tétramérisation et autophosphorylation ultérieure. Cela augmente le nombre de résidus de phosphotyrosine sur Bcr-Abl et, par conséquent, les sites de liaison pour les domaines SH2 des autres protéines. Les oncogènes Bcr-Abl activent différentes voies de signalisation cellulaire. Les conséquences sont être multiples au niveau hématologique : une augmentation de la prolifération cellulaire, une altération des propriétés d'adhésion cellulaire, une inhibition de l'apoptose, une dégradation des protéines de régulation et une altération de la réparation de l'ADN [26].

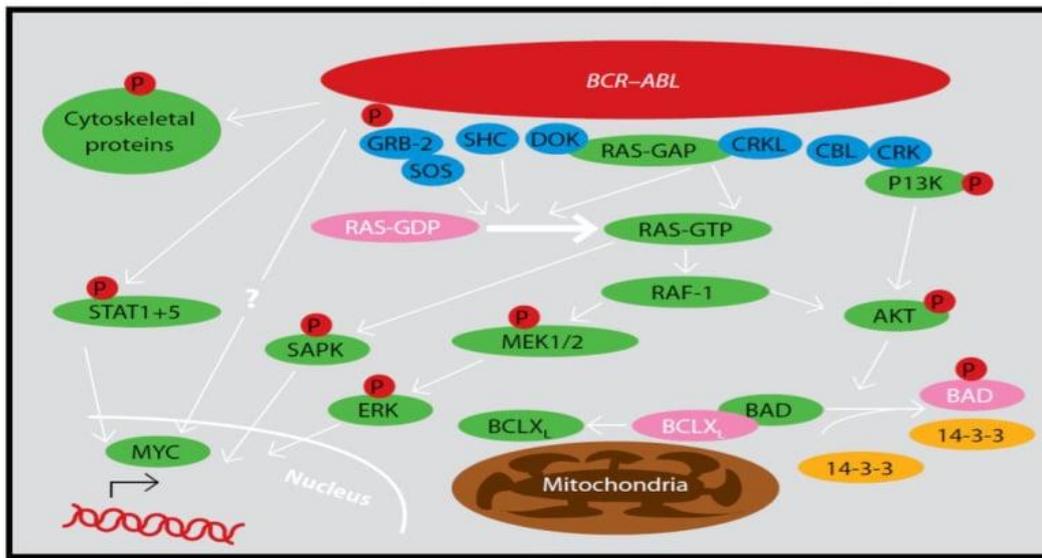


Figure 12 : Les différentes voies de signalisation cellulaire activées par BCR-ABL1 (46).

Les effets cellulaires de Bcr -Abl sont exercés par des interactions avec les diverses protéines qui peuvent traduire les signaux oncogéniques responsables de l'activation ou de la répression de la transcription du gène, du traitement mitochondriale des réponses apoptotiques, de l'organisation du cytosquelette et de la dégradation des protéines inhibitrices. Les principales voies impliquées sont : RAS, Mitogen Activated protein (MAP) kinases, signal transducer and Activators of transcription (STAT), phosphatidyl inositol 3-kinase (PI3K) et MYC. La plupart des interactions sont médiées par la phosphorylation de la tyrosine et exigent la liaison de Bcr-Abl aux protéines adaptatrices comme : Growth-factor-receptor-bound 2(Grb-2), Dok, sarcoma virus CT10 oncogène homologue(Crk), sarcoma virus CT10 oncogène homologue-like (Crkl), Src-homology-containing (Shc) et casitas-B-lineage lymphome (Cbl).

II. Diagnostic de la leucémie myéloïde chronique :

Le bilan diagnostique d'une Leucémie Myéloïde Chronique se fait en plusieurs étapes :

Il consiste premièrement à un interrogatoire du patient et à la recherche de signes cliniques.

Puis en une prise de sang, avec une numération de formule sanguine (NFS), incluant un compte différentiel des globules blancs et des plaquettes.

Par la suite, on évalue le pourcentage de blastes et de basophiles dans la moelle grâce à une aspiration ou une biopsie. Vient ensuite la génétique, grâce à laquelle on analyse le caryotype pour repérer le chromosome Philadelphie et valider le diagnostic de LMC.

Certains patients peuvent être Ph négatif (le chromosome Philadelphie n'est pas présent), mais il existe toutefois des réarrangements du gène BCR-ABL que l'on étudiera via des analyses moléculaires comme Southern Blot ou Polymerase Chain Reaction (PCR). (63).

II.1. Diagnostic clinique :

La LMC en phase myélocytaire chronique. Elle est observée dans 90% des cas. Elle est d'installation progressive.

Une leucémie myéloïde chronique peut être suspectée chez des patients en raison de symptômes ou de résultats anormaux à la suite d'une prise de sang, parfois réalisée en l'absence de symptômes (patients asymptomatiques). Le plus souvent le diagnostic est porté de manière fortuite à l'occasion d'une NFS (numération de la formule sanguine) de routine.

Les symptômes et les manifestations cliniques peuvent inclure les éléments suivants :

Une splénomégalie : une sensation de pesanteur de l'hypochondre gauche et ou un ballonnement

Elle sera appréciée de manière précise en mesurant en centimètre le débord splénique (distance séparant le rebord costal gauche de l'extrémité inférieure de la rate) on définit 4 types :(I, II, III, IV).

La splénomégalie peut être absente, notamment lorsque le diagnostic est posé précocement

Une hépatomégalie modérée peut être associée.

Signes généraux : L'asthénie est le symptôme le plus courant. Anorexie, fatigue et amaigrissement

D'autres signes cliniques sont inconstants : Syndrome hémorragique : des ecchymoses spontanées ou des hématomes

<u>Symptômes/ phase de la LMC</u>	Phase chronique	Phase d'accélération	Phase blastique
Altération de l'état général (AEG)	<ul style="list-style-type: none"> • Fièvre • Pâleur • Asthénie • Perte de poids 	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ fièvre • ↑ ± marquée des autres signes 	<ul style="list-style-type: none"> • AEG +++ • ↑fièvre • sueurs nocturnes
Syndrôme tumoral	<ul style="list-style-type: none"> • Splénomégalie 	<ul style="list-style-type: none"> • ↑splénomégalie 	<ul style="list-style-type: none"> • splénomégalie +++ • hépatomégalie • adénopathies • douleurs osseuses
Remarques	<ul style="list-style-type: none"> • Leucostase pulmonaire ou cérébrale • Hyperviscosité : confusion mentale, AVC • Hyperuricémie : crise de goutte 	<ul style="list-style-type: none"> • Début de l'évolution cytogénétique • Début de la résistance au traitement 	<ul style="list-style-type: none"> • Lésions hémorragiques • Proliférations blastiques extramédullaires

Tableau I : Récapitulatif de la symptomatologie clinique de la LMC (selon l'ELN).

II.2. Diagnostic biologique :

A. Hémogramme :

C'est l'examen clé, il met en évidence les :

✚ Globules blancs :

Une hyperleucocytose $> 50\,000/\text{mm}^3$ et souvent majeure $\geq 100.000/\text{mm}^3$: Il s'agit essentiellement de polynucléaire neutrophile vrai de 50 à 60 %.

Une basophilie et une éosinophilie sont fréquemment observées. Les lymphocytes et les monocytes sont diminués en valeur relative.

✚ Globules rouges :

Un taux normal, ou une anémie modérée normocytaire normochrome aregénérative.

✚ Plaquettes :

Une Thrombocytose modérée avec un taux de plaquettes compris entre 450000-700.000/mm³ est souvent observée. Les plaquettes peuvent être normales, beaucoup plus rarement, il existe une thrombopénie qui signe en général une accélération de la maladie. Les caractéristiques de la NFS sont très évocatrices de la maladie mais ne permettent en aucun cas de poser le diagnostic définitif de la maladie.

B. Frottis sanguin :

On retrouve une myélémie $\geq 20\%$ harmonieuse faite de :

- Promyélocyte (0%-5%.)
- Myélocytes (10 -20%)
- Métamyélocytes (10 -20%)
- Myéloblastes < 5%
- Les plaquettes peuvent être de grande taille (macro thrombocytes) et que par ailleurs elles présentent des anomalies fonctionnelles réalisant une thrombopathie acquise expliquant la tendance hémorragique

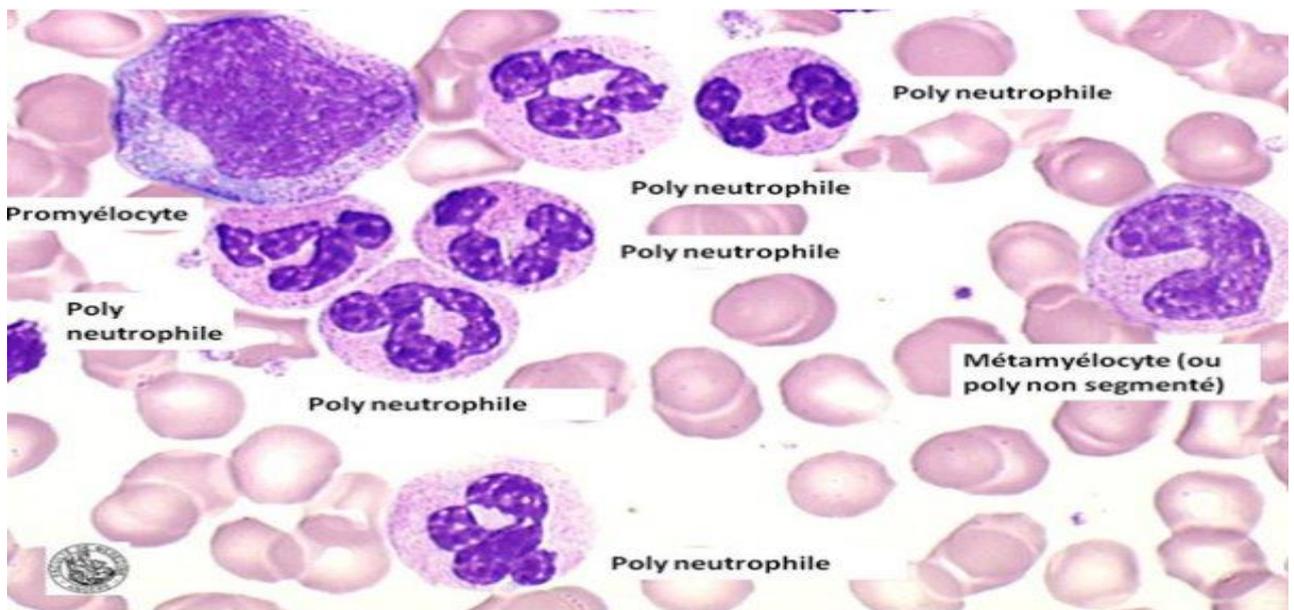


Figure 13 : Frottis sanguin LMC (hématocell.fr)

C. Le myélogramme :

Le Myélogramme n'est pas absolument nécessaire au diagnostic de la maladie. Il permet cependant de confirmer la phase de la maladie ; mais indispensable pour la pratique d'un examen cytogénétique à la recherche du chromosome Philadelphie, il montre une :

- Moelle riche avec une hyperplasie mégacaryocytaire.
- Confirme l'hyperplasie granuleuse comportant 80 à 90% de cellules granuleuses à tous les stades de maturation surtout, polynucléaires neutrophiles (PN.) métamyélocytes(MM), myélocytes(M)
- Des myéloblastes et promyélocytes dont le taux est inférieur à 5%.
- Une composante éosinophile et basophile est parfois observée.
- Le pourcentage des érythroblastes et des lymphocytes très diminués.

II.3. Diagnostic Cytogénétique :

Le but de la cytogénétique est de rechercher le chromosome Philadelphie sur un caryotype. La présence du gène de fusion BCR-ABL sur une FISH qui est le critère fondamental dans la pose du diagnostic de LMC.

II.3.1. Caryotype : à la recherche du chromosome Ph :

Le caryotype reste l'examen de référence, il est obligatoire au diagnostic et au suivi des patients. Il est donc prélevé à partir de la moelle osseuse (souvent le même prélèvement que pour le myélogramme). Les cellules sont ensuite mises en culture, puis bloquées à un stade précis de la division cellulaire (la métaphase), ce qui permet de visualiser les chromosomes (figure 19). L'examen standard nécessite l'analyse d'au moins 20 cellules en division (mitose). Il affirme la présence du chromosome Philadelphie ou de ses variantes (présent chez plus de 95% des patients), et permet même de mettre en évidence d'éventuelles anomalies chromosomiques additionnelles (déjà présentes au diagnostic pour 5 à 10% des cas).

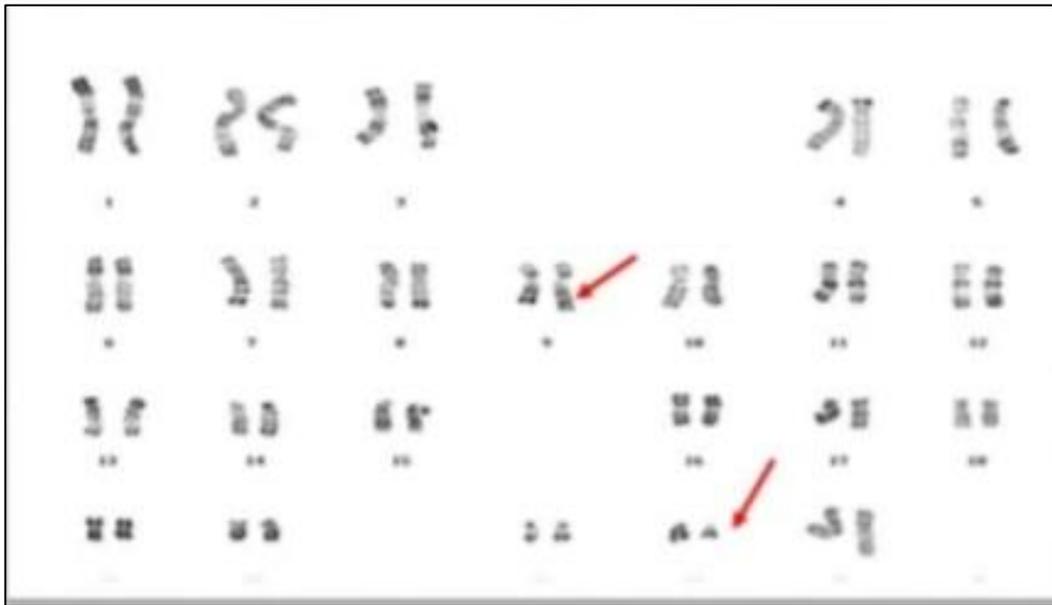


Figure 14 : Caryotype médullaire montrant un chromosome 22 raccourcis correspondant au chromosome Philadelphie et un chromosome 9 plus long (der9) (image : Laboratoire de cytogénétique service hématologie CAC Blida)

II.3.2. FISH (Fluorescence in Situ Hybridation):

- **Recherche du gène de fusion BCR-ABL**

L'hybridation In Situ n'est encore utilisée que si le chromosome Philadelphie n'a pas été retrouvé sur le caryotype. Elle peut être réalisée à partir du sang ou de la moelle osseuse. Cet examen permet de révéler le réarrangement BCR-ABL par le gène de fusion. Les cellules prélevées sont fixées sur une lame et plongées dans une solution contenant des marqueurs qui se lient spécifiquement aux gènes BCR et ABL. Les fixations sont révélées par des marqueurs fluorescents : rouge pour la sonde ABL et vert pour la sonde BCR. La FISH permet d'analyser en moyenne 100 à 500 cellules et est plus sensible que le caryotype conventionnel. Les résultats sont obtenus en 1 à 2 jours. Dans une cellule, deux spots rouges et deux spots verts sont clairement visible. En cas de réarrangement BCR-ABL, les deux spots se superposent et donnent un signal jaune (figure 24). Même si ces examens sont indispensables, la présence de la translocation BCR-ABL dans les cellules souches hématopoïétiques n'est pas en soi suffisante à causer une LMC, car les transcrits de fusion BCR-ABL de type m-BCR et M-BCR peuvent être retrouvés en faible quantité dans le sang d'individus sains. (64).

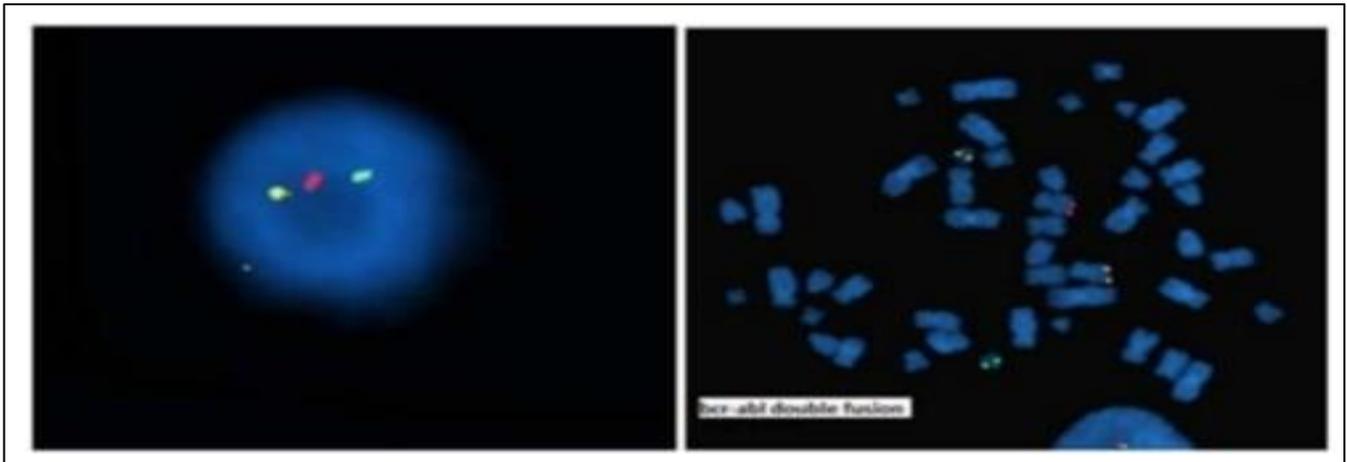


Figure 15 : technique de FISH (image : Laboratoire de cytogénétique service hématologie CAC Blida)

II.4. Diagnostic moléculaire : les transcrits à rechercher :

L'analyse moléculaire permet de détecter les réarrangements de BCR-ABL. Elle est plus rapide et plus précise que la cytogénétique pour confirmer le diagnostic. En effet, pour environ 10% de patients atteints de LMC, l'analyse cytogénétique ne révèle pas le chromosome Ph, alors que le réarrangement sera visible à l'analyse moléculaire pour plus de la moitié d'entre eux. [63] Plusieurs analyses existent et offrent des approches différentes les unes des autres. La PCR génomique et Southern Blot permettent de déterminer les points exacts de cassure des gènes de fusion BCR et ABL. La Reverse Transcription PCR (RT-PCR) et le Northern Blot, elles, détectent le transcrit au niveau de l'ARN. Enfin, le Western Blot démontre la présence de la protéine p210 BCR-ABL en utilisant des anticorps monoclonaux anti BCR et ABL. (63).

II.4.1. PCR en temps réel La RQ-PCR (Reverse transcription Quantitative Polymérase Chain Reaction) :

C'est l'analyse qui est la plus utilisée dans le cadre de la Leucémie Myéloïde Chronique car elle permet de mesurer la quantité de transcrit BCR-ABL. Elle est effectuée à partir du sang. Cette méthode consiste à amplifier et révéler spécifiquement la région de l'ADN correspondant aux gènes mutés à partir de molécules extraites des globules blancs. L'ARN messager (qui est produit à partir de l'ADN) est extrait des leucocytes et transformé en ADN complémentaire.

L'ADN complémentaire est alors amplifié par PCR à l'aide de la Taq Polymérase (enzyme polymérase impliquée dans la duplication de l'ADN) et d'« amorces » qui se lient spécifiquement aux séquences des gènes BCR et ABL. Cette analyse RQ-PCR, grâce à sa sensibilité et sa rapidité, est indispensable à plusieurs étapes de la maladie :

- Avant d'instaurer un traitement
- Et pour suivre la réponse des patients au traitement.

En effet, notamment lorsque le chromosome Philadelphie n'est plus retrouvé sur le caryotype, ce test révèle s'il subsiste des traces infimes de maladies (des taux de transcrite BCR-ABL très petits), que l'on appelle la maladie résiduelle.

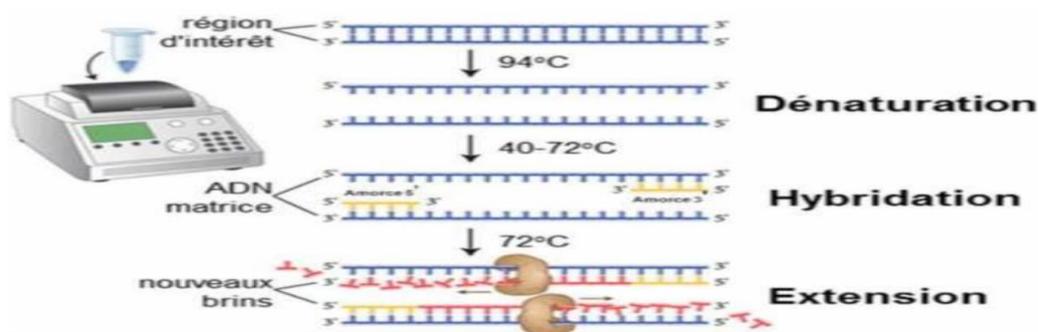


Figure 16 : les étapes de polymérase Chain réaction (messarah, 2011)

II.4.2. La PCR automatisée GENEXPERT :

Le test Expert BCR-ABL Ultra est un test quantitatif des transcrits du point de rupture majeur de BCR-ABL (p210) qui fournit des résultats moléculaires extrêmement sensibles et à la demande. Basé sur la technologie innovante Gene-Xpert, Expert BCR-ABL Ultra automatise l'ensemble du processus de test, y compris l'isolation de l'ARN, la transcription inverse et la PCR en temps réel entièrement imbriquée du gène cible BCR-ABL et du gène de référence ABL dans une cartouche entièrement automatisée .

La quantification des ARN BCR-ABL1 est de plus en plus standardisée permettant d'avoir une évaluation objective de l'évolution de la maladie et de proposer une conduite thérapeutique commune à tous les cliniciens.

Dans notre centre, l'utilisation du test Expert BCR-ABL Monitor représente une alternative robuste et reproductible à la RTq-PCR. Ce test est entièrement automatisé, exprime en ratio BCRABL/ABL et s'aligne sur l'échelle internationale. Il présente une sensibilité dans l'intervalle nécessaire à la prise de décisions cliniques (dégression ou arrêt de traitement) chez les patients ayant achevé une réponse moléculaire de type RMM4.5(34)

Cepheid a récemment introduit son test basé sur GeneXpert pour l'identification des cellules leucémiques hébergeant la fusion du gène BCR-ABL à partir d'échantillons sanguins. Cet instrument automatisé autonome intègre la préparation d'échantillon micro fluidique avec une détection de signal fluorescent en temps réel basée sur la RT-PCR. Pratiquement tous les réactifs utilisés à la fois pour la préparation d'ARN et les étapes ultérieures de RT-PCR et de PCR sont lyophilisés dans une cartouche jetable à plusieurs chambres, ce qui réduit potentiellement les biais liés aux réactifs et aux pipettes. L'échantillon est transféré à travers les chambres pendant le processus d'extraction par l'action de pompage d'un piston central ; ensuite, l'ARN purifié atteint la chambre de détection où la transcription inverse, les étapes d'amplification multiplexée et la détection du signal fluorescent ont lieu. La différence entre le BCR-ABL et l'ABL Ct mesurés (cycle de seuil) est calculée par le logiciel de l'instrument et interprétée comme positive, négative ou invalide. Cette différence entre le BCR-ABL Ct et ABL On s'attend à ce que Ct (ΔCt) représente le rapport des deux populations d'ARNm et finalement la fraction de cellules néoplasiques présentes.

Nous avons testé si ce nouveau système de détection de fusion BCR-ABL pouvait être une alternative aux outils de suivi moléculaire et d'expliquer l'intérêt de la technique pour surveiller les patients atteints de LMC pour une maladie résiduelle minimale, tous les résultats de notre étude est dans la partie pratique.

