

SAHTS



Société Algérienne d'Hématologie
et de Transfusion Sanguine

Revue Algérienne

d' **Hématologie**

Leucémie Myéloïde Chronique

Epidémiologie, biologie et résultats thérapeutiques

Le Lymphome Diffus à Grandes Cellules B

Epidémiologie, facteurs pronostiques et traitement

Classification OMS 2016 des syndromes myéloprolifératifs hors LMC

N°13 & 14, Décembre 2017



RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS

La revue algérienne d'hématologie, créée en 2009, constitue un espace d'échange scientifique permettant le partage de nos expériences et réflexions, grâce à une collaboration étroite entre les praticiens, cliniciens et biologistes. Dans un souci d'homogénéisation de notre revue, nous invitons les auteurs à respecter les instructions relatives à la rédaction et à la présentation des articles.

Sont acceptés dans cette revue :

- Les articles originaux.
- Une revue de la littérature sur un thème donné .
- Un cas clinique avec une revue de la littérature.
- Une note brève (clinique, biologique, éthique).

LES INSTRUCTIONS

1. Soumettre les articles en fichier Microsoft Word à l'adresse suivante : rahematologie@gmail.com

2. Titre de l'article en français et en anglais.

3. Les auteurs :

- les noms des auteurs : commencer par l'initiale du prénom suivie d'un point et nom de famille : coordonnées complètes.
- Les auteurs affiliés à plusieurs services doivent fournir les adresses séparées pour chaque entité, repérées par des lettres en exposant après leurs noms.
- Pour l'auteur principal : téléphone et e-mail.

4. Le résumé :

Il ne doit pas être exhaustif (250 à 300 mots) et il doit être accompagné de mots clés (maximum 05) en français et en anglais.

5. L'article original :

- Il doit répondre aux normes internationales et respecter les différentes rubriques : Introduction, matériel et méthodes, Résultats, discussion et conclusion.
- Les symboles et unités scientifiques doivent être conformes aux normes internationales.
- Les abréviations seront explicitées lors de leur première apparition dans le texte et leur nombre sera réduit au minimum.
- Les figures et tableaux : leur nombre au total ne doit pas dépasser 06 par article. Il faut Privilégier la rédaction. Ils seront numérotés en chiffres arabes et indexés dans le texte par rappel de leur numéro.

6. Les références bibliographiques :

- Elles sont numérotées selon l'ordre d'apparition dans le texte, en chiffre arabe entre crochets.
- Elles sont rédigées conformément aux normes de Vancouver (International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscript submitted to biomedical journals. 5th edition. N Engl J Med 1997;336:309-16

Exemple :

Barrier JH, Herbouiller M, Le Carrer D, Chaillé C, Raffi F, Billaud E, et al. Limites du profil protéique d'orientation diagnostique en consultation initiale de médecine interne. Étude prospective chez 76 malades. Rev Med Interne 1997;18:373-9.

Le Comité de Rédaction

**Coordinatrice**

Pr Djouadi Khédidja

Rédacteurs en chef

Pr Hamladji Rose Marie

Pr Belhani Meriem

Comité de rédaction

Pr Abad Mohand Tayeb

Pr Touhami Hadj

Pr Bekadja Mohamed Amine

Pr Ait Ali Hocine

Pr Ahmed Nacer Redhouane

Pr Boudjerra Nadia

Pr Saidi Mahdia

Pr Djouadi-Lahlou Khédidja

Conseil scientifique de la SAHTS**Présidente**

Pr Hamladji Rose Marie

Membres

Pr Belhani Meriem

Pr Abad Mohand Tayeb

Pr Touhami Hadj

Pr Zouaoui Zahia

Pr Bekadja Mohamed Amine

Pr Ahmed Nacer Redhouane

Pr Boudjerra Nadia

Pr Sidi Mansour Nourredine

Pr Mesli Naima

Pr Hamdi Selma

Pr Saidi Mahdia

Pr Benakli Malek

Pr Grifi Fatiha

Pr Zatla Leila

Pr Nekkhal Mohamed Salim

Pr Djouadi Khédidja

Pr Bradaï Mohamed

Pr Ramaoun Mohamed

Pr Lakhdari Noureddine

Pr Belakehal Salah Eddine

Dr Saidi Djamel

Dr Mehdid Farih

Dr Mehalhal Malika

Composition du bureau de la SAHTS**Président**

Oukid Salima

Vice présidents

Boudjerra Nadia

Ait Ameer Nacéra

Ouaghent Yamina

Secrétaire général

Yachkour Toufik

Trésorier

Mehdid Farih

www.hematologie-dz.com

2 AVANT-PROPOS

K. Djouadi-Lahlou

ÉDITORIAL

3 **Historique et état actuel de la prise en charge de la leucémie myéloïde chronique (LMC) en Algérie.**

Pr R.M. Hamladji.