(35)

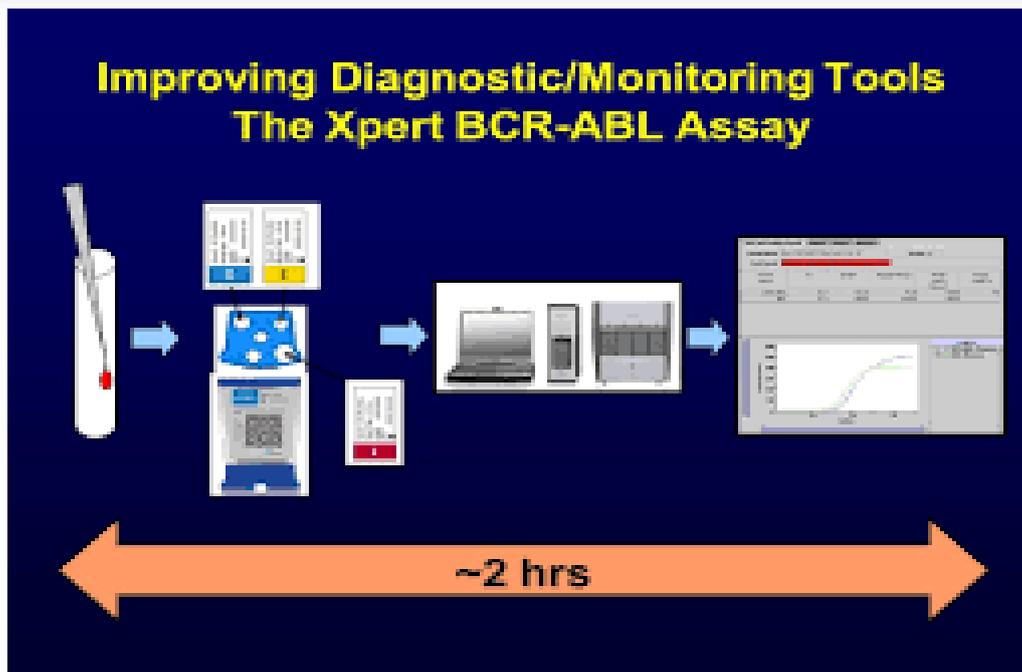


Figure 17 : La technique de PCR par méthode automatisé GeneXpert (le Xpert BCR-ABL) (34)

Actuellement, l'évaluation de l'efficacité du traitement de la LMC nécessite un test de diagnostic moléculaire pour mesurer le niveau de transcrit BCR-ABL (ARN). Les patients sont testés pour la BCR-ABL tous les 3 mois conformément aux directives internationales établies.

III. Evolution et pronostic de la LMC :

III.1. Les phases de la LMC : En absence de traitement la maladie est mortelle.

- Elle comporte 03 phases ;
- Une phase chronique : une phase chronique indolente initiale qui peut durer 5 à 6 ans ; déjà détaillée.
- Une phase d'accélération ,10% des patients se présentent d'emblée à ce stade, se manifeste par une aggravation de l'anémie, la thrombopénie ou Thrombocytose progressive ou aggravation et persistante de la splénomégalie, une évolution clonale, augmentation des basophiles du sang, et augmentation des blastes osseux ou sanguins (jusqu'à 19%).
- Une phase de transformation en leucémie aiguë ou phase blastique ; phase d'Acutisation : Une accumulation de blastes dans les sites extra médullaires (p. ex., os, système nerveux central, ganglions lymphatiques, peau), blastes dans le sang ou la moelle augmentés à $\geq 20\%$, La phase Blastique conduit à des complications d'évolution rapide similaires à celles observées dans la leucémie aiguë (sepsis, hémorragies). Certains patients progressent directement de la forme chronique vers la phase blastique c'est pour cela qu'elle est biphasique. Dans 75 à 80% des cas, la phase d'accélération est rapidement suivie en 12 à 18 mois par une phase de transformation aigue ou blastique qui se termine en 03 à 06 mois par le décès du patient.

III.2. Le Pronostic de la LMC :

Evaluation du pronostic :

Une fois le diagnostic de LMC posé, on définit un score pronostic, propre à chaque patient, qui aide le médecin à décider de la meilleure stratégie thérapeutique à adopter. Même en considérant les patients étant dans une même phase de la maladie, les caractéristiques seront très différentes. Par exemple, certains patients en phase chronique, traités par un traitement conventionnel peuvent rester en phase chronique pendant une très longue période, tandis que d'autres peuvent décéder en quelques mois. Certaines caractéristiques cliniques relatives au malade, à la maladie ou encore à la réponse au traitement ont été identifiées comme facteurs pronostiques. Ces facteurs ont été incorporés dans un système de score, qui permet de classer les patients en différentes catégories, avec des pronostics différents. [66]

Plusieurs modèles de score ont été développés pour classer les patients selon des groupes de risque à pronostic différents. Parmi tous, celui qui est le plus utilisé à l'heure actuelle est celui proposé par Sokal et al. Bien que créé en 1984 alors que les thérapies existantes étaient encore le Busulfan et l'Hydroxyurée. (67)

III.3. Score de Sokal :

Identifié en 1984 afin d'évaluer le risque d'accélération ou d'acutisation. Il prend en compte l'âge, le volume splénique, la numération plaquettaire et le pourcentage de blastes sanguins. Cet indice discrimine les patients traités par l'IM ; il définit trois niveaux de risque d'évolution vers la transformation avec une médiane de survie différente : Survie médiane de 32 mois pour un risque élevé, 45 mois pour un risque faible (O'brien et al 2003).

III.4. Indice de Hasford ou score EURO :

Identifié en 1998 par Hasford et al. Il prend en compte l'âge, le volume splénique, la numération plaquettaire et le pourcentage de blastes, le pourcentage de basophiles sanguins et le pourcentage d'éosinophiles (Hasford et al 1998).

III.5. Score EUTOS :

Il est nouvellement établi à première de la thérapie ciblée par les ITK et qui a publié en 2011. Il n'intègre que deux paramètres : la taille de la rate et le pourcentage de basophiles sanguins (Hasford et al 2011).

Ces scores définissent les risques relatifs (faible, intermédiaire, élevé) : il semble actuellement que les patients de risque intermédiaire n'aient pas une évolution différente de ceux du groupe de faible risque.

III.6. Score ELTS :

Le score de survie à long terme (ELTS) d'EUTOS a été développé sur la base de 2205 patients adultes atteints de LMC en phase chronique chromosomique Philadelphie positive et / ou BCR-ABL1 positive, de type de transcription b2a2 et / ou b3a2, et de toute forme d'imatinib traitement à base de six mois après le diagnostic.

IV. Traitement de la LMC :

IV.1. Objectifs du traitement (selon l'ELN) :

Prévenir la progression vers la phase accélérée (AP) ou la crise blastique (BC) Prolonger la survie du patient et assurer une meilleure qualité de vie Le principal objectif du traitement de la LMC est d'obtenir une réponse complète, le premier stade à atteindre est :

A. la réponse (ou rémission) hématologique : RH

Ce stade est atteint lorsque Les taux de globules blancs, de globules rouges et de plaquettes dans le sang sont revenus à la normale (dans les valeurs de référence), la myélémie a disparue. Pour cela, un simple hémogramme sur frottis sanguin suffit à déclarer l'obtention d'une RH

B. La réponse hématologique complète (RHC) :

- ✓ Absence de rate palpable
- ✓ Taux de leucocytes < 10 G/L
- ✓ Absence de myélémie, basophiles < 5 %
- ✓ Taux de plaquettes < 450 G/L

C. La réponse cytogénétique :

- **La réponse minimale** : Entre 35 et 90% de mitoses portent le chromosome Ph+.
- **La réponse partielle** : Entre 1% et 35% de mitoses Ph+.
- **La réponse complète** : 0% de mitose Ph+ c'est-à-dire aucun chromosome Philadelphie détectable. Cette étape a été pendant longtemps l'objectif principal du traitement. (Bonifaci et Al, déjà en 2001), prouvaient que l'obtention d'une RCC (Réponse cytogénétique complète) est associée à une prolongation significative de la survie. **(68)**.

D. La réponse moléculaire

La notion de réponse dite majeure (Réponse Moléculaire Majeure ou RMM) est une diminution d'au moins 3 logs par rapport au taux initial (10⁹), et le ratio BCR- ABL/ABL est égal à 0,1%. **(58)** la nouvelle évolution va vers les possibilités d'arrêt de traitement, si des réponses extrêmement profondes

Sont atteintes. Il était donc devenu critique d'évaluer de manière standardisée les réponses moléculaires profondes. [68] Grâce à l'échelle internationale, ces niveaux ont pu être définis, comme par exemple :

- **MR4 (ou réponse moléculaire 4)** indique une réduction du transcrit de 4 log, soit un ratio du transcrit BCR-ABL/ABL inférieur ou égal à 0,01%.
- **MR4.5 (ou réponse moléculaire 4,5)** indique une réduction du transcrit de 4,5 log, soit un ratio du transcrit inférieur ou égal à 0,0032%.
- **Ou encore MR5 (réponse moléculaire 5)** qui indique une réduction du transcrit de 5 log et donne un ratio BCR-ABL/ABL inférieur ou égal à 0,001%.

Enfin, maladie résiduelle indétectable au niveau moléculaire : c'est ce que l'on cherche à atteindre, le transcrit du gène BCR-ABL n'est plus du tout détectable dans le sang ou dans la moelle osseuse.

D. Les objectifs de traitement de la LMC en 2017 selon les NCCN Guidelines :

Offrir un arrêt de traitement pour les patients ayant atteint une réponse moléculaire profonde
Potentiellement guérison de la maladie (site web de l'ELN).

IV .2. Les moyens thérapeutiques :

➤ **La chimiothérapie conventionnelle :**

Elle ne fait pas disparaître le Ph mais permet le contrôle de la masse leucémique en réduisant la leucocytose, le volume de la rate et elle améliore la qualité de vie, sans prolongation de la phase chronique. L'hydroxy urée (Hydréa) est le traitement le moins néfaste, qui aboutit à une rémission hématologique dans environ 70% des cas. Cependant, la rémission cytogénétique est très rare (Verloes, 2007).

➤ **L'Interféron alpha (IFN) :**

Chez l'humain, les IFN sont des molécules produites et sécrétées par les cellules en réponse à des infections virales ou à différents inducteurs synthétiques et biologiques.

Les IFN-G 2a et 2b recombinants, utilisés aujourd'hui dans le traitement de la LMC sont des cytokines obtenues par génie génétique. Ils étaient utilisés en phase chronique chez les patients qui ne pouvaient pas bénéficier d'une greffe (Guilhot, 2003).

➤ La greffe de moelle osseuse :

- **Allogreffe** : la greffe de moelle osseuse allogénique ou bien de cellules souches hématopoïétiques est le seul traitement éradicateur de la LMC quel que soit le stade de la maladie. Grâce au conditionnement et à l'effet greffon versus leucémie, elle permet l'élimination des cellules leucémiques et la reconstitution d'une hématopoïèse normale. (Rousselot, 2003). Mais actuellement elle reste l'alternatif après échec aux anti tyrosines kinases ou en cas de formes avancées, LMC acutisée.

➤ Les inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK) :

❖ Les ITK de première génération (Imatinib) :

Qui assure une survie de 8 ans chez presque 90 % des patients. Identifié en 1996, l'Imatinib « le STI57 » (Signal transduction Inhibitor 571) fait partie des inhibiteurs de la transmission du signal intracellulaire. Il cible spécifiquement l'ATK de l'oncoprotéine Abl. Le mécanisme d'action de l'IM repose sur la neutralisation de tyrosine kinase de la protéine BCR-ABL par inhibition compétitive de l'ATP au niveau du site catalytique de celle-ci. Il en résulte une inhibition de l'autophosphorylation, une inhibition de la prolifération et l'induction de l'apoptose.

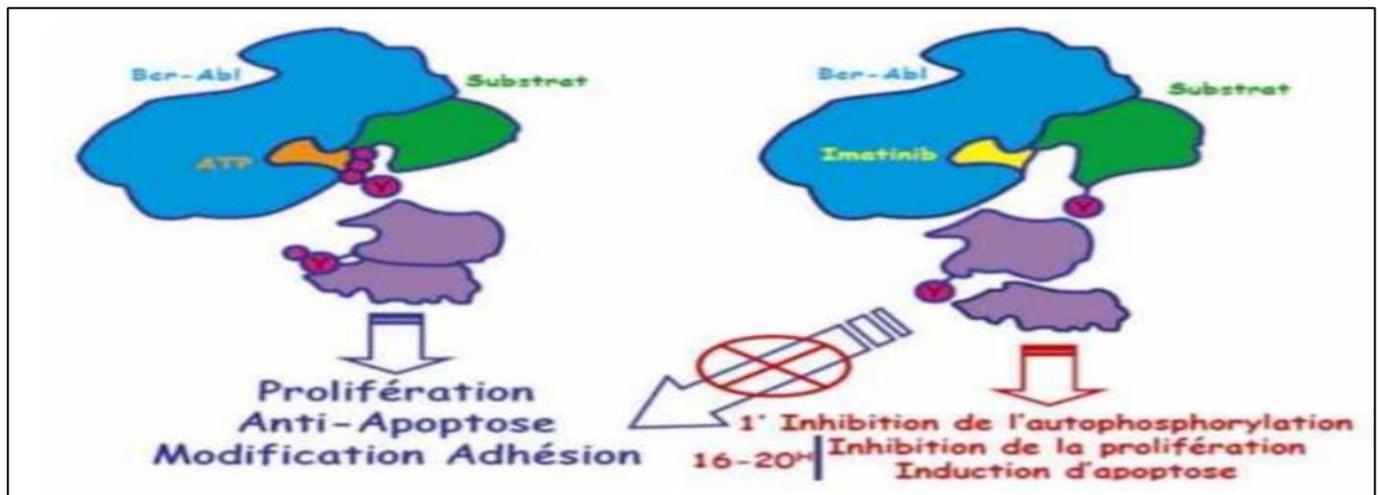


Figure 18 : Mécanisme d'action de l'imatinib sur BCR-ABL (Legbay,2005)

❖ ITK de la deuxième génération (ITK2) :

Indiqués initialement dans les formes résistantes par nouvelles mutations ou en cas d'intolérance à l'imatinib. Ils sont efficaces en cas de mutation à l'exception de la mutation T315I. Le risque d'intolérance croisée lors du passage de l'Imatinib aux ITK 2ème génération est très faible (69).

- ✓ **Le Dasatinib** : IL a une action inhibitrice de BCR-ABL 300 fois supérieure à celle de l'Imatinib in vitro. Il est actif sur les mutations : E 255 K ; Y 253 H ; F 359 C. Il se lie aux conformations actives du DTK de la protéine BCR-ABL (70).
- ✓ **Le Nilotinib** : Il possède une activité anti c-Kit et PDGF. C'est un ITK2 structurellement analogue à l'Imatinib, mais qui présente in vitro une activité plus puissante sur BCR-ABL non muté et muté, 30 fois supérieure à celle de l'Imatinib. Il est actif sur les mutations : V299 L ; F 317L ; Q 252 H. à l'exception de mutations T315I, E255V/K et Y253H (71).
- ✓ **Le Bosutinib** : Possède une activité antiproliférative sur les cellules portantes BCR-ABL sensibles ou résistantes à l'Imatinib. Il est 200 fois plus puissant in vitro. Compris les mutants Y253F, E255K et D276G mais pas le mutant T351I. Il possède également une activité anti c-Kit, PDGF et ainsi Src kinases (72).

❖ ITK de la troisième génération :

- Le Ponatinib :

Il s'agit d'un puissant ITK actif sur les formes ABL mutées ou non, y compris la mutation T351 présente chez jusqu'à 20% des patients de la LMC résistants aux autres ITK (62).

Génération	ITK	Approbation		
		1ère ligne	2ème ligne	3ème ligne
1ère	Imatinib	2003	2001	
2ème	Nilotinib	2011	2008	
	Dasatinib	2011	2007	
3ème	Bosutinib			2014
	Ponatinib	Étude clinique		

Tableau II : Les différents inhibiteurs de tyrosines kinases.

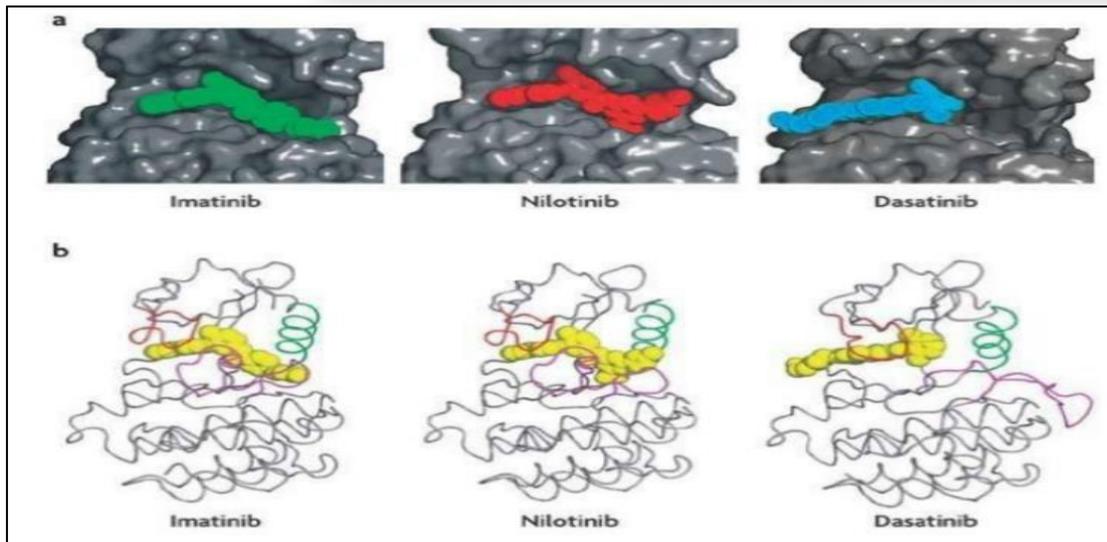


Figure 19 : Conformation des différentes molécules Imatinib, Nilotinib et Dasatinib et leur liaison à la protéine BCR-ABL(62)

Etant donné que ces trois molécules sont toutes des inhibiteurs de tyrosine kinase, leur mode d'action est similaire. Comme déjà expliqué ci-dessus, elles viennent se placer à la place de la molécule d'ATP au niveau du domaine tyrosine kinase de la protéine BCR-ABL pour l'inhiber et donc provoquer toute la cascade de signalisation évoquée précédemment. La différence résidera dans les autres cibles que vont viser ces inhibiteurs de tyrosine kinase et avec quelle intensité.

IV.3. Les indications des ITKS :

Les protocoles thérapeutiques actuels utilisent l'Hydroxyurée en traitement court s'il faut diminuer rapidement une grande hyperleucocytose, puis **un inhibiteur de l'activité tyrosine-kinase BCR-ABL**.

On peut utiliser un ITK de première ou de seconde génération pour la mise en place du traitement initial.

IV.4. La surveillance du traitement et les critères de réponse (ELN site web) :

- Surveillance biologique de La maladie résiduelle (MRD) :

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est une maladie remarquable sur le plan oncogénique, et l'étude de la maladie résiduelle, c'est-à-dire l'évaluation des cellules leucémiques persistantes après traitement, trouve dans cette pathologie une illustration exemplaire. Le chromosome Philadelphie et son équivalent moléculaire, le gène de fusion BCR-ABL, sont le marqueur des cellules leucémiques, et les techniques quantifiant ce marqueur permettent de mesurer la quantité de cellules leucémiques résiduelles avec une grande sensibilité. Élaborés pour cibler spécifiquement les cellules leucémiques, c'est pour cela qu'elle est mesuré grâce à la technique de PCR en temps réel ou automatisé PCR GeneXpert, jusqu'à l'obtention d'une réponse moléculaire profonde (RMP) et les patients peuvent maintenir la RMP pendant au moins 2 ans, ces patients sont des candidats pour l'arrêt de traitement.

Type de réponse		Caractéristiques	Test utilisé pour mesurer la réponse
Hématologique	Réponse hématologique complète (RHC)	<ul style="list-style-type: none"> Retour complet à la normale du nombre de cellules sanguines Aucun blaste dans le sang périphérique Aucun signe ni symptôme de la maladie – la rate retrouve sa taille normale 	Hémogramme avec numération différentielle
	Réponse cytogénétique complète (RCyC)	Aucun chromosome Philadelphie (Ph) détecté	Test cytogénétique de la moelle osseuse ou FISH
Réponse cytogénétique partielle (RCyP)	De 1 à 35 % des cellules porteuses du chromosome Ph		
Réponse cytogénétique majeure (RCyM)	De 0 à 35 % des cellules porteuses du chromosome Ph		
Réponse cytogénétique mineure (RCym)	Plus de 35 % des cellules porteuses du chromosome Ph		
Moléculaire	Réponse moléculaire complète (RMC)	Aucun gène BCR-ABL détecté	PCR quantitative à l'aide de l'échelle internationale (IS)
	Réponse moléculaire majeure (RMM)	Réduction des niveaux de BCR-ABL d'au moins 3 log* ou BCR-ABL 0,1 %	

* Une réduction de 3 log correspond à une réduction de 1/1 000 ou à une division par 1 000 du niveau de cellules porteuses du gène BCR-ABL présentes au début du traitement.

Source : The NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology[®] for Chronic Myelogenous Leukemia, 2016.

Tableau III : réponses au traitement pour la LMC (source sous le tableau NCCN)

- **Critères de réponse aux ITK (quels qu'ils soient) :**

- **Selon l'ELN 2013 :**

European Leukemia Net (ELN) est un réseau de recherche d'excellence financé par l'Union Européenne, qui a fourni des recommandations de traitement et de prise en charge des patients atteints de Leucémie Myéloïde Chronique en 2006 puis en 2009 et de nouveau en 2013.

Le choix du médicament pour le traitement de la LMC est également basé sur le profil d'effets secondaires du médicament ou s'il y a d'autres médicaments pris en parallèle et sur la présence de résistances dues à des mutations précises ou d'autres pathologies existantes. [71]

Tout d'abord, il est bon de redéfinir les différentes réponses au traitement que l'on peut observer. Trois niveaux ont été définis :

- **Réponse optimale** : Si la réponse obtenue est optimale c'est qu'elle est la meilleure possible, et il est probable que la survie du patient soit similaire à celle de la population globale. Dans ce cas, aucune modification du traitement n'est à prévoir.

- **Réponse sous-optimale** : Le traitement n'est pas aussi efficace que ce qu'il devrait, le médecin peut décider de modifier le traitement si besoin.

Moment	Réponse optimal	Alerte	Échec
Au moment du Diagnostic	NA	Risque élevée*ou CCA/Ph+	NA
3mois	BCR-ABL ≤ 10% et/ou Ph+ ≤ 35%	BCR-ABL > 10 %, et/ou Ph+ 36 à 95%	Pas de RHC, et/ou Ph+ > 95%
6mois	BCR-ABL < 1 % et/ou Ph+	BCR-ABL 1 et 10 %, et/ou Ph+ 1 35%	BCR-ABL > 10 % et/ou Ph+ > 35%
12mois	RMM (BCR-ABL) ≤ 0,1 %	BCR-ABL 0,1 et 1 %	BCR-ABL > 1 % et/ou Ph+ > 0%
A tous moment	RMM (BCR-ABL1) ≤ 0,1%	CCA/Ph.-(-7ou-7q)	-Perte de RHC -Perte de RCYC -Perte confirmée de la RMM -Mutations -CCA/PH+

Tableau IV : Critères de réponses au traitement selon l'ELN 2013(CML avocates)

○ Selon l'ELN 2020 :

Intention de traitement	Quels patients ?	Quel traitement ?
1 ^{ère} intention	Tous les patients	400 mg d'imatinib une fois par jour, 300 mg de nilotinib deux fois par jour ou 100 mg de dasatinib une fois par jour. La détermination du type HLA* des patients et des frères et soeurs doit être réalisée seulement en cas d'alertes (risque élevé, anomalies chromosomiques additionnelles majeures-dans les cellules possédant le chromosome Philadelphie).
2 ^{ème} intention (après l'imatinib, le nilotinib ou le dasatinib)	Patients éprouvant une toxicité ou une intolérance	<i>Chez les patients intolérants</i> : Passer à l'un des autres inhibiteurs de tyrosine kinase autorisé en 1 ^{ère} intention à une dose standard. <i>Chez les patients résistants</i> : Une dose plus élevée (400 mg d'imatinib deux fois par jour, 400 mg de nilotinib deux fois par jour, 70 mg de dasatinib deux fois par jour ou 140 mg de dasatinib une fois par jour), prenant en compte des mutations potentielles, les effets indésirables des traitements précédents et les maladies associées qui pourraient interférer. Un changement de médicament est préférable à une augmentation de la dose d'imatinib.
2 ^{ème} intention (après l'imatinib)	Patients pour lesquels le traitement a échoué	Dasatinib, nilotinib, bosutinib (500 mg une fois par jour) ou ponatinib (45 mg une fois par jour). Déterminer le typage HLA des patients et de leurs frères et soeurs.
2 ^{ème} intention (après le nilotinib)	Patients pour lesquels le traitement a échoué	Dasatinib, bosutinib ou ponatinib. Déterminer le typage HLA des patients et de leurs frères et soeurs. Envisager la greffe de cellules souches
2 ^{ème} intention (après le dasatinib)	Patients pour lesquels le traitement a échoué	Nilotinib, bosutinib ou ponatinib. Déterminer le typage HLA des patients et de leurs frères et soeurs. Envisager la greffe de cellules souches
3 ^{ème} intention (après deux inhibiteurs de tyrosine kinase)	Patients qui n'ont pas réagi et/ou sont intolérants à deux inhibiteurs de tyrosine kinase Tous les patients éligibles	Un des inhibiteurs de tyrosine kinase restants. La greffe de cellules souches, si elle est faisable, peut être recommandée.
Quelle que soit la ligne de traitement	Patients porteurs de la mutation T315I	Le ponatinib. Déterminer le typage HLA des patients et de leurs frères et soeurs. Envisager la greffe de cellules souches.

Tableau V : Critères de réponses au traitement selon l'ELN 2020(CML avocates)

IV.5. Les resultats du traitement

Chez les patients recevant un traitement ITK de première génération : 89 % de survie sans progression à 5 ans, et 65 % de survie sans évènement à 5 ans. Pour la moitié des patients en échec avec ITK de première génération 55 % auront une survie sans progression à 5 ans avec un ITK de seconde génération. Les événements des 5 premières années ont sélectionné les patients : les mauvais répondeurs et ceux qui évoluent (phase accélérée ou blastique) reçoivent un ITK de seconde génération ont seront blastique devient quasi nulle.

Avec les ITK on obtient 98% de rémissions hématologiques. La probabilité de survie à 8 ans est de 89% (étude européenne).

Avec les avancées techniques et scientifiques, la survie globale des patients suivis pour LMC a pu atteindre le niveau de la population saine, mais le traitement est un traitement assez lourd car il doit se prendre quotidiennement jusqu'à la fin de ses jours.

Avec la quantification de la réponse moléculaire profonde (au moins RM4 ou 4.5), on pourra donc envisager un arrêt de traitement, mais pas pour tous les patients.

Le but est aussi d'identifier les causes de « rechute » (qui sera déterminées différemment en fonction des études mais globalement par la perte de réponse) afin de les anticiper et de les éviter.

IV.6. La rémission sans traitement (RST) :

Les patients atteints de LMC en phase chronique qui prennent un ITK depuis au moins trois ans et qui affichent une réponse moléculaire profonde (RMP), stable et prolongée depuis au moins deux ans, peuvent envisager l'arrêt du traitement par ITK et tenter d'obtenir une rémission sans traitement (RST).

À l'heure actuelle, le NCCN préconise, dans ses lignes directrices, la possibilité d'arrêter le traitement chez les patients admissibles à condition qu'ils bénéficient d'un suivi serré, de grande qualité, bien Cadré et certifié. (72). La principale raison réside dans l'important succès thérapeutique de l'imatinib.

V. Arrêts de traitement :

Dans tous les cas, l'obtention d'une réponse moléculaire profonde est prédictive de non-progression de la maladie vers la transformation. ; Les patients avec une réponse optimale doivent continuer indéfiniment leur traitement. L'éradication du clone leucémique ne peut être envisagée, sur le plan clinique, que par la preuve d'absence de rechute après un arrêt thérapeutique de longue durée. Pour diverses raisons (mauvaise tolérance, altération de la qualité de vie, ou une mauvaise observance), certains patients demandent d'arrêter leur traitement ou devancent les praticiens en l'arrêtant eux-mêmes. Pourtant, les arrêts de traitement doivent donc être réalisés seulement dans le cadre d'essais cliniques. Sur le plan sociétal, ces traitements ont un coût économique important et l'arrêt thérapeutique doit être évalué pour entrevoir une économie de santé. (73)

V.1. Intérêt de l'arrêt du traitement (ELN) :

La LMC est une maladie considérée comme incurable, avec les avancées techniques et scientifiques, la survie globale des patients a pu atteindre le niveau de la population saine, mais le traitement est un traitement assez lourd car il doit se prendre quotidiennement jusqu'à la fin de ses jours. Récemment, grâce aux professionnels experts de la LMC cités ci-dessus (groupe ELN, FiLMC, etc...), des études cliniques dites « d'arrêt de traitement » ont vu le jour. Environ 40% des patients qui tentent l'arrêt de traitement (sous un grand nombre de conditions), gardent leur réponse moléculaire et ne rechutent pas, c'est ce que l'on appelle la « rémission sans traitement ». Avec seulement 5 ans de recul il est trop tôt pour parler de guérison, mais des essais prometteurs sont actuellement en cours. Avec un traitement à vie, la LMC est une maladie bien contrôlée, qui ne met plus la vie des patients en danger. Cependant, de nombreux facteurs poussent les scientifiques vers les études d'arrêt de traitement. En effet, prendre un traitement à vie est assez contraignant pour le patient.

Le premier point important est l'observance. L'observance regroupe plusieurs critères, que les patients doivent respecter :

- Respect de la dose et des horaires de prise du traitement (notamment par rapport aux repas)
- Eviter certains aliments et médicaments pouvant interférer avec le traitement (ceci concerne donc également l'auto-médication).
- Eviter de partir en vacances sans son ordonnance.
- Respecter le calendrier des analyses biologiques et donc respecter les dates de rendez-vous de consultation avec son médecin. Le plus important et celui qui nous intéresse est le respect de la prise du traitement à la dose prescrite et à des horaires réguliers. Dans ce domaine plusieurs études ont montré que la bonne observance avait un effet très important sur la réponse au traitement.

V.2. Indication de l'arrêt de l'ITK :

L'arrêt des ITK pour les LMC en phase chronique, après un traitement par l'ITK ayant une réponse moléculaire profonde suggère qu'il est donc possible d'arrêter le traitement de manière relativement sûre. (74).

❖ Critères à prendre en compte :

Un patient atteint de LMC pourrait trouver de nombreux avantages à obtenir une rémission sans traitement, ne serait-ce que pour ne plus s'astreindre à un traitement ou en réduire les coûts, ou pour des raisons qui lui sont propres. L'arrêt du traitement peut :

- Réduire le risque d'effets secondaires liés aux ITKs et d'interactions médicamenteuses futures. Malgré un profil de tolérance relativement bon, les ITKs entraînent des effets secondaires pouvant altérer la santé et la qualité de vie.
- Etre bénéfique pour les jeunes femmes qui songent à avoir un enfant et ont besoin d'un congé thérapeutique.
- Eviter les désagréments liés à la prise quotidienne d'un médicament
- Réduire le coût lié à un traitement continu pour l'assureur, donc des économies pour le patient comme pour le système de santé.

Syndrome de sevrage des ITK :

Après l'arrêt de la thérapie par ITK, certains patients peuvent ressentir des douleurs musculosquelettiques ou présenter une éruption cutanée. Le syndrome de sevrage peut durer des mois, mais il peut souvent être maîtrisé par des anti-inflammatoires non stéroïdiens, ou encore, dans les cas plus graves, par des corticostéroïdes. La douleur ne semble pas être corrélée à l'ITK particulier que le patient prenait avant l'arrêt du traitement, mais elle pourrait être moins fréquente après l'arrêt du dasatinib. Le syndrome de sevrage concernerait de 10 à 30 % des patients qui cessent le traitement par ITK.

Des études cliniques devront être réalisées pour savoir si l'on peut le prendre en charge en réduisant progressivement les doses d'ITK sur plusieurs mois.

Craintes exprimées par les patients : L'arrêt de la thérapie par ITK est une source d'anxiété pour les patients, qui redoutent une récurrence ou la progression de la maladie.

Admissibilité du patient : Les facteurs psychosociaux et émotionnels, de même que les facteurs cliniques, sont déterminants dans la décision du patient de tenter d'obtenir une RST. (Site web de l'ELN)

V.3. Surveillance lors de l'arrêt du traitement :

Des analyses moléculaires fréquentes et hautement sensibles sont essentielles pour assurer la sécurité des patients qui tentent d'obtenir une RST, en particulier pendant la première année qui suit l'arrêt de l'ITK et pendant la réinstauration du traitement. Dans ses lignes directrices, le NCCN recommande un suivi toutes les 4 semaines par PCR pendant la première année de la tentative de RST, toutes les 6 semaines la deuxième année et toutes les 12 semaines par la suite. Il est également conseillé de rencontrer l'équipe de traitement tous les trimestres (4 fois /an) la première année et tous les 3 à 6 mois par la suite. Les rendez-vous médicaux sont importants, car ils donnent à l'équipe soignante l'occasion de répondre aux préoccupations des patients, de discuter des résultats de la PCR et de modifier au besoin la nature et la fréquence du suivi. De 40 à 60 % environ des patients qui arrêtent la thérapie par ITK après avoir obtenu une RMP présentent une récurrence au cours des 12 premiers mois, parfois même seulement un mois après l'arrêt du traitement.

Chez presque tous les patients, la maladie redevient indétectable lorsque le traitement est réinstauré immédiatement. La réponse moléculaire peut aussi être tardive ; on ne saurait donc trop insister sur l'importance de se soumettre à un suivi régulier pendant la tentative de RST afin que le médecin puisse détecter une récurrence et prévenir la progression de la maladie. Plusieurs facteurs peuvent aider à prédire le risque de récurrence après l'arrêt du traitement par ITK, à savoir :

- Un indice de risque plus élevé selon l'échelle de Sokal.
- Le sexe féminin
- Un nombre plus bas de cellules tueuses naturelles (les cellules NK)
- Une réponse sous-optimale ou une résistance à l'imatinib
- Une durée plus courte du traitement par ITK

Une réponse moléculaire profonde de plus courte durée avant l'arrêt du traitement. (75)

V.4. Les études d'arrêt de l'ITK :

C'est en 2004, alors que l'Imatinib est actuellement le traitement de référence, que les 3 premiers patients atteints de LMC ont décidé de tenter d'arrêter leur traitement.

Par ailleurs, il avait déjà été démontré auparavant, qu'arrêter le traitement chez des patients ayant une maladie résiduelle détectable (un transcrite BCR-ABL détectable en RQ-PCR), menait inévitablement vers une rechute.

La première patiente était une femme de 34 ans, qui avait d'abord été traitée par interféron puis par Imatinib. Au bout de 9 mois d'Imatinib elle avait obtenu la réponse moléculaire complète avec un transcrite indétectable, et elle décida d'arrêter le traitement pour une grossesse, après 12 mois de maintien

du transcrit indétectable. Elle rechuta au bout de 3 mois, avec 5% de cellules porteuses du chromosome Ph. Le traitement par Imatinib a été immédiatement repris, et 3 mois plus tard, plus aucune cellule de la moelle ne présentait de chromosome Ph et le transcrit BCR-ABL était redevenu indétectable.

Le second patient est un homme de 70 ans, toujours traité par Imatinib. Il avait atteint la réponse cytogénétique complète en 3 mois et un transcrit indétectable au bout de 6 mois. Il décida d'arrêter le traitement à cause d'un effet indésirable trop gênant. Il rechuta au bout de 6 mois, avec 100% de cellules hématopoïétiques présentant le chromosome Ph. Lui aussi repris immédiatement le traitement et retrouva sa réponse cytogénétique complète au bout de 6 mois, mais pas son transcrit indétectable.

La troisième patiente est une femme de 40 ans, mise sous interféron, ce qui a mené à la progression de la maladie en phase accélérée. Elle débuta le traitement par Imatinib, mis 24 mois à obtenir un transcrit indétectable, et le conserva pendant près de 18 mois. En arrête le traitement pour le même désir de grossesse que la première patiente. La réapparition de cellule de moelle positive au chromosome Ph (6%) arriva au bout de 7 mois sans traitement. La patiente n'a pas souhaité reprendre le traitement. L'arrêt de traitement chez ces trois premiers patients a donc permis de confirmer les recommandations de l'époque, c'est à dire de continuer le traitement à vie, car ils ont prouvé que la maladie reprenait le dessus très rapidement, même après des mois de transcrit non détectable. De plus, la reprise du traitement chez les deux premiers patients, nous montre qu'il n'y a pas de résistance à l'Imatinib mais que le traitement au long court est nécessaire. (76)

En 2007, une étude pivot, institutionnelle, a été mise en place en France, par le groupe FiLMC. Dans cette étude, le critère d'inclusion était donc d'avoir un transcrit indétectable en RQ-PCR depuis au moins deux ans, sous traitement par Imatinib. Ils pouvaient également avoir reçu ou non de l'interféron. Le monitoring était très strict afin d'observer au plus vite la réapparition du transcrit en cas de rechute. Seulement 12 patients ont été inclus, 6 ont rechutés dans les 6 premiers mois, mais les 6 autres étaient toujours en rémission sans rechute au bout de 18 mois de suivi. Par ailleurs, on note que parmi ces 6 patients n'ayant pas rechutés, tous avaient reçu de l'interféron avant l'Imatinib.

Les scientifiques ont cherché les facteurs associés avec la persistance de la rémission sans traitement face aux rechutes. Aucun facteur n'est sorti du lot, à l'exception d'une tendance : les patients ayant rechutés avaient une durée moyenne d'obtention de la réponse moléculaire complète plus longue (11 mois versus 8,5 mois), que les patients n'ayant pas rechuté. Attention tout de même à prendre en compte le faible nombre de patient inclus dans cette étude, ce n'est donc qu'une tendance et pas une hypothèse vérifiée statistiquement. Mais cela va donc dans le sens que plus un patient est répondeur et plus son transcrit baisse rapidement, meilleure sera sa réponse. C'est également en corrélation avec les critères de l'ELN, si les objectifs ne sont pas atteints en une certaine période de temps, la réponse n'est pas considérée comme optimale. En dehors de cette étude, 9 autres patients ont pu arrêter le traitement, et 6

ont rechuté, soit un taux de rechute de 66%. Dans l'étude ci-dessus, seulement 6 patients sur 12 ont rechuté, soit un taux de rechute de 50%. La différence que l'on constate concerne la durée de rémission complète (transcrit indétectable) avant arrêt du traitement. En effet, elle était légèrement supérieure (32 mois en moyenne) dans cette étude que la moyenne pour les autres patients (seulement 14 mois). Il est donc évident que la réponse moléculaire continue de diminuer mais on ne peut pas le quantifier, du fait de la sensibilité des machines de RQ-PCR. C'est ce que l'on appelle la maladie résiduelle. D'un point de vue scientifique, si on considère que le temps nécessaire aux cellules leucémiques pour se multiplier par 2 est de 8 jours, en 6 mois seulement, une seule cellule qui prolifère peut atteindre 10^7 cellules ! C'est ce qui explique les rechutes assez rapides que l'on a observé.

Cependant, il reste à déterminer si, chez les patients qui ne rechute pas, est-ce qu'il n'y a plus du tout de maladie résiduelle ? Ou bien les cellules restantes ne sont plus en état de prolifération ? Cette question n'est encore pas résolue à l'heure actuelle. (77)

Etude STIM 1

C'est donc dans ce contexte que l'étude STIM, ou STop IMatinib a été mise en place par le groupe FiLMC. L'Imatinib était toujours le traitement de référence à l'époque, il induisait des réponses stables et prolongeait les survies globales sans événement et sans progression. (76, 77) Il s'agit d'une étude multicentrique, prospective, ayant inclus 100 patients entre juillet 2007 et décembre 2009. Les patients ont été suivis par RQ-PCR quantitative, ce qui permet de suivre l'évolution du transcrit des cellules leucémiques BCR-ABL, jusqu'à arriver au transcrit indétectable ou réponse moléculaire complète (RMC). Les patients devaient avoir été traités par Glivec (Imatinib) depuis minimum 3 ans et être en réponse moléculaire complète (transcrit indétectable) depuis au moins 2 ans. Lors de la phase d'arrêt, le traitement était réintroduit lorsque le transcrit était redevenu détectable sur deux prélèvements consécutifs. Les prélèvements étaient effectués tous les mois pendant la première année d'arrêt puis tous les deux mois. [78] Voici les résultats de cette étude [79] :

- On a assisté à une rechute moléculaire chez 61% des patients, dont 95% dans les 6 premiers mois, et seulement 3 rechutes tardives (au 19^{ème}, 20^{ème} et 22^{ème} mois d'arrêt).
- Donc 40% des patients sont restés en rémission sans traitement après 2 ans de suivi.

Etude A STIM :

A STIM (ou According to Stop IMatinib) est une étude observationnelle dont la cohorte évaluée était très similaire à l'étude précédente STIM 1 mais avec des critères un peu moins stricts. En effet, lors du suivi moléculaire des patients inclus dans l'étude STIM, il a été remarqué que certains patients n'avaient pas une réponse moléculaire très stable dans le temps : le transcrit était détectable à certain point puis redevenait indétectable ensuite. Les critères d'inclusion dans cette étude étaient donc les

mêmes que pour l'étude STIM 1, à l'exception que les patients pouvaient avoir eu quelques prélèvements montrant un transcrit détectable avant l'entrée dans l'étude et le critère de reprise du traitement était la perte de la RMM (RM3) et non plus juste la réapparition du transcrit. Au total 80 patients ont été inclus dans cette étude. La durée médiane de traitement par Imatinib, avant arrêt est de 79 mois (30-145), et la durée de réponse moléculaire complète (transcrit indétectable) était de 41 mois (24-96). Parmi ces 80 patients, 42 patients (52%) étaient classés à l'inclusion comme ayant une RMC instable (au moins un prélèvement où le transcrit était détectable). 29 patients, soit 36% des patients ont perdus leur RMM et ont donc repris le traitement. La durée médiane sans traitement pour ces patients est de 4 mois, parmi lesquels 4 l'ont perdu après 6 mois sans traitement. Par correspondance avec les critères de l'étude STIM, les résultats de cette étude auraient été différents : le taux de rechute se serait élevé à 56% (45 patients) après 4 mois sans traitement. La proportion de patient en rémission sans traitement a donc été calculée à 64% à 12 et 24 mois de suivi et à 61% à 36 mois de suivi. C'est un résultat très favorable.

Par ailleurs, dans cette étude, on observe une petite différence significative entre les patients ayant reçu de l'interféron avant l'Imatinib, versus les patients recevant de l'Imatinib en première ligne : les patients ayant reçu de l'interféron avaient un plus faible taux de rechute à 24 mois (28,8% vs 44,7%). Enfin, encore une fois, tous les patients ayant repris le traitement ont retrouvé leur réponse moléculaire profonde. La conclusion de cette étude est donc la validation de la perte de la RMM comme critère de réintroduction du traitement. (Rousselot P et al) .

❖ Etude Australienne TWISTER :

Cette autre étude est similaire à l'étude STIM, et a confirmé ses résultats. Les patients incluables étaient des adultes, précédemment traités par Imatinib au minimum 36 mois et ayant un transcrit indétectable depuis au moins 24 mois. Dans cette étude, la reprise du traitement était définie par un seul prélèvement montrant la perte de la RMM ou la réapparition du transcrit sur deux prélèvements consécutifs. Le rythme des prélèvements était mensuel pendant la première année d'arrêt, puis tous les deux mois et enfin trimestriel ensuite. L'objectif principal était la proportion de patient ne présentant pas de rechute sans traitement pendant 2 ans. Au total, 40 patients ont été inclus entre août 2006 et août 2011. Dix-neuf patients avaient été traités par Imatinib en première intention et 21 avaient reçus un autre traitement, y compris de l'interféron. Au moment de l'analyse (1^{er} décembre 2012), les patients avaient au minimum 15 mois de suivi (médiane 42 mois), et 18 patients (45%) étaient toujours en rémission sans traitement. Les patients avaient reçu une médiane de 70 mois d'Imatinib, ont mis 32 mois médians (de 3 à 73 mois) à atteindre la réponse moléculaire complète et sont restés entre 24 et 82 mois en RMC avant arrêt du traitement. Sur les 22 rechutes moléculaires observées, 15 (68%), ont eu lieu dans les 6 premiers mois après l'arrêt de l'Imatinib et les autres entre le 6^{ème} et le 27^{ème} mois. L'analyse statistique décrit

un taux de rémission sans traitement à 2 ans égal à 47,1%. Il est important de préciser une nouvelle fois que tous les patients ayant rechutés ont tous été re-sensible à l'Imatinib une fois réintroduit. Par ailleurs, chez 5 des 18 patients n'ayant pas rechutés, quatre ont montré un prélèvement avec un transcrite BCR-ABL détectable et un patient a même eu deux fois un transcrite détectable. (80)

+ Etude STIM 2 :

Une nouvelle étude, STIM2, a été mise en place par le groupe FiLMC, dans laquelle les patients devaient avoir reçu uniquement de l'Imatinib.

Au total 124 patients français ont été inclus en avril 2011 et juin 2013. A 12 mois de suivi, 48 patients ont rechuté (45 dans les 6 premiers mois et 3 entre le sixième et le douzième mois). Par ailleurs, 41 patients montraient des signes de fluctuation du transcrite, confirmant que sa réapparition ne signifiait pas obligatoirement une rechute. Enfin, tous les patients ont été sensibles de nouveau à un inhibiteur de tyrosine kinase après leur rechute, comme dans toutes les autres études pour le moment. (81)

+ Etudes Coréennes KID :

Enfin, l'étude KID (Korean Imatinib Discontinuation Study), a pour but d'identifier les facteurs prédictifs pour un arrêt de traitement plus sûr, avec moins de risque de rechute à long terme. Au total, 90 patients en phase chronique, ayant reçu de l'Imatinib en première ligne depuis plus de 3 ans et ayant un transcrite BCR-ABL indétectable depuis au moins 2 ans ont été inclus jusqu'en juillet 2014. Les patients suivis au minimum 12 mois ont été analysés. La reprise du traitement après l'arrêt est définie par la perte de la RMM sur 2 prélèvements consécutifs à 4 semaines d'intervalle lors des 6 premiers mois d'arrêt, puis toutes les 8 semaines jusqu'à un an et enfin toutes les 12 semaines. Pour les 90 patients inclus (38 hommes et 52 femmes), la durée médiane de traitement par Imatinib avant l'arrêt est de 80,9 mois et la durée médiane d'observation du transcrite indétectable est de 39,9 mois. Les pourcentages de patient avec un score Sokal bas, intermédiaire ou élevé sont respectivement de 32%, 26% et 17% (pour les autres le score sokal n'était pas connu). Suite à l'arrêt de l'Imatinib, 45 patients ont perdu leur transcrite indétectable sur au moins un prélèvement. Huit l'ont retrouvé dès le prélèvement suivant et n'ont donc pas repris le traitement, mais 37 ont dû reprendre le traitement (avec une durée médiane d'arrêt de 3,3 mois). Les pourcentages de Rémission Sans Traitement (TFR ou Treatment Free Remission) (sans perte de la RMM) à 12 et 24 mois sont respectivement de 62,2% et 58,5%. Tous les 37 patients ayant perdus leur RMM ont été retraités et tous ont fini par retrouver leur RMM en quelques mois. La particularité de cette étude est l'évaluation de l'aggravation ou même de l'apparition de douleur musculo-squelettique et

de prurit suite à l'arrêt de l'Imatinib. Ce sont deux effets indésirables connus de l'Imatinib, et étonnamment on les retrouve chez 30% des patients (ici 27 patients) après l'arrêt de l'Imatinib. Il a été prouvé statistiquement ($P=0,003$) par cette étude, que les patients présentant ce syndrome de sevrage post-ITK, avaient une plus grande probabilité de garder leur rémission sans traitement plus longtemps que les autres (79,5% versus 49,2%). Par ailleurs, une nouvelle fois la durée de traitement par Imatinib avant arrêt du traitement semble avoir une importance sur le taux de rechute. C'est le facteur prédictif le plus étudié et celui qui semble avoir le plus d'impact. Enfin, le taux de transcrite résiduel à l'entrée dans l'étude avait été évalué.

Il semblerait que plus la réponse est profonde, et plus la proportion de patients ne rechutant pas est élevée (63,8% des patients sans maladie résiduelle à la baseline ont gardé leur RMM contre seulement 37,5% des patients montrant une maladie résiduelle (réponse moins profonde)). **(82, 83)**

EURO-SKI (European Stop Tyrosine Kinase Inhibitor):

L'étude EURO-SKI (European Stop Tyrosine Kinase Inhibitor), est une étude européenne d'arrêt de traitement. Environ 700 patients avaient été recrutés. Une analyse intermédiaire des 200 premiers patients issus de 8 pays d'Europe, qui ont été suivis pendant au moins 12 mois. Celle-ci exige seulement une MR4 ($\text{BCR-ABL} < 0,01 \%$) pendant plus de 1 an, un traitement par TKI de 3 ans minimum, et une réinstauration du traitement lors de la perte de la réponse moléculaire majeure (RMM, $\text{BCR-ABL} > 0,1 \%$) Les patients pouvaient avoir été traités par ITK en première ligne, parmi eux 97% étaient traités par Imatinib, et seulement 1,5% par Dasatinib ou Nilotinib.

Par ailleurs, 24 patients étaient traités en seconde ligne par un ITK (16 par Dasatinib, 6 par Nilotinib et 2 par Imatinib).

Lors de cette analyse intermédiaire, on a établi que la durée médiane de traitement avant l'arrêt était de 8 ans (de 3 à 13 ans) et la durée de réponse MR4 avant arrêt était de 5,4 ans (de 1 à 12 ans).

Au total, 111 des 200 patients (56 %) sont restés sans traitement pendant 12 mois après l'arrêt de l'ITK et 89 ont rechuté. Comme dans l'étude STIM, la plupart des récurrences sont intervenues très rapidement, au cours des 6 premiers mois (77 sur 89).

Parmi les 89 patients qui ont présenté une récurrence, au moment de l'analyse intermédiaire, 76 sur 89 avaient retrouvés au moins une RMM. Aucun patient n'a progressé vers une phase avancée de la maladie.

En termes de facteurs pronostiques de récurrence, la durée du traitement antérieur par TKI (47% de rechute pour les patients ayant reçu moins de 8 ans d'ITK, versus 26% si la durée est supérieure à 8ans) et le fait d'avoir obtenu une réponse MR4 durant plus de 5 ans avant l'arrêt du traitement, (32% de rechutes contre 46%) semblent avoir un impact bénéfique, tandis que la profondeur de la réponse moléculaire (MR4 vs MR4.5 vs MR5) avant l'arrêt du traitement n'a pas eu d'influence sur le risque de récurrence .

Par ailleurs, 31 des 200 patients ont été victimes du syndrome de sevrage post ITK, déjà apparu lors de l'étude Coréenne KID. Les effets répertoriés ont été principalement des douleurs musculosquelettiques, des suees, une fatigue, une perte de poids, des éruptions cutanées et des épisodes dépressifs. Aucun de ces évènements n'a été très sévère. Enfin, les économies estimées pour les systèmes de santé, dans les 8 pays de l'étude EURO-SKI, sont estimés à plus de 7 millions d'euros. (84).

Etude d'arrêt du Nilotinib ENEST-FREEDOM ET ENEST op :

- **ENEST op** : arrêt du Nilotinib en deuxième ligne après l'imatinib, traitement par Nilotinib d'une durée de 3 ans et plus avec une RMM4.5 confirmée pendant une année, avec reprise du Nilotinib après l'arrêt à la perte de la RMM4
- **ENEST-Freedom** : traitement par le Nilotinib en première ligne, d'une durée de 3 ans et plus, avec une RMM4.5 confirmée pendant une année, et reprise après l'arrêt à la perte de la RMM3 (thèse de doctorat université de lorraine)

Conclusion

Par conséquent, l'arrêt de l'Imatinib chez les patients en réponse moléculaire profonde, traités par Imatinib depuis longtemps est donc une réelle possibilité. Ces études ont également prouvé qu'il est sans danger de tenter l'interruption du traitement car tous les patients ayant rechuté ont tous retrouvé leur RMM en quelques mois et aucun patient n'a progressé vers une phase plus avancée de la maladie. L'enjeu actuel est maintenant de déterminer les facteurs prédictifs au maintien de la TFR, afin de cibler les patients éligibles et de leur proposer plus systématiquement. Pour le moment, le seul facteur que l'on retrouve dans toutes les études et pour lequel les scientifiques sont tous d'accord est la durée de traitement par Imatinib avant l'arrêt, c'est ce que l'on va appeler l'imprégnation thérapeutique. En revanche, le score Sokal, le sexe, le traitement antérieur par interféron, la durée de la réponse profonde avant arrêt, la cinétique d'obtention de la réponse profonde, l'âge et même la profondeur de la réponse moléculaire lors de l'arrêt sont tous des facteurs potentiels mais dont les résultats sont conflictuels. Par exemple, les études A-STIM et EURO-SKI, démontrent que la profondeur de réponse avant l'arrêt (RM4, RM4.5, transcrit indétectable, etc...) ne joue pas comme facteur pronostique alors que l'étude Coréenne KID démontrerait que si. Il n'y a donc pas encore de terrain d'entente entre tous les experts sur les facteurs pronostiques à une bonne TFR.

VI. PATIENT ET METHODES :

Objectif

L'objectif de notre mémoire à travers notre étude, est de mettre en évidence :

- L'intérêt d'une technique de biologie moléculaire très développée et complètement automatisé, notamment la PCR quantitative par GeneXpert dont le but est de suivre la cinétique de la maladie résiduelle ou le monitoring moléculaire des transcrits BCR/ABL chez les patients suivis pour LMC sous anti tyrosines kinases de première génération l'Imatinib
- Ces patients ayant achevé la rémission moléculaire profonde confirmée pendant 24 mois et un traitement de plus de 5 ans, en arrêt de l'Imatinib en vue d'une rémission sans traitement (RST) (TFR)

VI. PATIENTS ET METHODES :

VI. 1. Patients :

Il s'agit d'une étude rétrospective allant normalement du 1 février au 1 mai 2020, réalisée au sein de la consultation spécialisée LMC et le laboratoire de cytogénétique du service d'hématologie de l'EHS ELCC de Blida, portant sur 20 patients atteints de LMC sous ITK de première génération l'imatinib. Mais à cause de la crise sanitaire de la COVID-19 et le confinement, notre stage pratique ne s'est pas déroulé comme convenu, il a été réalisé dans un intervalle de temps étalé sur quelques semaines. Tous les patients ont bénéficié d'un examen initial au diagnostic soit :

- Clinique dont le but est la recherche de la splénomégalie.
- Biologique (hémogramme).
- Examen cytologique (frottis sanguin) et (myélogramme).
- Examen cytogénétique (caryotype et FISH) pour le diagnostic de la LMC.
- D'un traitement par ITK1 l'Imatinib en première ligne.

La cinétique de la maladie résiduelle a été effectuée selon les recommandations de l'ELN à 3, 6, 12, 24 mois et au-delà, par la technique de FISH avant l'année 2016, puis par la PCR automatisée GeneXpert jusqu'à confirmation :

- De la réponse moléculaire profonde RMM4 et RMM4.5. pendant 24 mois avec un traitement par l'imatinib de plus de 5 ans.
- Aucune progression vers la phase blastique au cours de l'évolution sous imatinib.
- Une bonne observance du traitement avec prise correcte de l'ITK1.

- Présence régulière aux rendez-vous

Après l'arrêt de l'imatinib en vue d'évaluer la rémission sans traitement chez les patients LMC en RMM4 et RMM4.5.

- Contrôle mensuel de la réponse hématologique.
- Contrôle mensuel de la RMM par PCR GeneXpert selon la possibilité (la disponibilité des kits et la présence du patient : période très critique la COVID 19) ou chaque 2 à 3 mois.
- Surveillance des effets secondaires de l'arrêt du traitement : syndrome de sevrage
- Reprise de l'Imatinib si perte de la RMM3 ou transcrit BCR /ABL > 0,1%.
- Si transcrit $\leq 0,1\%$: maintien de l'arrêt de l'ITK1.

Toutes les informations concernant les patients, ont été recueillies du médecin traitant à partir des dossiers médicaux, en consultation spécialisée.

VI.2 Méthodes :

VI.2 .1. Le prélèvement et comptage :

- **A partir de la moelle osseuse (ponction) :**

La ponction de moelle osseuse permet de préciser le diagnostic et le stade de la LMC, cet examen est réalisée par le médecin, il utilise un trocart spéciale pour aspirer un peu de moelle osseuse directement dans le sternum, l'os situé au milieu de la poitrine, ou dans la crête iliaque, l'os du bassin.

- **A partir du sang périphérique :**

Un prélèvement EDTA, en vue d'évaluer la réponse des patients au traitement. Ces différents prélèvements ont été soumis par la suite à :

VI.2.2. Hémogramme :

L'hémogramme est l'examen standard et clé dans le diagnostic de la LMC, il est réalisé sur sang veineux prélevée sur anticoagulant (EDTA), désignée sous le terme de FNS (Numération-Formule-Sanguine). Lors du prélèvement le tube doit être agité (8 fois) pour éviter la formation des caillots, ensuite il est envoyé pour l'analyse des éléments figurés du sang : globules blanc et plaquettes.

VI.2.3. Frottis sanguin :

C'est du sang étalé sur une lame de microscope, il est réalisé à partir d'une piqure sur le doigt après l'étalement de la goutte du sang par une autre lame, on fait la coloration MGG pour révéler certaines cellules qui sans cela seraient transparentes, donc non-visible. Le frottis est réalisé pour le diagnostic de la LMC, donc l'observation des cellules du sang : éosinophile, neutrophile, basophiles...

VI.2.4. Medullogramme :

C'est la ponction de moelle osseuse, qui a pour but l'étude quantitative et qualitative des différentes cellules de la moelle osseuse au microscope optique dont le but d'apercevoir les cellules de la lignée myéloïde et de préciser la phase de la LMC, ainsi que pour réaliser la cytogénétique conventionnelle le caryotype et moléculaire la FISH.

VI.2.5. Prélèvement pour la cytogénétique :

- **La culture cellulaire (pour le diagnostic par caryotype ou par FISH de la LMC) :**

Après la réalisation d'un prélèvement de moelle (ponction) le sang est soumis dans un tube conique, ensuite il est envoyé à l'unité de cytogénétique, cet échantillon va passer en plusieurs étapes :

1. On filtre le sang dans un épindorf à l'aide d'un tamis pour éliminer tous les débris de l'os, ensuite le sang filtré est destiné au laboratoire de biochimie pour la réalisation du FNS.
2. On vérifie le taux des globules blancs sur la formule de numération sanguine s'il est riche on fait une dilution, et s'il est pauvre on met tous le contenu du sang de l'épindorf compléter à 10 ml de RPMI. Les prélèvements effectués à partir de la moelle osseuse ont été mélangés : Avec 10cc de RPMI et mis dans des flasques en position horizontale, bouchon dévissé a 1/4 de tour puis placés dans une étuve à 37°C pendant 24 h.

Synchronisation : synchro A et B ainsi que la colchicine ont été ajoutés aux préparations des différents flasques, comme suit :

- 100 microlitre du synchro A ajoutés sous hotte le jour même à 16h.
- 100 microlitre du synchro B et 60 microlitres de colchicine ajoutés le lendemain à 8h.

Une demi-heure après l'ajout de la colchicine, on a procédé à la sortie des différentes cultures.

Au bout de 24h de mise en culture, le contenu des différents flasques a été versé dans des tubes coniques après avoir inscrit les renseignements des patients.

Une centrifugation a été ensuite effectuée pendant 8 minutes à 1300 tours.

Après avoir éliminé le surnageant, 1cc de KCL a été ajoutée aux contenus des tubes coniques.

Un choc hypotonique a été déclenché à deux reprises : au début avec un 1 cc de KCL puis par la complétion du volume avec le KCL jusqu'à 12 CC.

Après la mise en étuve sèche à 37°C pendant 25 minutes des contenus des différents tubes coniques, une préfixation a été entamée suivie de deux fixations successives.

La préfixation consiste en l'ajout de 01 cc de fixateur contenant 1/3 d'acide acétique et 2/3 de méthanol suivi d'une centrifugation à 1300 tours pendant 8 minutes avec élimination des 2/3 du surnageant et la préservation du 1/3 du culot.

Quant à la phase de fixation, elle comportait l'ajout de 01 cc en poursuivant l'écoulement jusqu'à atteindre un volume de 08 cc.

Ensuite, une centrifugation à 1300 tours pendant 8 minutes a été effectuée suivie de l'élimination de 2/3 du surnageant. Celui-ci est enfin conservé à +4°C à condition qu'il soit clair.

- **Le caryotype :**

En premier lieu, les tubes doivent être récupérés du frigo de + 4°C pour un étalement

Parallèlement, un tampon de phosphate mono basique (NaH_2PO_4) a été préparé puis chauffé à 87°C dans un bain marie réglé à 90°.

D'autres part, des lames portant l'identifiant du patient, le type et la date du prélèvement ont été exposées à la vapeur du bain marie avant l'étalement des prélèvements (2 gouttes/lame) puis séchés à température ambiante. Plonger les lames dans de l'eau distillée stérile pendant 05 minutes à température ambiante.

Cette phase a été relayée par une étape de dénaturation qui consistait à faire plonger les différentes lames dans le bain marie (temps variable en 12 à 13min 40).

Enfin, une coloration au Giemsa des lames a été réalisée pendant 5min. Ces lames seront prêtes pour une observation microscope après leur lavage et séchage à l'air libre.

- **Pour l'observation du caryotype au microscope :**

On rajoute l'huile d'immersion sur les lames avant la lecture au microscope. Il est nécessaire d'analyser au moins 20 mitoses. Ainsi les chromosomes sont classés en fonctions de leur taille décroissante, leur indice centromérique et les bandes.

- **La FISH**

L'étalement des différents prélèvements s'effectue dans des conditions bien déterminées à savoir :
Température entre 20 et 25° et humidification entre 45 et 55%. Les prélèvements composés de 2/3 de fixateur pour un 1/3 de culot. Après avoir humidifié les lames à la vapeur du bain marie, l'étalement a été réalisé en déposant deux gouttes de culot superposées au centre des lames qu'on étuve à Sec à 37° toute une nuit après les avoir séchés à l'air libre. Par la suite, un prétraitement des lames a été réalisé. Les lames ont été immergées dans des bacs contenant 2SSC (20 cc SSC + 1000 ml d'eau distillée : dilution 1/10ème) puis mises à l'abri de la lumière pendant 02 minutes avant la mise en place des sondes. Le bac a ensuite été placé successivement dans des fixateurs (éthanol) à 70%, 85% et 100% pendant 2 min pour chaque bain, à l'abri de la lumière. Enfin, après la mise en place des sondes et l'étalement des prélèvements (1 goutte / lame), les lames recouvertes par les lamelles ont été d'abord placées dans un thermobrite à 75°c pendant 2 minutes (dénaturation) puis à 37°c pendant 16 Heures (hybridation).

Après la phase de prétraitement et en vue d'effectuer les différents lavages, trois sortes de Réactifs à savoir :

Les réactifs IGEPAL 0.1% et 0.3% ainsi que le Tween ont été préparés et conservés dans 03 flacons stériles hermétiquement fermés portant la date de préparation et mis à température ambiante ou au frigo à +4°C pendant 24 h. les lames des patients sont déposées dans IGEPAL 0,1% pendant 3 min puis dans IGEPAL 0,3% pendant 2 min et enfin on les met dans le TWEEN pendant 30s .

Lecture de FISH :

Elle se fait à l'aide d'un microscope à fluorescence (Meta system). Pour chaque zone de lecture, on observe entre 20 à 30 mitoses (tout dépend de la richesse des cellules).

Les lames sont analysables pendant plusieurs mois voire des années si elles sont conservées à l'obscurité et au-dessous de la température ambiante à (4°C)

VI.2 .6. La biologie moléculaire par GeneXpert PCR Ultra pour le suivi moléculaire des

Patients sous traitement :

Le test Xpert BCR-ABL Ultra a été adopté pour la surveillance des taux de transcrits d'ARNm BCR-ABL chez les patients diagnostiqués de LMC Mbc_r/abl. Il s'agit d'une PCR en temps réel par transcription inverse, automatisée et quantitative. Ce test vise à déterminer la quantité de transcrits BCR-ABL sous la forme d'un rapport de BCR-ABL/ABL.

Le test est effectué sur les GeneXpert System de Cepheid. Les GeneXpert systèmes automatisent et intègrent la purification des échantillons, l'amplification des acides nucléiques et la détection de la séquence cible dans des échantillons simples ou complexes en utilisant des tests RT-PCR en temps réel et PCR nichée.

Le test Gene Xpert BCR-ABL Ultra inclut les réactifs pour détecter les gènes de fusion BCRABL résultant de deux points de rupture majeurs, les translocations e13a2 (b2a2) et e14a2

(b3a2), et le transcrit ABL en tant que contrôle endogène dans les échantillons de sang périphérique.

Le protocole adopté dans l'application de ce test, s'opère en plusieurs étapes. Au départ, 100 microlitres de protéinase K ont été mis dans un flacon de 50 ml suivis par l'ajout de 4 ml de sang total après avoir inversé le tube de sang à EDTA dix fois.

En outre, une agitation (Vortex) de l'ensemble a été appliquée suivie par une incubation d'une minute à température ambiante. De plus, l'addition de 2,5 ml de réactif de lyse a été accompagnée par deux agitations successives de 10 secondes avec un temps d'incubation de 5 min chacune. D'autre part, 1ml du lysat a été transféré dans un nouveau flacon de 50 ml et additionné de 1,5 ml de tampon de lyse. Après 10 min d'incubation à température ambiante, une agitation de 10 secondes a été réalisée suivie d'une autre de 19 secondes après l'ajout de 2 ml d'éthanol. Un tampon de lavage ainsi que la totalité du lysat ont été ajoutés respectivement dans les ouvertures 1 et S.

Enfin, la cartouche a été mise en place dans l'appareil après avoir scanné son code barre.



Figure 20 : Les étapes de la préparation de l'échantillon (photo originale 2020)

La photo de l'APPAREIL

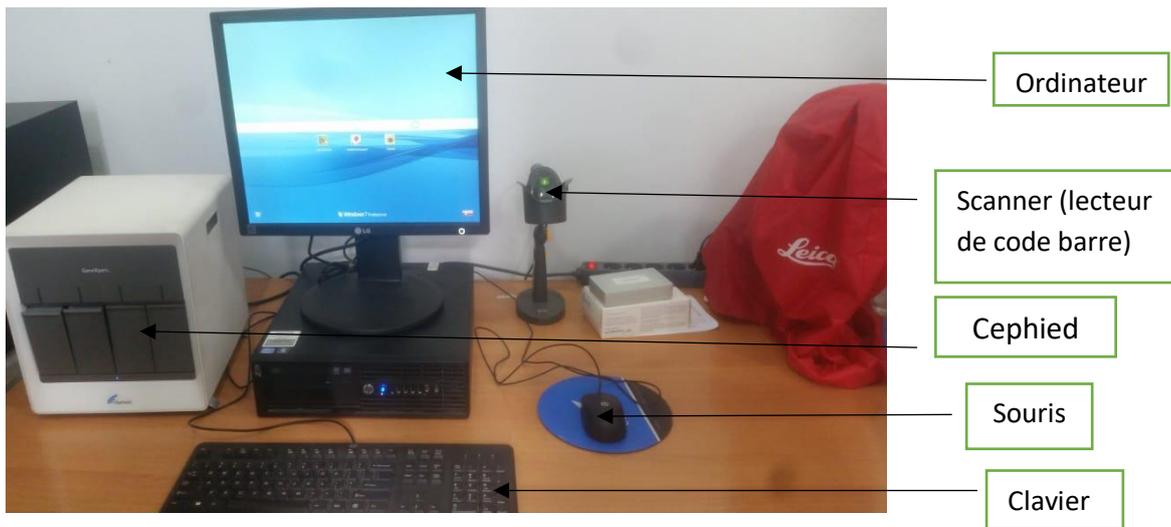
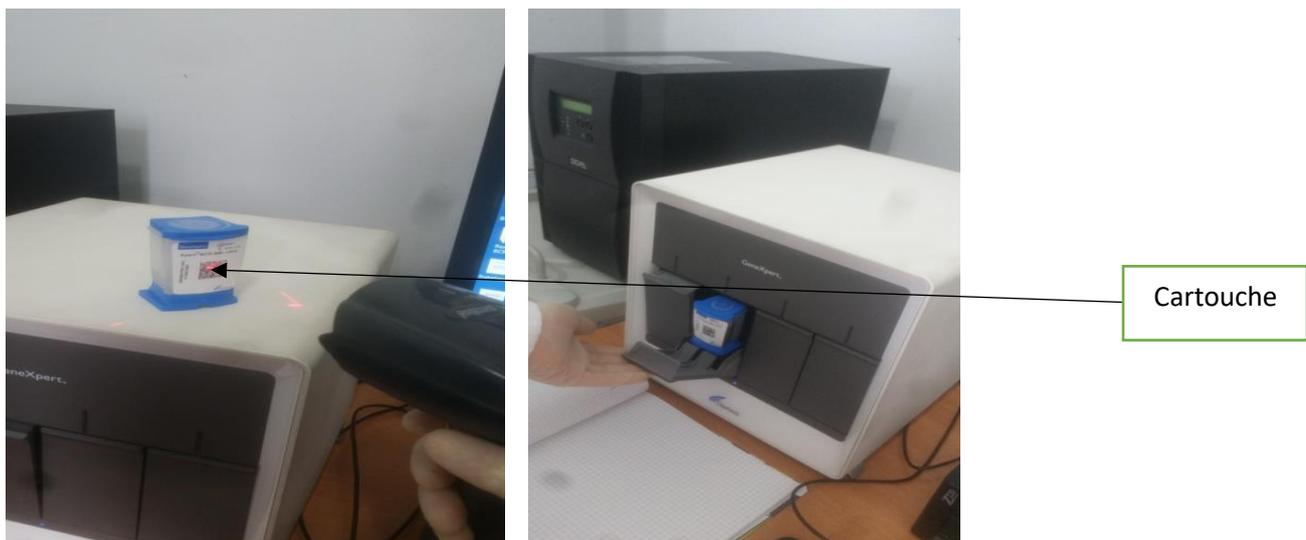


Figure 21 : Image de l'appareil Cephied et son équipement (scanner, ordinateur, clavier, cartouche) (photo original 2020)



VI. 3. Analyse statistique :

L'analyse des données est effectuée en utilisant le logiciel l'Excel XP 2013. La saisie des textes et des tableaux a été faite sur le logiciel Word XP et celle des graphiques sur le logiciel Excel XP version 2013.

VII. Résultats :

VII.1. Au diagnostic (l'Age) :

Notre série a comporté 20 patients dont l'âge moyen au diagnostic était de 45 ans avec des extrêmes allant de (20- 62 ans).

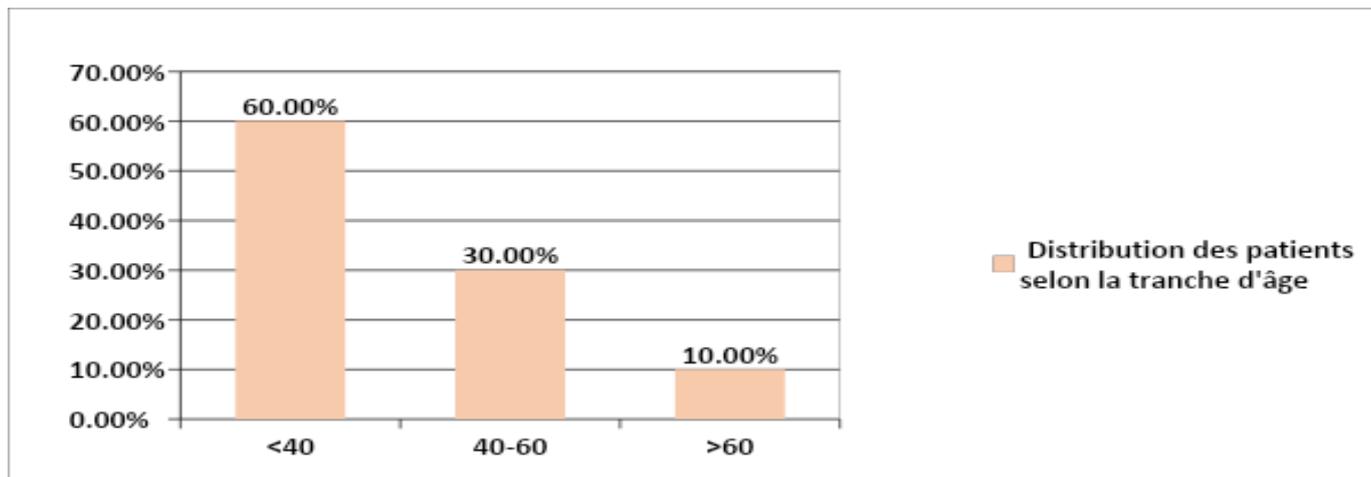


Figure 22 : Répartition des patients LMC selon la tranche d'âge.

La tranche d'âge la plus touchée était entre 30 ans et 60 ans, l'âge est un facteur de risque dans la leucémie myéloïde chronique.

- **Le sexe ratio :**

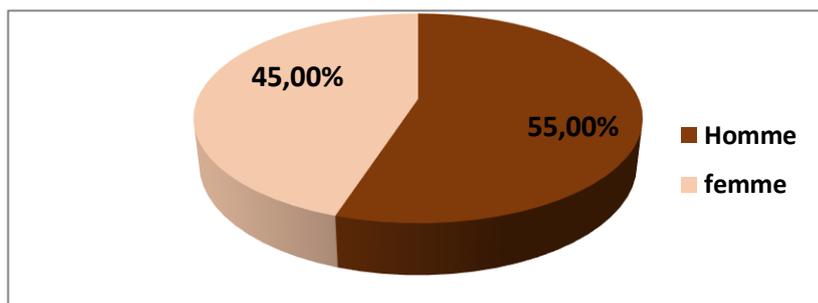


Figure 23 : Répartition des patients selon le sexe

Une prédominance masculine a été observée, avec un sexe ratio de 1,2 dont 11 hommes et 9 femmes

- **L'origine des patients :**

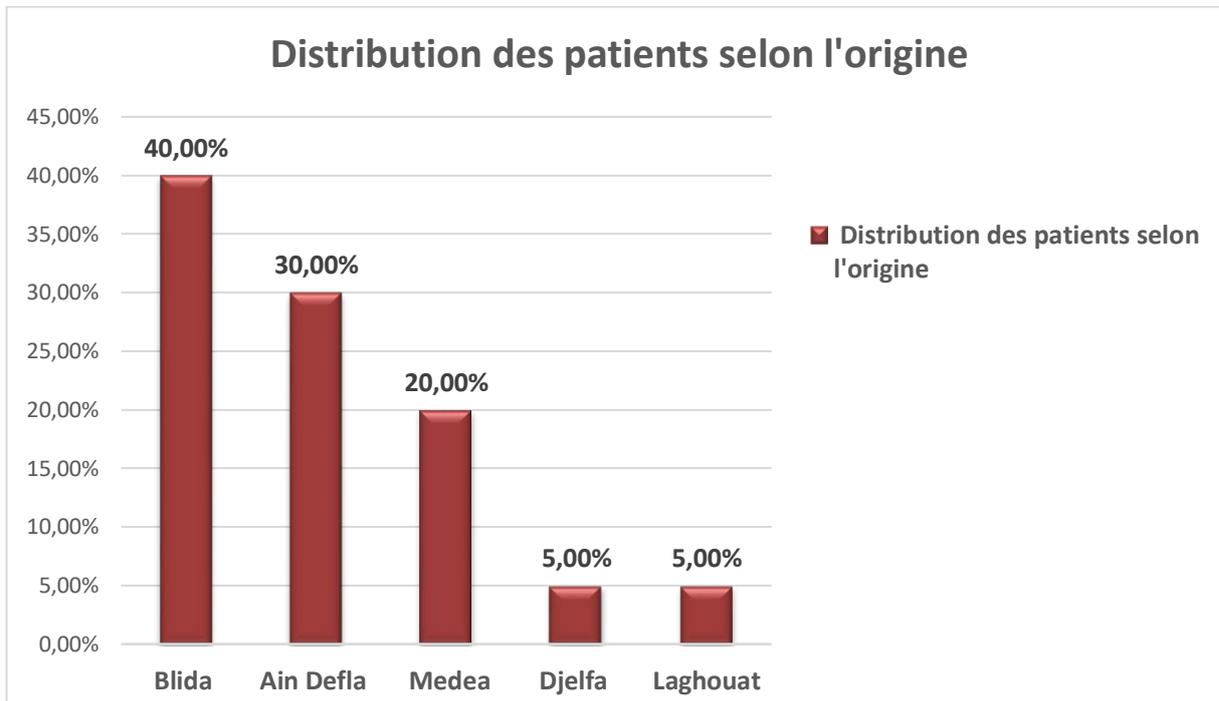


Figure 24 : Distribution des patients selon l'origine des patients

L'origine de nos patients provient de la wilaya de Blida par 9 patients suivie par les wilayas limitrophes, Ain Defla par 6 patients, Médéa par 4 patients et Djelfa, Laghouat par un patient chacune

- **Profession des patients :**

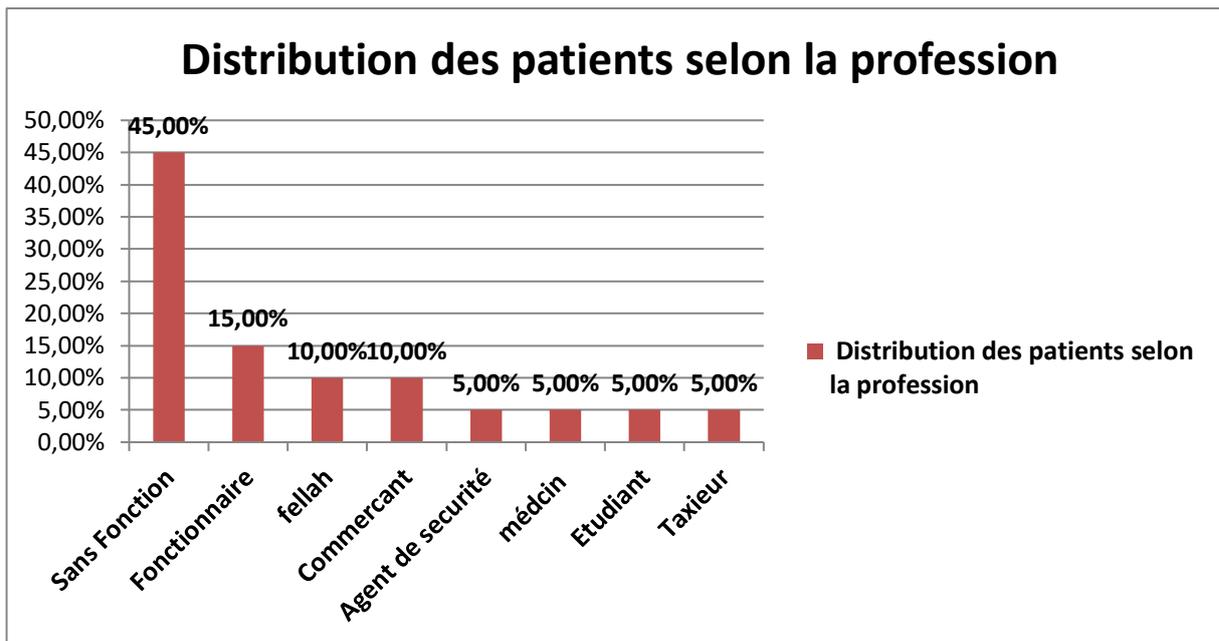


Figure 25 : Distribution des patients selon la profession

VII.1.1 Le diagnostic cytogénétique :

Les 20 patients ont bénéficié d'une cytogénétique conventionnelle par caryotype ou moléculaire par FISH pour la confirmation du diagnostic de la LMC : par la présence du chromosome Philadelphie ou t(9,22) (q34 ; q11) simple chez 18 patients (90 %) et associé à un variant chez un patient et une délétion du dérivé 9 chez un autre

Une biologie moléculaire par PCR en temps réel chez 2 patients ayant mis en évidence le transcrite type M bcr/abl (b2a2)

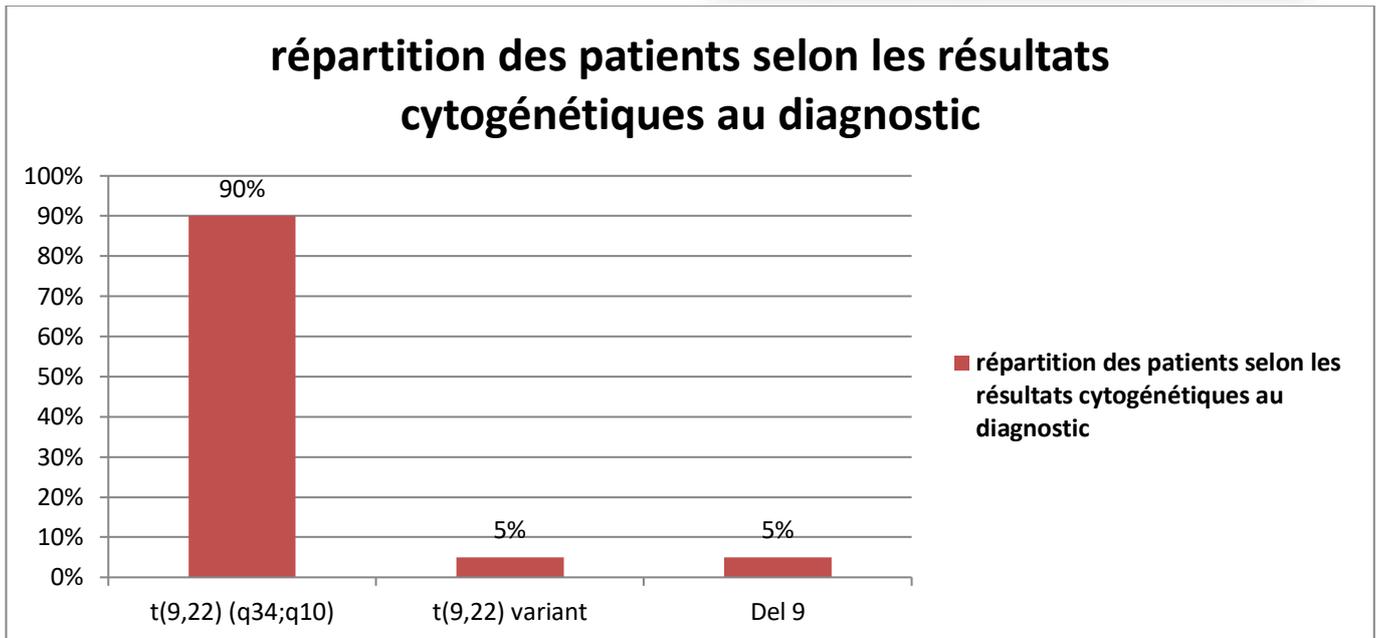


Figure 26 : répartition des patients selon les résultats cytogénétiques au diagnostic

VII.1.2 Les Scores Pronostiques :

Nous avons classé nos patients selon les 3 scores pronostiques

- **Score de Sokal :**

Nos patients ont été classés selon le score de Sokal qui nous a permis de les répartir en 3 groupes :

- ↪ Un groupe à faible risque, composé de 7 patients (35%)
- ↪ Un groupe à risque intermédiaire, de 10 patients (50%)
- ↪ Un groupe à haut risque, de 3 patients (15%)

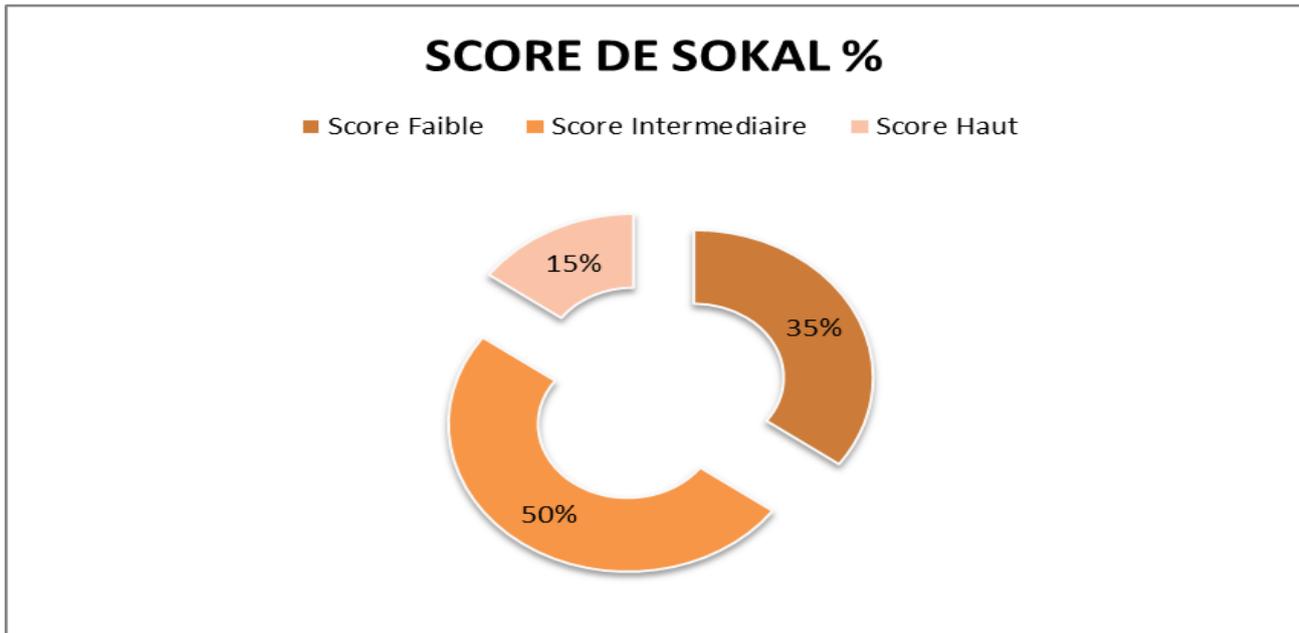


Figure 27: Division des patients selon le score de Sokal.

- **Le Score d'EUTOS**

Nos patients ont été classés selon le score d'EUTOS qui nous a permis de les répartir en 2 groupes :

- ↳ Un groupe à faible risque, composé de 18 patients (90%).
- ↳ Un groupe à haut risque, de 2 patients (10%).

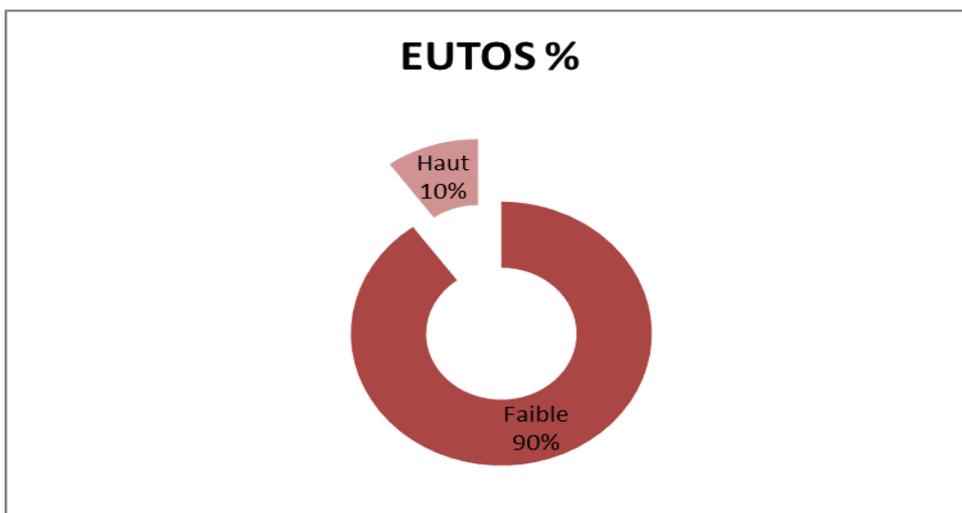


Figure 28 : Division des patients selon le score EUTOS.

- **Le score d'ELTS :**

Nos patients ont été classés selon le score d'ELTS qui nous a permis de les répartir en 3 groupes :

- Un groupe à faible risque, composé de 9 patients (45%)
- Un groupe à risque intermédiaire, de 7 patients (35%)
- Un groupe à haut risque, de 4 patients (20%)

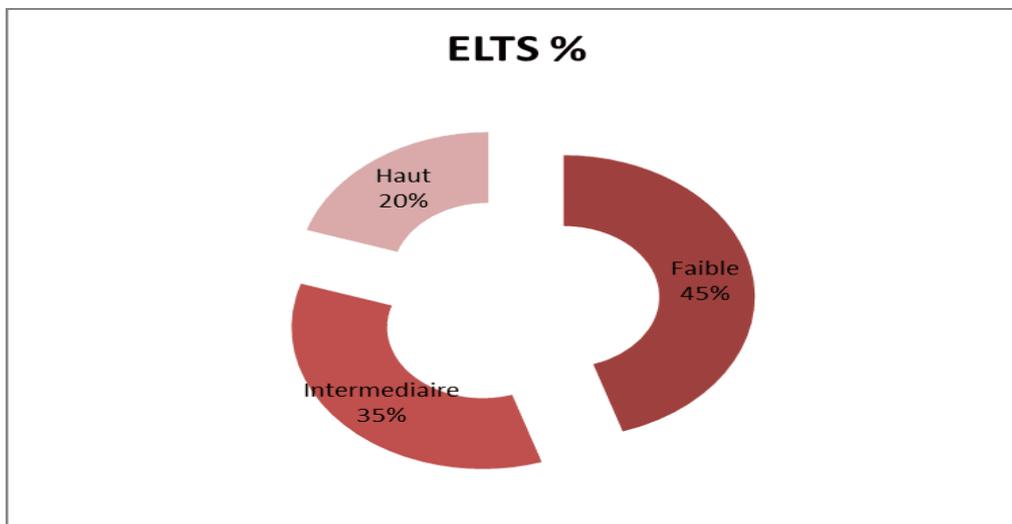


Figure 29: Division des patients selon le score d'ELTS

Selon les 3 scores pronostiques au diagnostic, 80 à 90% de nos patient sont de faible risque et risque intermédiaire, alors que uniquement 10 à 20% sont de risque élevé

VII.1.3 Phases de la maladie :

Les 20 patients de notre cohorte, ont été diagnostiqués en phase chronique initialement

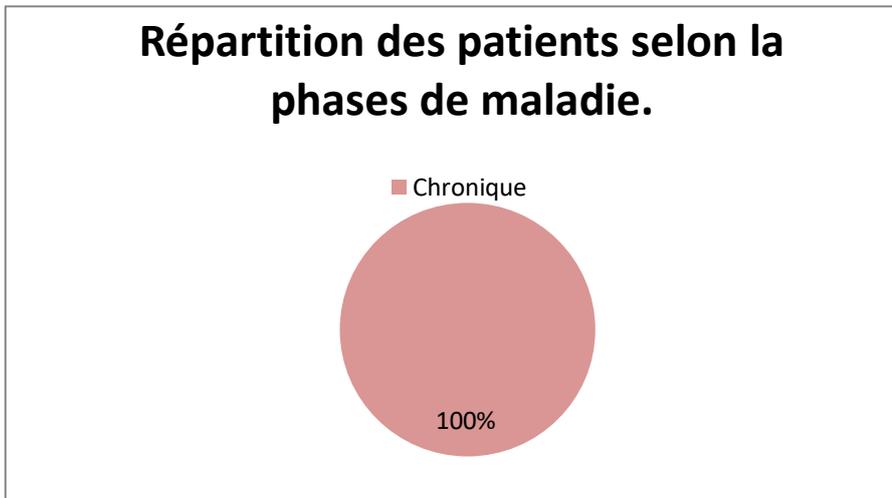


Figure 30 : Répartition des patients selon la phase de la maladie.

VII.2. Traitement :

Tous les patients de l'étude LMC -PC ont reçu de l'Imatinib à la dose de 400 mg/jour en une seule prise comme thérapie ciblée de première ligne après l'Hydroxyurée depuis plus de 05 ans

Le premier depuis juin 2007 et le dernier depuis octobre 2013 /

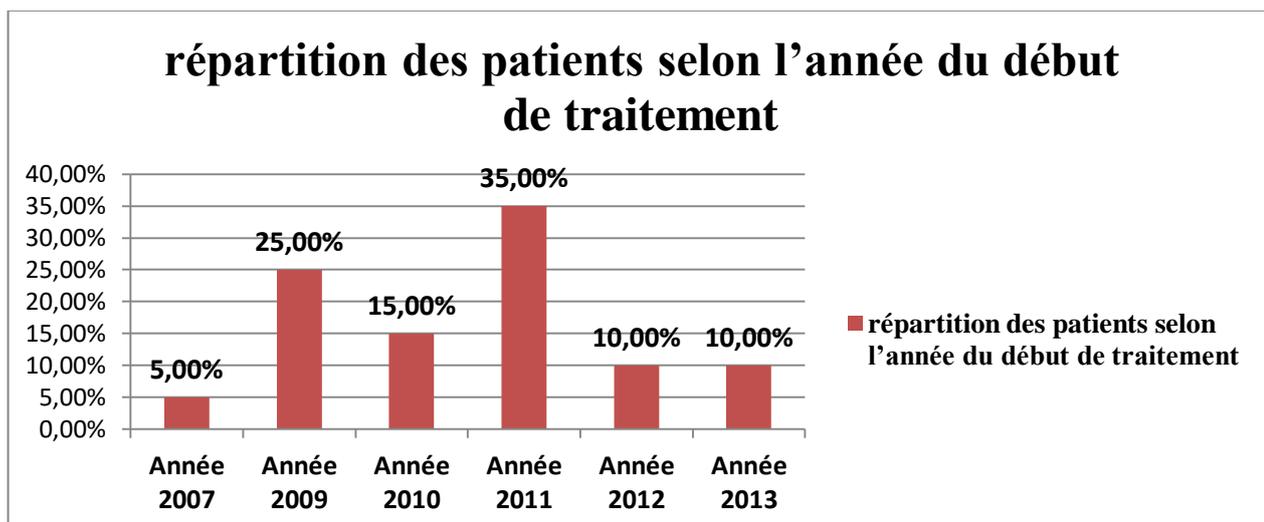


Figure 31 : Répartition des patients selon l'année du début de traitement

VII.2.1 Le suivi du traitement par l'imatinib :

Le suivi du traitement ou le suivi de la maladie résiduelle (MRD) a été réalisé chez tous nos patients initialement par la cytogénétique selon les recommandations de l'ELN 2009 et 2013, puis par RQ-PCR, grâce à un automate Gene Expert ultra(Cephéid) qui met en évidence le Mbc^r/abl avec une sensibilité maximale de 0,0032% (RM4-5) depuis 2016.

VII.2.2 La réponse au traitement de première ligne :

Le suivi des patients sous ITK outre l'évaluation clinique et hématologique repose sur les analyses cytogénétiques et moléculaires. Les experts de l'ELN recommandent une analyse moléculaire tous les 3 mois jusqu'à l'obtention d'une RMM en pratique à compter du diagnostic on a réalisé une analyse moléculaire et cytogénétique jusqu'à réponse cytogénétique complète, moléculaires jusqu'à la réponse moléculaires pour évaluer la réponse au traitement dans notre série, nous avons analysé la réponse hématologique complète en première intention puis la réponse cytogénétique complète par FISH et moléculaire par la RQ-PCR automatisée Gene Expert ultra .Nos résultats sont comme suit.

VII.2.3 La réponse à 3 mois :

Les 20 patients ont été évalués sur le plan hématologique : Une réponse hématologique complète a été obtenue chez les 100% des patients (soit les 20 patients).

13/20 patients ont été évalués à 3 mois de l'Imatinib sur le plan cytogénétique : une réponse Cytogénétique majeure et optimale chez 92,3%

Durée du traitement / Mois	La réponse Hématologique Complete (RHC)		Réponse cytogénétique		Evaluation de la réponse à l'imatinib selon ELN 2009 ET 2013
	Nbre de patients	%	Nbre de patients	%	
3 mois	20	100%	6 RCC	46 %	PH+= 0%
			6 RCP	46%	PH+ = 3 - 16%
			1 RC Min	7,6%	PH+.= 50%
			7 Non évalués	35%	

Tableau VI : Evaluation de la réponse à l'imatinib à 3 mois

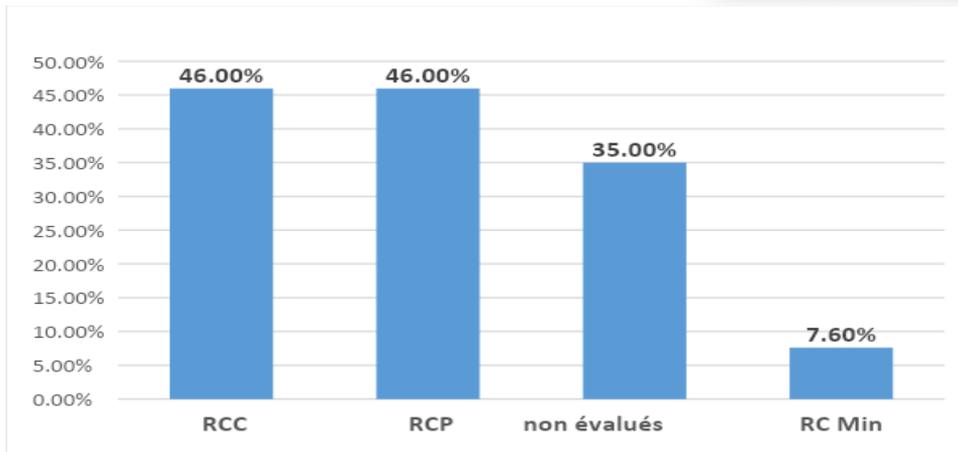


Figure 32 : Evaluation de la réponse à l'imatinib à 3 mois.

VII.2.4 Réponse à 6 mois :

12/20 patients ont été évalués à 6 mois de traitement : La réponse hématologique complète a été maintenue chez les 20 patients

La réponse cytogénétique complète chez 66,6% et 16,6% de réponse majeure

Durée du traitement / Mois	La réponse Hématologique Complete (RHC)		Réponse cytogénétique		Evaluation de la réponse à l'imatinib selon ELN 2009 ET 2013
	Nbre de patients	%	Nbre de patients	%	
6 mois	20 RHC	100%	8 RCC	66,6%	PH+ = 0%
			2 RCP	16,6%	PH+ = 3 - 5%
			2 RCy Min	16,6%	PH+= 50 -63%
			8 non évalués	40%	

Tableau VII : Evaluation de la réponse à l'imatinib à 6 mois

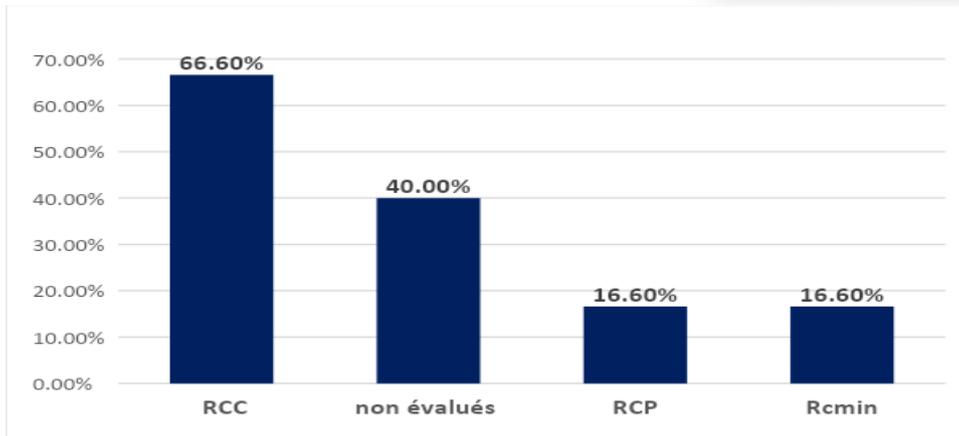


Figure 33 : Evaluation de la réponse à l'imatinib à 6 mois

VII.2.5 Réponse à 12 mois :

Les 20/20 patients ont été évalués à 12 mois de traitement : une réponse cytogénétique complète chez 80 % avec une RMM3

Durée du traitement / Mois	La réponse Hématologique Complete (RHC)		Réponse cytogénétique		Evaluation de la réponse à l'imatinib selon ELN 2009 ET 2013
	Nbre de patients	%	Nbre de patients	%	
12 mois	RHC	100%	16 RCC	80%	PH+ = 0%
			4 RCP	15%	PH+ = 3 – 4%
			1 RMM	5%	BCR-ABL = 0,1%

Tableau VIII: Evaluation de la réponse à l'imatinib à 12 mois

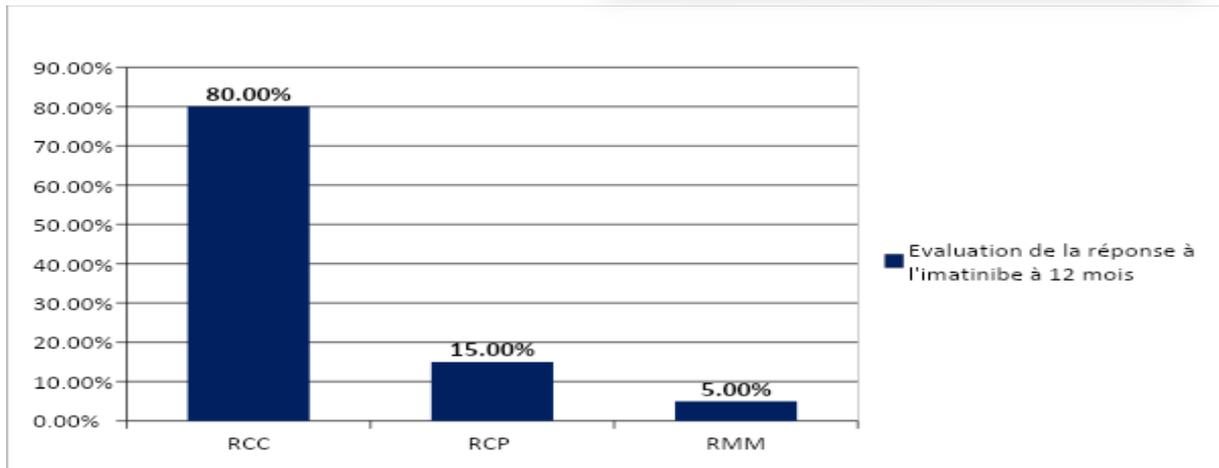


Figure 34 : Evaluation de la réponse à l'imatinib à 12 mois

VII.2.6 Réponse à 18 mois :

20/20 patients sont évalués à 18 mois de l'Imatinib : une réponse cytogénétique complète chez les 100% avec une RMM3 chez 2 patients

Durée du traitement / Mois	La réponse Hématologique Complete (RHC)		Réponse cytogénétique		Evaluation de la réponse à l'imatinib selon ELN 2009 ET 2013
	Nbre de patients	%	Nbre de patients	%	
18 mois	RH+	100%	20 RCC	100%	PH+ = 0%
			RCC		
			2 RMM3	15%	BCR-ABL 0,1%

Tableau IX : Evaluation de la réponse à l'imatinib à 18 mois

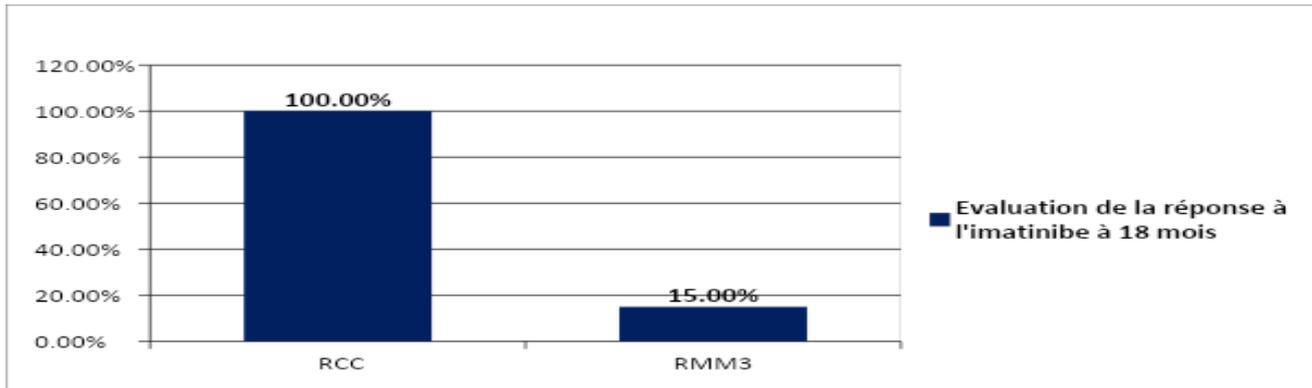


Figure 35: Evaluation de la réponse à l'imatinib à 18 mois

	Réponse optimale		Alerte		Echec
	Nbre de pts	%	Nbre de pts	%	
3 mois	RHC = 20 pts	100%			0%
	RCyC = 6	(45%)			
	RCyP = 6	(45%)			
6mois	RCyC = 6	(66,6%)			0%
	RCyC = 2	(16, 6%)			
	RMM3 = 0 pts				
12 mois	RCyC = 16 pts.	(80%)	RCP = 4 pts	(15%)	0%
	RMM3 = 1 pt.	(5%)			
	RMM4 = 0 pts				
	RMM4.5				
18 mois	RCyC = 20 pts	(100%)	0%		0%
	RMM3= 2pts	(10%)			
	RMM4 = 0 pts				
24 mois	RMM3		0%		0%
	RMM4				
	RMM4.5				
AU DELA	RMM4 = 7 pts		0%		0%
	RMM4.5 = 13 pts				

Tableau X : Evaluation de la réponse à l'imatinib selon l'ELN

Dans notre série, une réponse optimale est obtenue sous Imatinib, Dans 92,3% à 3 mois, dans 83% à 6 mois, dans 80% à 12 mois, dans 100% à 18 mois.

L'Imatinib était très efficace comme thérapie ciblée en première ligne chez notre cohorte

Les 100% de nos patients ont achevé La RMM après 5 ans de l'Imatinib.

La RM Profonde achevée en moyenne à 70 mois, une RMM4 chez 7 patients (35%) et une RMM4.5 chez 13 patients (65%).

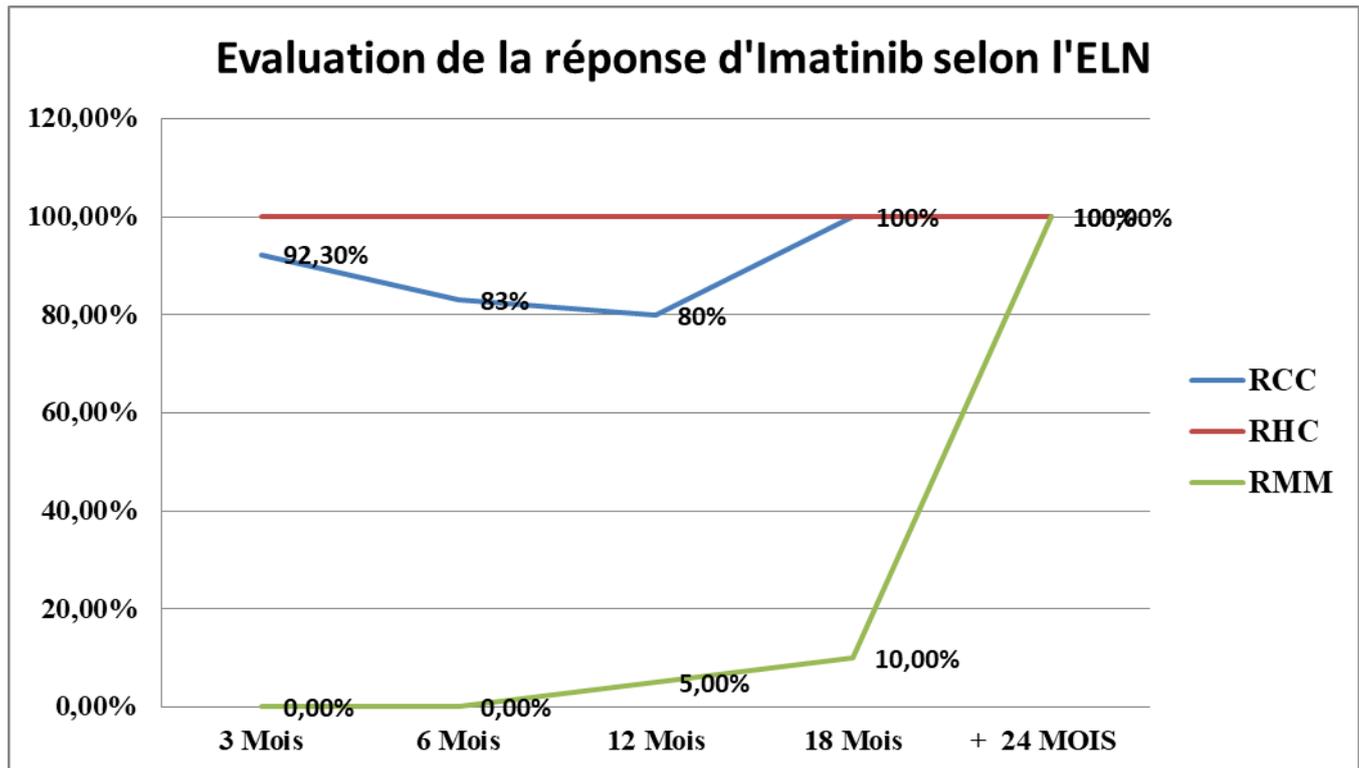


Figure 36 : Evaluation de la réponse à l'imatinib selon l'ELN.

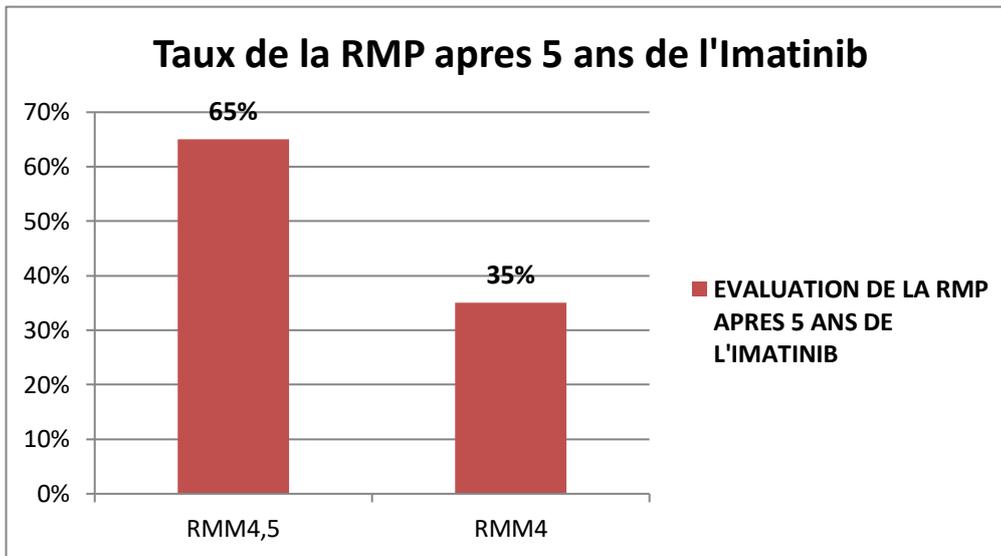


Figure 37 : Evaluation de la RMP après 5 ans de l'imatinib.

VII.2.7 L'arrêt du traitement :

Nous avons évalué cette cohorte de patients LMC –PC en vue d'un arrêt de l'Imatinib pour une rémission sans traitement (RST) selon les recommandations de la NCCN , une fois la RMP achevée avec une prise de l'ITK pendant plus de 5 ans et une RMP confirmée pendant 24 mois

La durée de la prise de l'Imatinib : tous les patients ont été imprégnés par l'Imatinib de plus de 5 ans, une médiane de suivi de 8,5 ans (6 – 12 ans), sans arrêt, avec une bonne observance, et aucune progression durant l'évolution

La confirmation de la RMP pendant 24 mois chez tous les patients, ou la RMM4 était maintenue chez 2 patients (10%), alors que la RMM4.5 chez 18 patients (90%) avec amélioration de deux RMM4

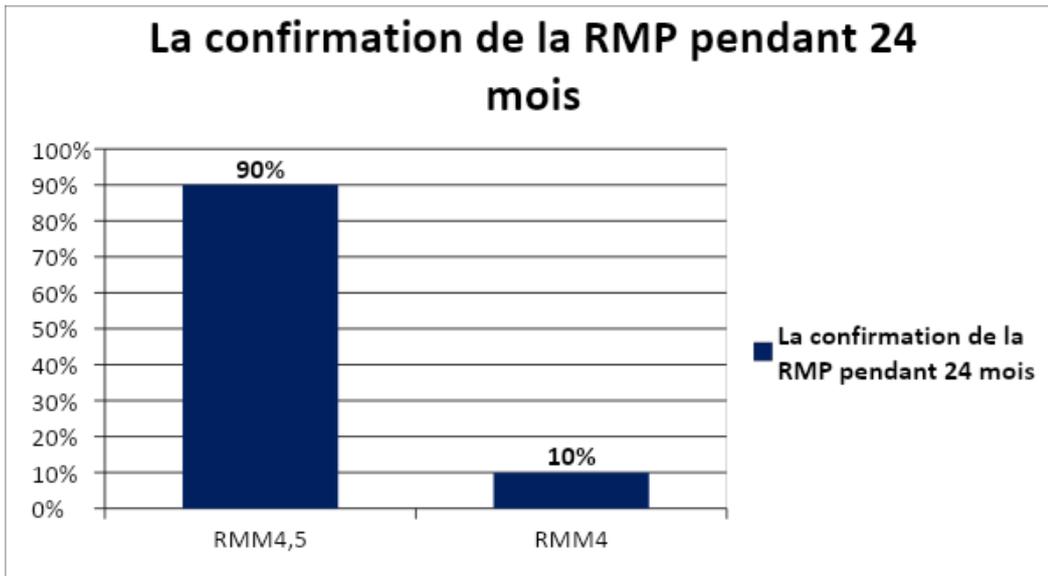


Figure 38 : La confirmation de la RMP pendant 24 mois

Après confirmation de la RMP, les 20 patients ont bénéficié de l'arrêt du traitement, la rémission sans traitement (RST) avec les modalités de surveillance mensuelle la première année, le risque de perte de la RMP avec reprise du traitement à la perte de la RMM3 et le syndrome de sevrage

Des analyses moléculaires fréquentes et hautement sensibles sont essentielles pour assurer la sécurité des patients qui tentent d'obtenir une RST, en particulier pendant la première année. Dans ses lignes directrices, le NCCN recommande un suivi toutes les 4 semaines par PCR pendant la première année de la tentative de RST, toutes les 6 semaines la deuxième année et toutes les 12 semaines par la suite, un suivi de l'arrêt de l'ITK et pendant la réinstauration du traitement. Nous avons suivi les mêmes recommandations de toutes les séries d'études sur l'arrêt de l'ITK, voire l'étude française STIM et l'étude Européenne EUROSKI.

VII.2.8 Evaluation de la rémission sans traitement (RST) (TFR) : Tous les patients ont été contrôlés selon les recommandations de l'arrêt du traitement

Evaluation de la TFR	Réponse hématologique	Réponse moléculaire
1 Mois Perte de la RMP = 25% Aucune reprise de l'imatinib	RHC = 20 patients	RMM4 = 6 pts. (30%) RMM 4.5 = 9 pts (45%) RMM3 = 5 pts (25%)
		Perte de la RMM4 = 1 pt
		Perte de la RMM4.5 = 9 pts
	TOTAL	20
2 Mois Perte de la RMP = 30% Et perte de la RMM3 = 25% Aucune reprise de l'imatinib	RHC = 100%	RCC = 6 pts (30%) RMM4 = 5 pts (25%) RMM4, 5 = 9 pts (45%)
		Perte de la RMM4 = 1 pt Perte de la RMM3 = 5 pts
	TOTAL	20
	RHC = 100%	RCC = 5 pts RMM3 = 2 pts RMM4 = 6 pts RMM4,5 = 7 pts
		Perte de la RMM4.5 = 2 pts Perte de la RCC = 1 pt
	TOTAL	20
4 Mois Perte de la RMP = 8 pts Reprise chez 5 pts		RCC = 2 pts RMM3 = 1 pt RMM4 = 5 pts RMM4.5 = 7 pts
		Perte de la RMM4 = 1 pt Perte de la RMM3 = 1 pt Perte de la RCC = 1 pt
	TOTAL	16
5 Mois Perte de la RMP = 8 pts (40%) Reprise de l'Imatinib = 7 pts	RHC = 100%	RCC = 0 pt RMM3 = 1 pt RMM4 = 5 pts RMM4.5 = 7 pts
		Perte de la RCC = 2 pts
	TOTAL	15
6 Mois Perte de la RMM = 8 pts Reprise de l'Imatinib = 8 pts (40%)	RHC = 19 pts (95%)	RCC = 0 pts RMM3 = 0 pts RMM4 = 5 pts RMM4.5 = 7 pts
		Perte de la RHC = 1 pt
	TOTAL	13

Tableau XI : Résultats du suivi de la rémission sans traitement (RST) (TFR) .

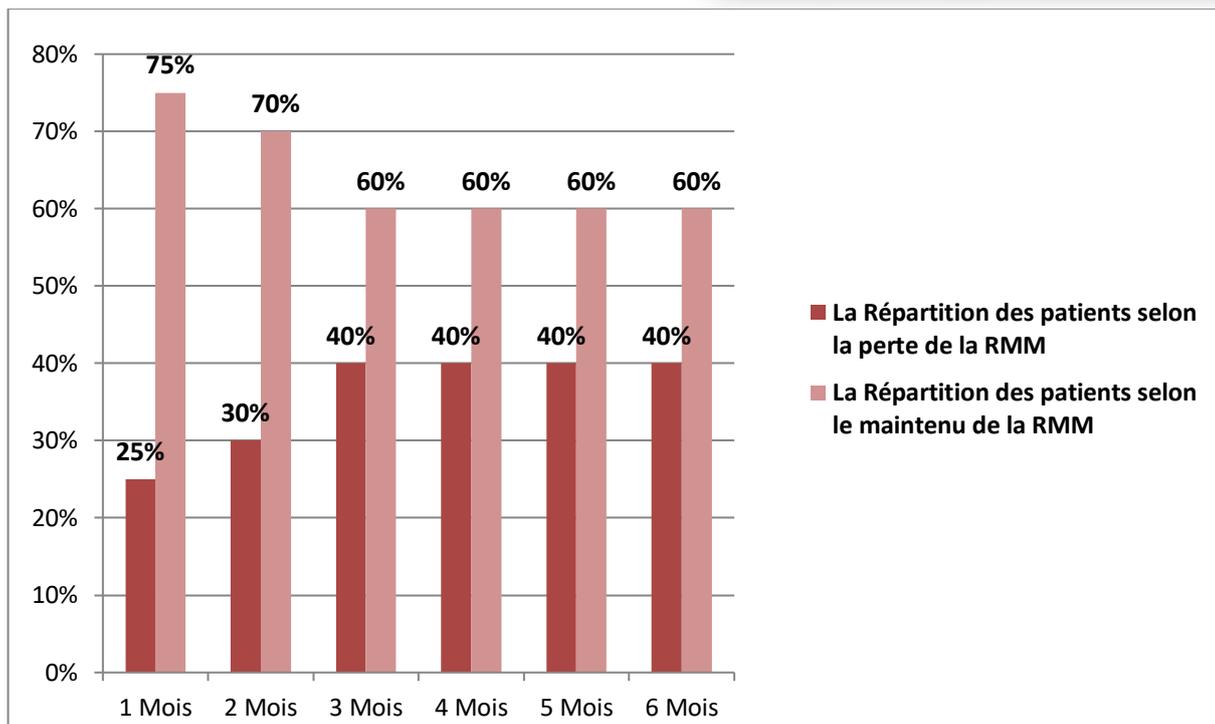


Figure 39 : La répartition des patients selon la perte /ou maintenu de la RMM

La rémission hématologique complète maintenue chez 19 patients (95%)

La RMP perdu chez 40 %, 25 % à 1 mois, 30 % à 2 mois et 40 % à 3 mois

La RMM perdu chez 40 % et une perte de la RHC, 25 % à 2 mois, 40 % à 6 mois et ont donc repris le traitement par l'ITK (Imatinib)

La plupart des récurrences sont intervenues très rapidement, au cours des 6 premiers mois (8/20).

La durée médiane sans traitement pour ces patients est de 3,8 mois, parmi lesquels 4 l'ont perdu après 3 mois sans traitement, 2 après 4 mois, un après 5 mois et un après 6 mois

12 patients (60%) sont restés en RMP et sans traitement pendant en moyenne 7 mois après l'arrêt de l'ITK (5 - 9)

La répartition des patients selon le maintien de la RST ou la le rechute

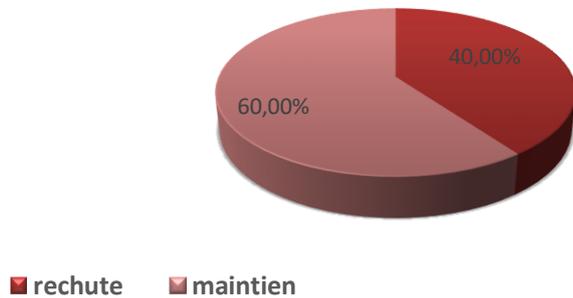


Figure 40 : La répartition des patients selon le maintien ou la rechute de la RST

- **Durée médiane de la RST (TFR) chez les patients ayant perdu la RMM**

Duré de TFR	Patients	%
Ayant perdu la RMM	8/20	40
3 mois	4	50
4 mois	2	25
5 mois	1	12,5
6 mois	1	12,5

Duré de TFR	Patients	%
Sans traitement	12 /20	60
5 mois	3	25
6 mois	4	33,3
7mois	2	16,6
9 mois	3	25

Tableau XII : résultat des patients selon la durée de la RST

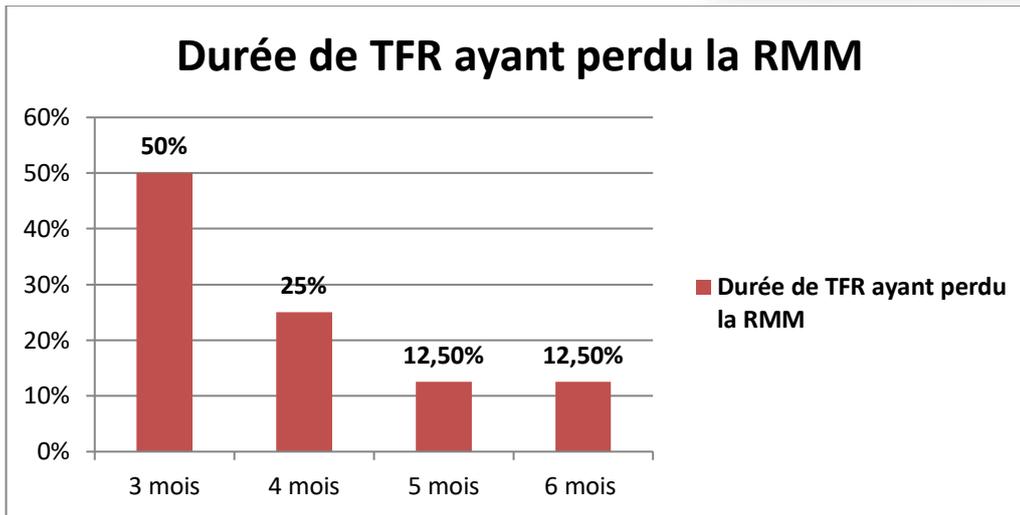


Figure 41 : résultat des patients selon la durée de la RST (Duré de TFR Ayant perdu la RMM)

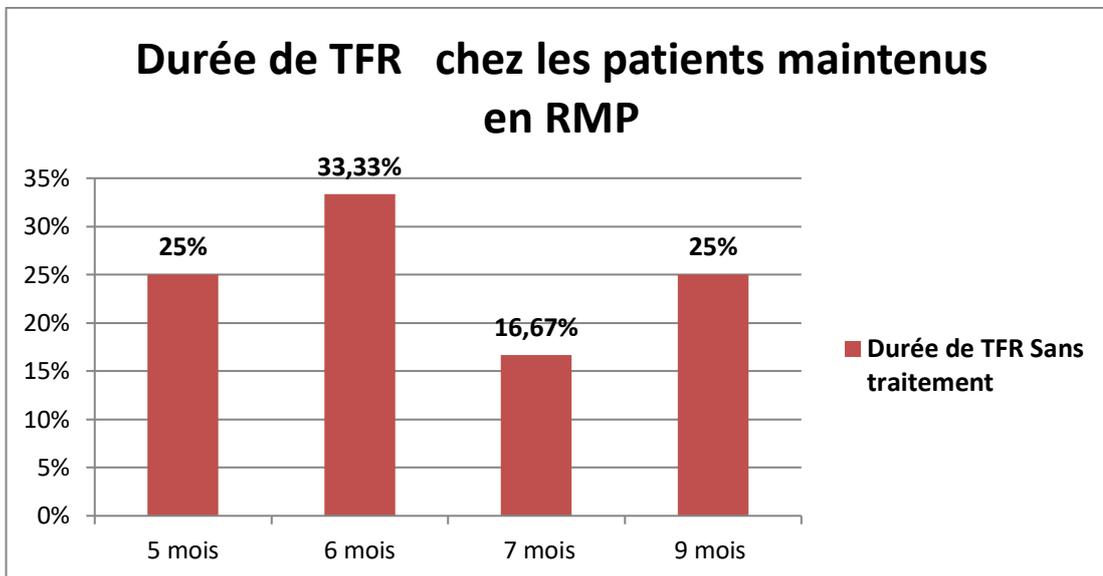


Figure 42 : résultat des patients selon la durée de la RST (Duré de TFR Sans traitement)

- **Evaluation après reprise d'imatinib à la récurrence**

Evaluation après reprise d'imatinib	Patients	Période de la réponse
RHC	1	1 mois
RCC	3	1 mois
	1	3 mois
RMM3		5 mois
RMM4	1	9 mois
EN COURS	2	

Tableau XIII : Résultat des patients selon RMM après reprise d'imatinib.

Parmi les 8 patients qui ont présenté une récurrence, au moment de l'évaluation, une avait retrouvé au moins une RMM3 à 5 mois, la RMM4 à 9 mois, 3 RCC à 1 mois, et une à 3 mois. Aucun patient n'a progressé vers une phase avancée de la maladie.

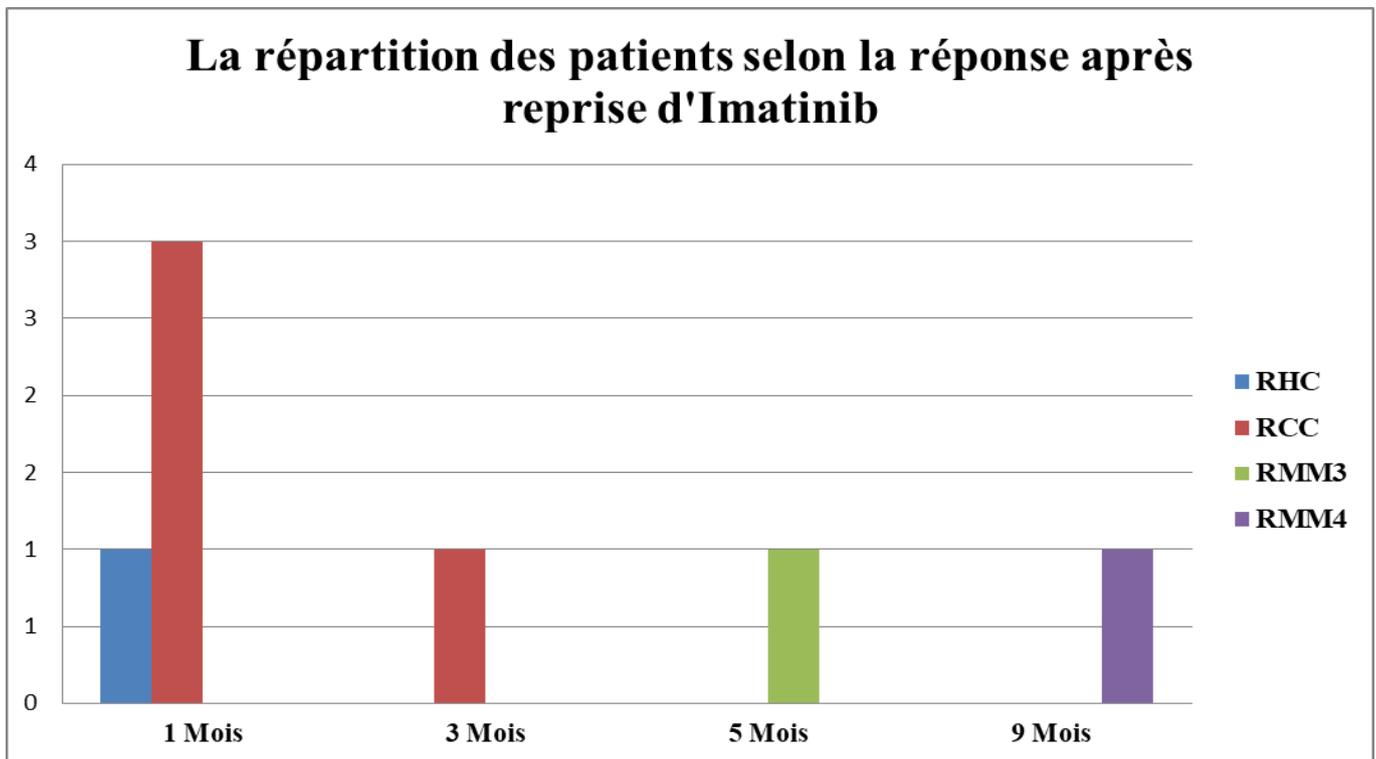


Figure 43 : La répartition des patients selon la réponse après reprise d'Imatinib.

- évènements secondaires à l'arrêt de l'Imatinib (syndrome sevrage) :

patient	évènements secondaires (syndrome sevrage)
3 (15%)	Prurit G2
2(10%)	Asthénie
1(5%)	Gonalgies
5(25%)	DLO osteo-musculaire
12(60%)	sans syndrome

Tableau XIV: Résultat des patients selon les évènements secondaires (syndrome sevrage)

Résultat des patients selon les événements secondaires (syndrome sevrage)

Par ailleurs, 8 /20 patients ont été victimes du syndrome de sevrage post ITK , le premier mois de l'arrêt ;les effets décrits ont été principalement des douleurs musculo squelettiques chez 25 % , des éruptions cutanées avec un prurit chez 15% , une asthénie chez 10%. Aucun de ces événements n'a été très sévère, tous grade 2 ; 60% n'ont pas fait d'évènements Ce que toutes les études internationales de l'arrêt du traitement ont répertorié

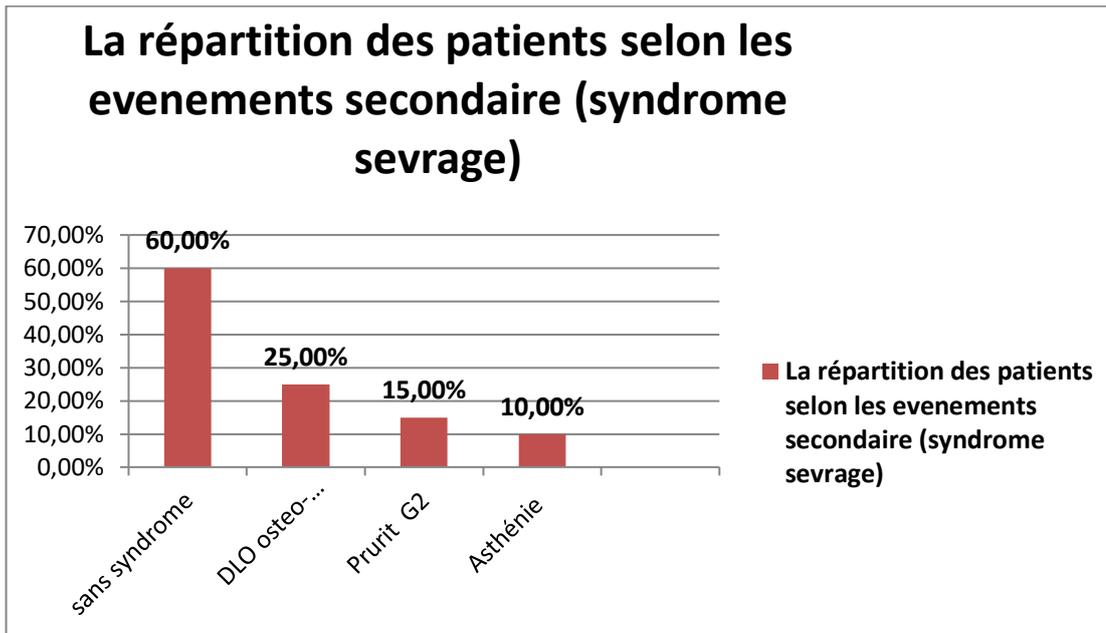


Figure 44 : La répartition des patients selon les événements secondaires (syndrome de sevrage)

VII. DISCUSSION :

La tranche d'âge la plus touchée dans notre série choisie pour l'arrêt du traitement, 60 % est celle < 40 ans, 30% des patients entre 40-60 ans et 10% > 60 ans avec une légère prédominance masculine, sexe ratio H/F de 1,2 (55% hommes) et (45% femmes). 40% de nos patients sont originaire de Blida, 30% d'Ain-Defla et 20% de Médéa ,5% de Djelfa et 5% de Laghouat. 45% des patients sont sans fonction, 55% ont des fonctions multiples, telles que commerçant, fellah, médecin, agent de sécurité et taxieur.

La répartition des patients selon la classification pronostique de sokal, 50% sont de risque intermédiaire, 35% de faible risque et 15% de haut risque. Selon le score EUTOS, 90% sont de faible risque et 10% seulement à haut risque. Selon le score ELTS, 45% sont de faible risque, 35% de risque intermédiaire et 20% de haut risque. Selon les 3 scores pronostiques au diagnostic, 80 à 90% de nos patient sont de faible risque et risque intermédiaire, alors que uniquement 10 à 20% sont de risque élevé.

100% de notre cohorte était en phase chronique (LMC-PC). Tous ont reçu de l'Imatinib à la dose de 400 mg/jour en une seule prise comme thérapie ciblée de première ligne depuis plus de 05 ans ,le premier depuis juin 2007 et le dernier depuis octobre 2013 .

Les 20 patients ont été évalués sur le plan hématologique : Une réponse hématologique complète a été obtenue chez les 100% des patients (soit les 20 patients).

Dans notre série choisie pour l'arrêt du traitement, une réponse optimale est obtenue sous Imatinib dans 92,3% à 3 mois, dans 83% à 6 mois, dans 80% à 12 mois et dans 100% à 18 mois. L'Imatinib était très efficace comme thérapie ciblée en première ligne chez notre cohorte puisque les 100% de nos patients ont achevé La RMM après 5 ans de l'Imatinib, avec une médiane de suivi de 8,5 ans (6 – 12 ans), sans arrêt, avec une bonne observance, et aucune progression durant l'évolution. La RM Profonde achevée en moyenne à 70 mois, dans 35% des cas une RMM4 et dans 65% une RMM4.5.

La confirmation de la RMP pendant 24 mois chez tous les patients de cette cohorte, ou 2 patients (10%) étaient en RMM4, alors que 18 patients (90%) étaient en RMM4.5, nous notons une amélioration de deux RMM4 Selon les données de la littérature environ 65 à 75% des patients atteints de LMC atteindront, au cours des années, une réponse moléculaire profonde et durable (MR4 minimum) aux traitements ITK actuels, et ce qui est confirmé par notre série

Les études internationales , françaises STIM et ASTIM , européenne , et autres ont démontré la faisabilité sans risque pour le patient d'un arrêt du traitement par l'IMATINIB chez les patients présentant une réponse moléculaire 4 et 4.5 pendant au moins 2 ans . Après confirmation de la RMP, les 20 patients ont bénéficié de l'arrêt du traitement, La rémission hématologique complète était maintenue chez 19

patients (95%) avec une rechute hématologique chez un patient à 6 mois de l'arrêt. La RMP perdu chez 40 %, 25 % à 1 mois, 30 % à 2 mois et 40 % à 3 mois.

La RMM perdu chez 40 %, 25 % à 2 mois, 40 % à 6 mois et ont donc repris le traitement par l'ITK (Imatinib)

La plupart des récurrences (8/20) sont intervenues très rapidement, au cours des 6 premiers mois. La durée médiane sans traitement pour ces patients est de 3,8 mois, parmi lesquels 4 l'ont perdu après 3 mois sans traitement, 2 après 4 mois, un après 5 mois et un après 6 mois

12 patients sont restés en RMP maintenue pendant en moyenne 7 mois après l'arrêt de l'ITK, donc un taux de rémission sans traitement de 60%, nos données confirment les résultats des différentes études suscitées ou le taux de RST était de 40 à 60%

Et pour les patients en rechute, la reprise de l'imatinib était aussi efficace, parmi les 8 patients au moment de l'évaluation, une avait retrouvé au moins une RMM3 à 5 mois, la RMM4 à 9 mois, 3 RCC à 1 mois, et une à 3 mois Aucun patient n'a progressé vers une phase avancée de la maladie.

40 % des patients ont présenté un syndrome de sevrage post ITK, le premier mois de l'arrêt ; les effets ont été principalement des douleurs musculo squelettiques chez 25 %, des éruptions cutanées avec un prurit chez 15% , une asthénie chez 10%. Aucun de ces évènements n'a été très sévère, tous grade 2 ; 60% n'ont pas fait d'évènements, parmi les patients qui ont présenté ces évènements, 62,5% sont en RST.

CONCLUSION :

Environ 65 à 75% des patients atteints de LMC atteindront, au cours des années, une réponse moléculaire profonde et durable (MR4 minimum) aux traitements ITK actuels. Par conséquent, la rémission sans traitement (TFR) dans la LMC est considérée comme ayant une réponse moléculaire profonde stable sans avoir besoin d'un traitement continu par l'inhibiteur de la tyrosine kinase (ITK) après une maladie résiduelle moléculaire profonde sur une plus longue période. Parmi ceux qui arrêtent alors le traitement pendant quelques années, environ la moitié d'entre eux semblent rester en rémission sans traitement durable.

Notre étude et notre mémoire confirme l'intérêt de la technique de biologie moléculaire très développée et complètement automatisée la PCR quantitative par GeneXpert, qui nous a permis de suivre la cinétique de la maladie résiduelle ou le monitoring moléculaire des transcrits BCR/ABL chez les patients suivis pour LMC sous antityrosine kinases de première génération l'Imatinib et de choisir une cohorte de 20 patients tous en réponse moléculaire profonde confirmée en vue d'une RST. Ainsi nous confirmons les avancées majeures réalisées dans le traitement de la LMC grâce à l'utilisation de l'Imatinib, en Algérie.

Pour les patients ayant achevé la rémission moléculaire profonde confirmée pendant 24 mois et un traitement de plus de 5 ans, un arrêt de l'Imatinib en vue d'une rémission sans traitement (RST) est faisable, dans des conditions bien définies de surveillance moléculaire, puisque 60 % de nos patients ont pu maintenir la TFR pendant plus de 06 mois, 40% ont perdu leur RMM dans les 6 premiers mois, plus précisément les 3 premiers mois et la reprise de l'ITK est aussi efficace.

A la lumière de ce qui précède, certaines dispositions sont à préconiser, en l'occurrence :

- Eduquer les patients à la prise régulière et continue du traitement et le respect du calendrier des investigations biomoléculaires ainsi que les rendez-vous des consultations médicales, suggérant ainsi une surveillance rigoureuse des cas à réponse moléculaire sous-optimale ou un échec.
- Et principalement de ne pas négliger le stress qui est un facteur de risque principal et qui peut influencer sur la réponse au traitement.

Référence :

(1) Actualités pharmaceutiques, carnet de formation pharmaceutique continue ,1er trimestre 2012.

(2) No 34-F d'une série fournissant les renseignements les plus récents aux patients, aux aidants et aux professionnels de la santé.

(3) Vardiman J. W., Thiele J. , Arber D. A., Brunning R. D., Borowitz M. J. , Porwit A., et al.

The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes.

Blood. 2009, 114(5):937-51.

(4) Arber D.A., Orazi A., Hasserjian R., Thiele J., Borowitz M.J. , Le Beau M.M., et al.

The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia.

Blood. 2016 ; 127(20) :2391-405.

(5) Société Française d'Hématologie. Leucémie myéloïde chronique.

Hématologie. 2007 ; 13(5) : 328-30.

(6) Chomel J. C, Sorel N, Mayeur-Rousse C., Turhan A. G.

Les syndromes myéloprolifératifs.

Immuno-analyse & Biologie Spécialisée.2009; 24(2):69-85.

(7). Goldman John Chronic Myeloid Leukemia: A Historical Perspective.

Seminars in Hematology.47 (4):302-11.

(8). Spain Peter D., Kadan-Lottick N.

Observations of unprecedented remissions following novel treatment for acute leukemia in children in 1948.

Journal of the Royal Society of Medicine. 2012; 105(4):177-81.

(9). Virchow R.Gesammelte abhandlungen zur wissenschaftlichen medicine: Meidinger; 1856.

(10). Nowell P.C.Discovery of the Philadelphia chromosome: a personal perspective.

The Journal of clinical investigation. 2007; 117(8):2033-5.

(11). Rowley J.D. A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining.

Nature. 1973; 243(5405):290.

(12). Fialkow P.J., Jacobson R.J., T.Chronic myelocytic leukemia: clonal origin in a stem cell common to the granulocyte, erythrocyte, platelet and monocyte/macrophage.

The American journal of medicine.1977; 63(1):125-30.

(13). Groffen J., Stephenson J.R., de Klein A., Bartram C.R.,

Groveled G.Philadelphia chromosomal breakpoints are clustered within a limited region, bcr, on chromosome 22. Cell. 1984; 36(1):93-9.

(14).Djouadi K AN, Harieche F, et al.

Approche épidémiologique de la leucémie mélode chronique : Etude Algéro-Tunisienne. A propos de 1195 cas sur 05 ans (2010 -2014).

Revue Algérienne D'hématologie. 2016.

(15).Hughes TP, Ross DM, Melo JV.

Handbook of Chronic Myeloid Leukemia: Springer; 2014.

(16).Castagnetti F, Gugliotta G, Baccarin M, Breccia M, Special G, Lovato L, et al.

Differences among young adults, adults and elderly chronic myeloid leukemia patients. Annal of Oncologie. 2015 ; 26(1) :185-92.

(17) Djouadi et al Etude Epidémiologique de la Leucémie Myéloïde Chronique en Algérie, incidence et prévalence en 2018. 16 ème Congres Maghrébin d'Hématologie 2019

(18).Heysel R, Bril AB, Woodbury LA, Nishi mura ET, Ghose T, Hoshino T, et al.

Leukemia in Hiroshima atomic bomb survivors.

Blood. 1960; 15(3):313-31.

(19).Van Maele-Fabry G, Duhayon S, Mertens C, Lison D.

Risk of leukaemia among pesticide manufacturing workers: a review and meta-analysis of cohort studies.

Environmental research. 2008; 106(1):121-37.

(20).Bruzzoni-Giovanelli H, González JR, Sigaux F, Villoutreix BO, Cayuela JM, Guilhot J, et al. Genetic polymorphisms associated with increased risk of developing chronic myelogenous leukemia. Oncotarget. 2015; 6(34):36269.

- (21). Druker B. J., Tamura S., Buchdunger E. , Segal G. M., Fanning S., et al.
Effects of a selective inhibitor of the Abl tyrosine kinase on the growth of Bcr-Abl positive cells.
Nat Med. 1996; 2(5):561-6.
- (22). Mahon F.X., Sauße S .Discontinuation or Cessation of Tyrosine Kinase Inhibitor Treatment in Chronic Myeloid Leukemia Patients with Deep Molecular Response.
Chronic Myéloïde Leukemia : Springer ; 2016. p. 197-206.
- (23).Pharmacie clinique pratique en oncologie : Gilles Aulagne, Jean-Louis Cazin, François Lemare, Samuel Limat, chapitre 29
- (24). Leguay, T., & Mahon, F.-X. (2005). Leucémie myéloïde chronique.
EMC - Hématologie, 2(3), 187–205. doi:10.1016/j.emch.2005.07.001 page 247.
- (25).250 examens de laboratoire, René Caquet 12e Edition page 148.
- (26).Enright, H., & Bond, J. (2008).
Chronic Leukemia's. Disease-a-Month, 54(4), 242– 255. doi:10.1016/j.disamonth.2007.12.005
- (27). Recommandations pour la prise en charge cytogénétique de la leucémie myéloïde chronique (LMC) établies par le Groupe Français de Cytogénétique Hématologique (GFCH). (2004). Pathologie Biologie, 52(5), 238–240. doi:10.1016/j.patbio.2004.04.004
- (28).Leguay T, Mahon F-X. Leucémie myéloïde chronique.
EMC-Hématologie. 2005; 2(3):187-205.
- (29).Quintás-Cardama A, Cortes J.
Molecular biology of bcr-all–positive chronic myeloid leukemia. Blood. 2009; 113(8):1619-30
- (30).Panjarian S, Iacob RE, Chen S, Engen JR, Smith gall TE.
Structure and dynamic regulation of Abl kinases.
Journal of Biological Chemistry. 2013; 288(8):5443-50
- (31) .Melo JV, Goldman JM. Hematologic malignancies: myeloproliferative disorders: Spri30.
Wang JY. Regulation of cell death by the Abl tyrosine kinase.
Oncogene. 2000; 19(49).
- (32).Maiani E, Diederich M, Gonfloni S. DNA damage response: the emerging role of c-Abl as a regulatory switch Biochemical pharmacology. 2011; 82(10):1269-76.

- (33).Goldman JM, Melo JV. Chronic myeloid leukemia—advances in biology and new approaches to treatment. *New England Journal of Medicine*. 2003; 349(15):1451-64.
- (34) Shtivelman E, Lifshitz B, Gale RP, Canaani E.
Fused transcript of abl and bcr genes in chronic myelogenous leukaemia. 1985.
- (35) Groffen J, Stephenson JR, Heisterkamp N, de Klein A, Bartram CR, Grosveld G. Philadelphia chromosomal breakpoints are clustered within a limited region, bcr, on chromosome 22. *Cell*. 1984 ; 36(1) :93-9
- (36) Groffen J, Stephenson JR, Heisterkamp N, de Klein A, Bartram CR, Grosveld G. Philadelphia chromosomal breakpoints are clustered within a limited region, bcr, on chromosome 22.
Cell. 1984 ; 36(1) :93-9
- (37).Chomel J-C, Sorel N, Mayeur-Rousse C, Turhan A.
Les syndromes myéloprolifératifs.
Immuno-analyse & Biologie Spécialisée. 2009; 24(2):69-85.
- (38).Melo JV. The diversity of BCR-ABL fusion proteins and their relationship to leukemia phenotype [editorial; comment].
Am Soc Hematology; 1996.
- (39).Xie Y, Yin T, Wiegraebe W, He XC, Miller D, Stark D, et al.
Detection of functional hematopoietic stem cell niche using real-time imaging.
Nature. 2009; 457(7225):97-101.
- (40).Zhang J, Niu C, Ye L, Huang H, He X, Tong W-G, et al.
Identification of the hematopoietic stem cell niche and control of the niche size.
Nature. 2003; 425(6960):836-41.
- (41).Cayuela J-M, Hoguet F. Chronic myeloid leukemia (CML) diagnosis in 2012.
Oncology. 2012; 14(10-11):561-8.
- (42) .Deininger MW, Goldman JM, Melo JV.
The molecular biology of chronic myeloid leukemia.
Blood. 2000; 96(10):3343-56.
- (43).Melo JV, Deininger MW. Biology of chronic myelogenous leukemia—signaling pathways of initiation and transformation.
Hematology/oncology clinics of North America. 2004; 18(3):545-68.

- (44).Burmeister T, Reinhardt R. A multiplex PCR for improved detection of typical and atypical BCR–ABL fusion transcripts.
Leukemia research. 2008; 32(4):579-85
- (45).Hughes TP, Ross DM, Melo JV.
Handbook of Chronic Myeloid Leukemia: Springer; 2014
- (46).Robert J. Signalisation cellulaire et cancer Oncologie pratique2010.
- (47).Cilloni D, Saglio G. Molecular pathways: Bcr-Abl. Clinical Cancer Research. 2012; 18(4):930-7.89.Astrid L. RAS/MAPK signaling pathway. Cancéro dig2010. p. 38-42
- (48).Willems DB. Signal transduction: oncogenic signaling pathways for targeted therapies in cancer. Correspondences en Onco-Hematology 2011; 06.
- (49). Michael, J. Mauro, M. Leader, Myeloproliferative Neoplasms Program, MemorialSloanKettering Cancer Center solutions/clinical-ivd-tests/oncology-genetics/xpert-bcr-abl-ultra.
- (50).Guilloux F. La voie de signalisation Jak/Stat dans la leucémogénèse.
Hematology. 2001; 7(1):19-30.
- (51).Ihle JN, Thierfelder W, Teglund S, Stravapodis D, Wang D, Feng J, et al.
Signaling by the Cytokine Receptor Superfamily.
Annals of the New York Academy of Sciences. 1998; 865(1):1-9.
- (52).Xie S, Wang Y, Liu J, Sun T, Wilson MB, Smith gall TE, et al.
Involvement of Jak2 tyrosine phosphorylation in Bcr-Abl transformation. Oncogene. 2001; 20(6188):6195
- (53).Xie S, Lin H, Sun T, Allingham RB. Bcr-Abl. Oncogene involves Jak2 in c-Myc induction. 2002; 21(47):7137
- (54).Horita M, Andreu EJ, Benito A, Arbona C, Sanz C, Benet I, et al.
Blockade of the Bcr-Abl kinase activity induces apoptosis of chronic myelogenous leukemia cells by suppressing signal transducer and activator of transcription 5–dependent expression of Bcl-xL.
The Journal of experimental medicine. 2000; 191(6):977-84.
- (55).Expert, Dusanter-Fourt I, Chelbi-Alix MK. Les régulations négatives de la voie JAK/STAT: implication dans la tumorigénèse.
Bulletin du cancer. 2005; 92(10):845-57.

- (56).Shuaib K, Halpern J, Ten Hoeve J, Rao X, Sawyers CL. Constitutive activation of STAT5 by the BCR-ABL oncogene in chronic myelogenous leukemia.
Oncogene. 1996; 13(2):247-54.
- (57).de Groot RP, Raaijmakers JA, Lammers J-WJ, Jove R, Koenderman L. STAT5 activation by Bcr-Abl contributes to transformation of K562 leukemia cells.
Blood. 1999; 94(3):1108-12.
- (58).Kharas MG, Fruman DA. ABL oncogenes and phosphoinositide 3-kinase: mechanism of activation and downstream effectors.
Cancer Research. 2005; 65(6):2047-53.
- (59).Stein RC, Waterfield MD. PI3-kinase inhibition: a target for drug development Moléculaire médecine today. 2000 ; 6(9) :347-58.
- (60).Robert J. NFκB et angiogénèse. Les voies de signalisation2015.
- (61).Thomas E, Cancelas J, Zheng Y, Williams D. Race GTPases as key regulators of p210-BCR-ABL-dependent leukemogenesis.
Leukemia. 2008; 22(5):898-904.
- (62) .Faderl S, Talpaz M, Estrov Z, et al.
Chronic myelogenous leukemia: biology and therapy.
Ann Intern Med. 1999; 131(3):207-219.
- (63) .Deininger MW, Goldman JM and Melo JV.
The molecular biology of chronic myeloid leukemia.
Blood. 2000 Nov. 15 ; 96(10) :3343-56.
- (64) .Tome 2, Hématologie clinique, La leucémie myéloïde chronique R. LACROIX, F. SABATIER, F. DIGNAT-GEORGE et J. SAMPOL Laboratoire d'immunologie et d'hématologie, UFR de pharmacie, Aix-Marseille Université.hromosome Philadelphie et un chromosome 9 plus long (der9)
- (65) .Cortes J. Natural history and staging of chronic myelogenous leukemia. Hematic Onco Clin North Am. 2004; 18(3):569–84.
- (66). Sokal JE, Cox EB, Baccarin M, et al.
Prognostic discrimination in "good-risk" chronic granulocytic leukemia.
Blood. 1984 Apr ; 63(4):789-99.

(67). Correspondances en Onco-Hématologie - Vol. VII - n° 4 - octobre-novembre-décembre 2012

(68). No34-F d'une série fournissant les renseignements les plus récents aux patients, aux aidants et aux professionnels de la santé.

(69). Melo JV, Barnes DJ. Chronic myeloid leukaemia as a model of disease evolution in human cancer. *Nat Rev Cancer* 2007; 7(6):441-53.

(70). Druker BJ, Tamura S, Buchdunger E et al.

Effects of a selective inhibitor of the Abl tyrosine kinase on the growth of Bcr-Abl positive cells. *Nat Med* 1996; 2(5):561-6.

(71). Druker BJ, Talpaz M, Rasta DJ, et al.

Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR- ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med.* 2001 Apr 5; 344(14):1031-7.

(72). Cortes J, Talpaz M, O'Brien S, et al.

Molecular responses in patients with CML treated with imatinib mesylate.

Clin Cancer Res. 2005 May 1; 11(9):3425-32.

(73). Aguilera D. and Tsimberidou A. Dasatinib in chronic myeloid leukemia: a review.

Ther Clin Risk Manag. 2009; 5: 281–289.

(74). Jabber E, Kantar Jian H, Saglio G, et al.

Early response with dasatinib or imatinib in chronic myeloid leukemia: 3-year follow-up from a randomized phase 3 trial (DASISION).

Blood Jan 2014, 123 (4) 494-500

(75). Hughes TP, Kaeda J, Branford S, et al.

Frequency of major molecular responses to imatinib or interferon alfa plus cytarabine in newly diagnosed chronic myeloid leukemia.

N Engl J Med. 2003 ; 349:1423–32.

(76). Leitner AA et al. *Internist (Berl)*, 2011 ; 52 :209-217.

(77). Leporrier M. Hématologie. Dion initiatives santé, Vélizy-Villacoublay 1999 ; 414 pages.

(78). Lipton JH, Chuah C, Guerci-Bresler A, et al.

Ponatinib versus imatinib for newly diagnosed chronic myeloid leukaemia: an international, Randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Onco.* 2016 Apr 12. Pii : S14702045(16)000802.

(79). Bonifaci F, De Vivo A, Rosti G, et al.

Chronic myeloid leukemia and INF alpha: a study of complete cytogenetic responders,

Blood. 2001 Nov 15; 98(10):3074-81.

(80). Hughes T, Deininger M, Hochhaus A, et al.

Monitoring CML patients responding to treatment with tyrosine kinase inhibitors: review and recommendations for harmonizing current methodology for detecting BCR-ABL transcripts and kinase domain mutations and for expressing results.

Blood. 2006; 108(1):28–37.

(81). Cross NC, White HE, Müller MC, et al.

Standardized definitions of molecular response in chronic myeloid leukemia.

Leukemia 2012 Oct. ; 26(10) :2172-5.

(82) Réseau des défenseurs des patients atteints de LMC ; Recommandations thérapeutiques pour les personnes vivant avec la LMC : Un résumé des recommandations du réseau European LeukemiaNet (2013), adapté au patient, pour la gestion de la Leucémie Myéloïde Chronique.

Version 19 sept 2014 (v3.3.1/2014).

(83) Press RD, Gallerist C, Yang R, et al.

A half-log increase in BCR-ABL RNA predicts a higher risk of relapse in patients with chronic myeloid leukemia with an imatinib-induced complete cytogenetic response. *Clin Cancer Res.*

2007 Oct. 15 ; 13(20):6136-43.

ANNEXE : tableaux et figures de traitements de la LMC

Les indications des ITKS :

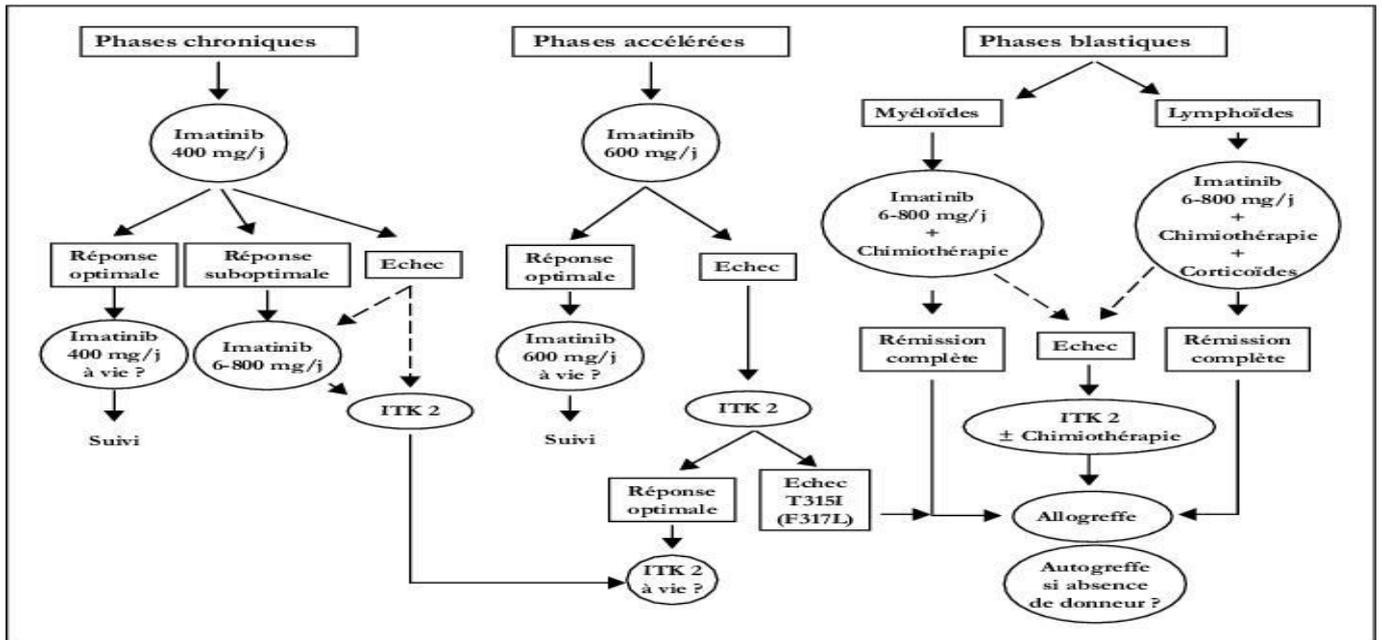


Figure : Arbre décisionnel des différents choix thérapeutiques de la LMC (thèse de doctorat Dr Nachi.M 2017).

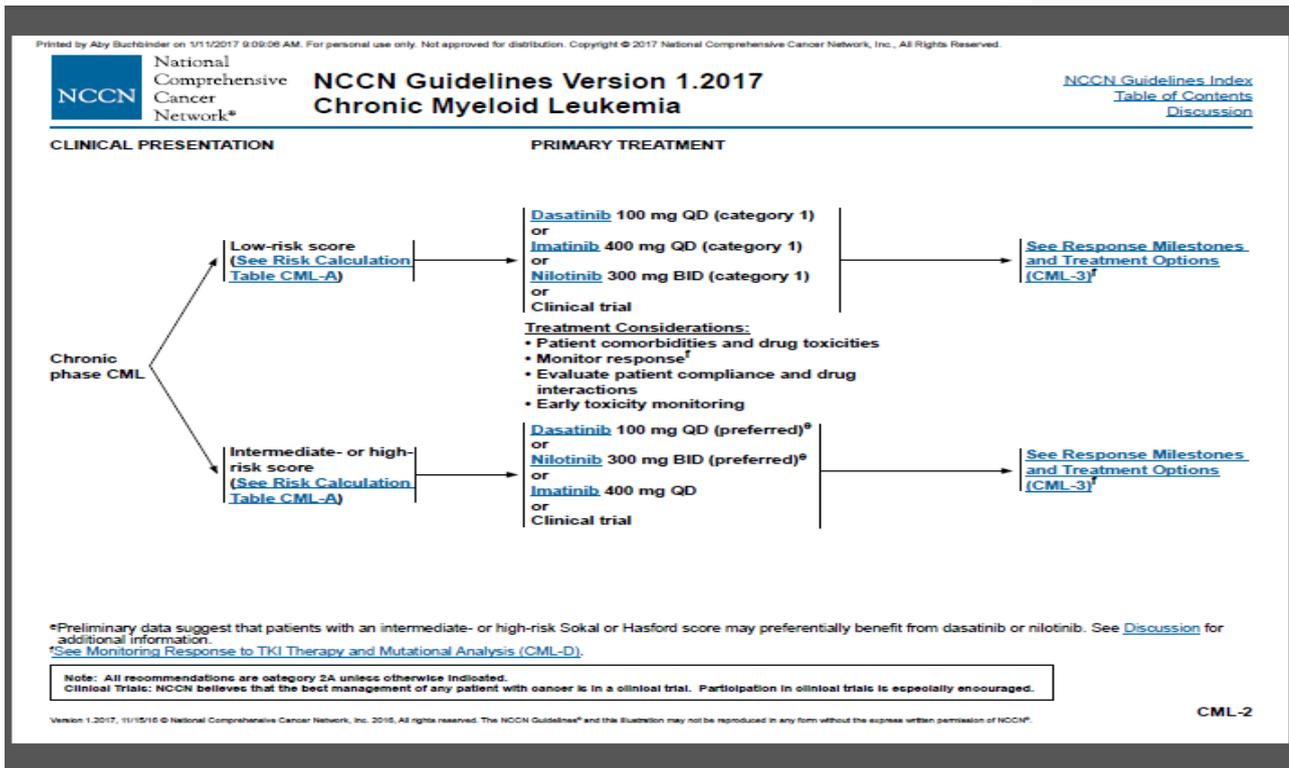


Figure: Arbre décisionnel des différents choix thérapeutiques de la LMC selon le NCCN(guidelines NCCN 2017)

- Critères de réponse aux ITK (quels qu'ils soient) :
- Selon les Guidelines du National Comprehensive Center Network (NCCN) :
Le Réseau national global de cancérologie

Temps écoulé depuis le diagnostic	Réponse optimale	Recommandations en matière de suivi	
		Jalon atteint	Jalon non atteint
3 mois	<i>BCR-ABL</i> ≤ 10 % par PCR quantitative	<ul style="list-style-type: none"> Continuer le traitement à la même dose Surveiller par PCR quantitative tous les 3 mois 	<ul style="list-style-type: none"> Évaluer l'observance du traitement par le patient Effectuer une analyse de la mutation du gène <i>BCR-ABL</i> PUIS Augmenter la dose de TKI (si possible) OU Changer de TKI OU Participer à un essai clinique OU Évaluer la possibilité d'une greffe de cellules souches hématopoïétiques (GCSH)
	Réponse cytogénétique partielle (RCyP) Réponse hématologique complète (RHC)		
6 mois	<i>BCR-ABL</i> ≤ 10 % par PCR quantitative	<ul style="list-style-type: none"> Continuer le traitement à la même dose Surveiller par PCR quantitative à tous les 3 mois 	<ul style="list-style-type: none"> Évaluer l'observance du traitement par le patient Effectuer une analyse de la mutation du gène <i>BCR-ABL</i> PUIS Augmenter la dose de TKI (si possible) OU Changer de TKI OU Participer à un essai clinique OU Évaluer la possibilité d'une GCSH
	Réponse cytogénétique partielle (RCyP) ou mieux Réponse hématologique complète (RHC) continue		

Tableau : Jalons de la réponse au traitement de la LMC et recommandations en matière de suivi

Temps écoulé depuis le diagnostic	Réponse optimale	Recommandations en matière de suivi	
		Jalon atteint	Jalon non atteint
12 mois	Réponse cytogénétique complète (RCyC)	<ul style="list-style-type: none"> Continuer le traitement à la même dose Une fois une RCyC obtenue, surveiller par PCR quantitative tous les 3 mois pendant 2 ans, puis tous les 3 à 6 mois par la suite 	<ul style="list-style-type: none"> Évaluer l'observance du traitement par le patient Effectuer une analyse de la mutation du gène <i>BCR-ABL</i> PUIS Augmenter la dose de TKI (si possible) OU Passer à un autre TKI ou à l'omacétaxine OU Participer à un essai clinique OU Évaluer la possibilité d'une GCSH
18 mois	Réponse moléculaire majeure (RMM)	<ul style="list-style-type: none"> Continuer le traitement à la même dose Continuer la surveillance par PCR quantitative tous les 3 à 6 mois ou selon les recommandations du médecin 	<ul style="list-style-type: none"> Évaluer l'observance du traitement par le patient Effectuer une analyse de la mutation du gène <i>BCR-ABL</i> PUIS Changer de TKI et répéter l'analyse de la moelle osseuse au bout de 3 mois ET Évaluer la possibilité d'une GCSH OU Participer à un essai clinique

Tableau (suite) : jalons de la réponse au traitement de la LMC et recommandations en matière de suivi

Temps écoulé depuis le diagnostic	Réponse optimale	Recommandations en matière de suivi	
		Jalon atteint	Jalon non atteint
18 mois et plus	Stabilité ou amélioration de la réponse moléculaire majeure (RMM)	Continuer le traitement et les soins de suivi selon les recommandations du médecin	<ul style="list-style-type: none"> Évaluer l'observance du traitement par le patient Effectuer une analyse de la mutation du gène <i>BCR-ABL</i> <p>PUIS Changer de TKI et répéter l'analyse de la moelle osseuse et la PCR quantitative selon les recommandations</p> <p>ET Évaluer la possibilité d'une GCSH</p> <p>OU Participer à un essai clinique</p>

Les jalons optimaux pour les 18 premiers mois de traitement de la LMC et les recommandations de suivi générales sont récapitulés dans ce tableau. L'incapacité d'atteindre un jalon à un moment donné après le début du traitement peut signifier qu'il faut changer le traitement. Les recommandations de suivi sont basées sur la réponse de chaque patient au traitement. Parlez à votre médecin des jalons de votre traitement et demandez-lui si vous avez atteint une réponse appropriée.

Source : The NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology[®] for Chronic Myelogenous Leukemia, 2016.

Tableau (suite) : jalons de la réponse au traitement de la LMC et recommandations en matière de suivi.

2017 NCCN Guidelines

BCR-ABL (IS)	3 months	6 months	12 months	>12 months
>10% ¹	YELLOW	RED		
1%–10%	GREEN		YELLOW	RED
0.1%–1%	GREEN			YELLOW
<0.1%	GREEN			

	CLINICAL CONSIDERATIONS	SECOND-LINE AND SUBSEQUENT TREATMENT OPTIONS
RED	<ul style="list-style-type: none"> Evaluate patient compliance and drug interactions Mutational analysis 	Switch to alternate TKI (CML-5) and Evaluate for HCT (CML-8)
YELLOW	<ul style="list-style-type: none"> Evaluate patient compliance and drug interactions Mutational analysis 	Switch to alternate TKI (CML-5) or Continue same TKI (CML-6) or Dose escalation of imatinib (to a max of 800 mg) and Evaluate for HCT (CML-8)
GREEN	<ul style="list-style-type: none"> Monitor response (CML-6) and side effects 	Continue same TKI (CML-6)

*See Monitoring Response to TKI Therapy and Mutational Analysis (CML-7)
¹See Criteria for Hematologic, Cytogenetic, and Molecular Response and Relapse (CML-5)
²Patients with BCR-ABL only slightly >10% at 3 months and/or with a steep decline from baseline, may achieve <10% at 6 months and have generally favorable outcomes. Therefore, it is important to interpret the value at 3 months in this context, before making drastic changes to the treatment strategy.
³Achievement of response milestones must be interpreted within the clinical context. Patients with more than 50% reduction compared to baseline or minimally above the 10% cutoff can continue the same dose of dasatinib or nilotinib for another 3 months.
⁴Discontinuation of TKI with careful monitoring is feasible in selected patients. See Discontinuation of TKI Therapy (CML-9)

Note: All recommendations are category 2A unless otherwise indicated.
 Clinical Trials: NCCN believes that the best management of any patient with cancer is in a clinical trial. Participation in clinical trials is especially encouraged.

CML-3

Tableau : Critères de la réponse au traitement de la LMC et recommandations en matière de suivi selon Le NCCN 2017(site of NCCN guidelines 2017)

En résumé, voici ci-dessous un tableau récapitulatif, issue des recommandations. NCCN et autres

Temps	Réponse optimale			
	ESMO 2017	ELN 2013	ELN 2013	NCCN 2018
	Toutes lignes	1 ^{re} ligne	2 ^e ligne ⁴	Toutes lignes
À 3 mois	Ph ≤ 35 % BCR-ABL1 ≤ 10 %	Ph ≤ 35 % BCR-ABL1 ≤ 10 %	Ph < 65 % BCR-ABL1 ≤ 10 %	BCR-ABL1 ≤ 10 %
À 6 mois	RCyC BCR-ABL1 < 1 %	RCyC BCR-ABL1 < 1 %	Ph < 35 % BCR-ABL1 ≤ 10 %	BCR-ABL1 ≤ 10 %
À 12 mois	RCyC BCR-ABL1 ≤ 0,1 %	BCR-ABL1 ≤ 0,1 %	RCyC BCR-ABL1 < 1 %	RCyC BCR-ABL1 ≤ 1 %
> 18 mois (ELN/ESMO) ou > 12 mois (NCCN)	BCR-ABL1 ≤ 0,01 % ¹	NA	NA	BCR-ABL1 < 0,1 %
À n'importe quel moment	NA	BCR-ABL1 ≤ 0,1 %	BCR-ABL1 ≤ 0,1 %	NA

Tableau: Critères de réponse au traitement par inhibiteur de tyrosine kinase (28 ;29)

Ph : chromosome Philadelphie ; NA : non applicable

ACA/Phi + : anomalies chromosomiques additionnelles dans les métaphases Phi +

ACA/Phi : anomalies chromosomiques additionnelles dans les métaphases Phi

RCyC : réponse cytogénétique complète

RCyP : réponse cytogénétique partielle

RMM : réponse moléculaire majeure.

1) S'il existe un objectif d'arrêt thérapeutique.

2) ACA/Ph+ : +8 ; iso(17q),+19,+22q), anomalies du chromosome .

3) 3 Sur 2 prélèvements successifs dont 1 avec un taux de BCR-ABL1 1 % IS.

4) 2eme ligne après échec de l'imatinib.

5) Si imatinib 1re ligne, il n'est pas recommandé de continuer avec la même dose, alors que si dasatinib, nilotinib, ou bosutinib il est possible d'attendre l'évaluation à M6

Signes d'alerte			
ESMO 2017	ELN 2013	ELN 2013	NCCN 2018
Toutes lignes	1 ^{re} ligne	2 ^e ligne ⁴	Toutes lignes
36 % ≤ Ph ≤ 95 % <i>BCR-ABL1</i> > 10 %	36 % ≤ Ph ≤ 95 % <i>BCR-ABL1</i> > 10 %	65 % ≤ Ph ≤ 95 % <i>BCR-ABL1</i> > 10 %	<i>BCR-ABL1</i> > 10 % ⁵
1 % ≤ Ph !nbsp;≤ 35 % 1 % ≤ <i>BCR-ABL1</i> ≤ 10 %	1 % ≤ Ph ≤ 35 % 1 % ≤ <i>BCR-ABL1</i> ≤ 10 %	35 % ≤ Ph ≤ 65 %	NA
0,1 % < <i>BCR-ABL1</i> ≤ 1 %	0,1 % < <i>BCR-ABL1</i> ≤ 1 %	1 % ≤ Ph ≤ 35 % 1 % ≤ <i>BCR-ABL1</i> ≤ 10 %	1 % < <i>BCR-ABL1</i> ≤ 10 %
0,1 % < <i>BCR-ABL1</i> ≤ 1 %	NA	NA	0,1 % ≤ <i>BCR-ABL1</i> ≤ 1 %
NA	ACA/Ph- (-7 ou 7q-)	ACA/Ph- (-7 ou 7q-) ou <i>BCR-ABL1</i> > 0,1 %	NA

Tableau (Suite): Critères de réponse au traitement par inhibiteur de tyrosine kinase (28 ;29)

Échec thérapeutique			
ESMO 2017	ELN 2013	ELN 2013	NCCN 2018
Toutes lignes	1 ^{re} ligne	2 ^e ligne ⁴	Toutes lignes
Absence de RHC Ph > 95 %	Absence de RHC Ph > 95 %	Absence de RHC Ph > 95 % Nouvelles mutations	NA
Ph > 35 % <i>BCR-ABL1</i> >10 %	Ph > 35 % <i>BCR-ABL1</i> >10 %	Ph > 65 % <i>BCR-ABL1</i> > 10 % Nouvelles mutations	<i>BCR-ABL1</i> > 10 %
Ph ≥ 1 % <i>BCR-ABL1</i> > 1 %	Ph ≥ 1 % <i>BCR-ABL1</i> > 1 %	Ph > 35 % <i>BCR-ABL1</i> > 10 % Nouvelles mutations	Ph ≥ 1 % <i>BCR-ABL1</i> > 10 %
NA	NA	NA	Ph ≥ 1 % <i>BCR-ABL1</i> > 1 %
Perte de RHC Perte de RCyC Perte de RMM	Perte de RHC Perte de RCyC Perte de RMM confirmée ³ . Mutations ACA/Ph ⁺ ²	Perte de RHC Perte de RCyC ou RCyP Perte de RMM confirmée ³ . Nouvelles Mutations ACA/Ph ⁺ ²	Perte de RHC Perte de RCyC Perte de RMM

Tableau (Suite) : Critères de réponse au traitement par inhibiteur de tyrosine kinase (28 ;29)

Les différentes études d'arrêt du traitement avec la TFR

ETUDE	N=812	TFR
Case reports	9	
Etude pilote	12	50% à 18 mois Certains > 10 ans
STIM	100	40% à 5 ans
a-STIM	80	64% à 2 ans
STIM-2	124	61% à 1 an
EURO-SKI	200	56% à 1 an
STIK2	80	57% à 1 an
Coréenne	90	62,2% à 1 an
Australie TWISTER	40	47% à 2 ans

Tableau : récapitulatif, des différentes études d'arrêt du traitement avec la TFR(site web ELN)