LES ARTICLES

7 **Approche épidémiologique de la leucémie myéloïde chronique Etude Algéro-Tunisienne à propos de 1349 cas sur 05 ans (2010 à 2014).**

K.Djouadi-Lahlou

14 **Quantification du transcrite BCR-ABL1 avec la Xpert BCR-ABL Monitor Assay et Xpert BCR-ABL Ultra(Cepheid).**

F.Harièche

22 **Recherche des différents transcrits de fusion BCR-ABL1 par RT-PCR qualitative multiplex: interets diagnostique chez les patients atteints de leucemie myeloïde chronique.**

M.Nachi

29 **Evaluation du traitement par Imatinib des patients suivis pour LMC en Algérie: Etude,nationale, multicentrique, exhaustive et rétrospective sur 07ans (2007 à 2013) : à propos de 1007 cas.**

K.Djouadi-Lahlou

37 **Résultats à 12 ans du traitement de la leucémie myéloïde chronique (LMC) en 1^{ère} phase chronique par l'Imatinib 400 mg (Imatib*).**

N.Abdennebi

44 **Allogreffe de cellules souches hematopoïétiques (CSH) chez 23 patients atteints de leucemie myeloïde chronique (LMC) en phase avancée ou résistants / intolérants aux inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK).**

S.Zerkout

52 **La Leucémie Myéloïde Chronique en 2017 : Modèle de la thérapie ciblée en Onco-Hématologie par les inhibiteurs de tyrosine kinase.**

M.Michallet

60 **Mécanismes moléculaires de la résistance à l'Imatinib dans la LMC.**

S.Ménif

64 **Mise à jour de la classification OMS 2016 des syndromes myéloprolifératifs à chromosome Philadelphie négatif (non leucémie myéloïde chronique).**

N.Abdennebi

68 **Lettre à l'éditeur : L'apport de la cytogénétique dans le diagnostic de la Leucémie Myéloïde Chronique au Mali.**

O.Samassekou, Y.Diallo

70 **Profil épidémiologique Algéro-Tunisienne des LDGCB sur une période de 5 ans.**

N.Boudjerra

76 **Le lymphome diffus à grandes cellules B : étude des facteurs pronostiques.**

S.Bouchama

81 **L'autogreffe de cellules souches hématopoïétiques après intensification thérapeutique selon le protocole Tutshka dans les lymphomes non hodgkiniens à grandes cellules B.**

R.M. Hamaldji

87 **Un cas de maladie de Biermer révélé par un accident vasculaire cérébral ischémique et revue de la littérature.**

M. Fall

91 HOMMAGE

Le Professeur Mohand Ouali Hamladji

AVANT-PROPOS

La leucémie myéloïde chronique (LMC), est une hémopathie maligne entrant dans le cadre des syndromes myéloprolifératifs chroniques, prédominant sur la lignée granuleuse. Elle est liée à une anomalie monoclonale affectant la cellule souche hématopoïétique. Elle représente un modèle excellent, en matière de biologie moléculaire et de thérapie ciblée. Durant ces deux dernières décades, des progrès révolutionnaires sont accomplis dans la prise en charge thérapeutique et du suivi moléculaire des patients présentant une LMC suite à l'avènement des anti-tyrosines kinases.

Nous rapportons dans ce numéro, les résultats des travaux exposés lors du XIIIème congrès maghrébin d'hématologie qui s'est déroulé à Alger du 26 au 28 Mai 2016.

Vous y trouverez, les aspects épidémiologiques de la LMC et des lymphomes à grandes cellules B, au sein de la population Algéro-Tunisienne, ainsi que les

aspects biologiques, et thérapeutiques de la LMC en Algérie. Les résultats de ces études permettent non seulement d'évaluer la prise en charge de ces affections dans notre pays, mais surtout de mettre l'accent sur les difficultés rencontrées qu'il convient absolument de surmonter en apportant les solutions appropriées.

Bonne lecture à tous.

Pr K.DJOUADI-LAHLLOU

Coordinatrice de la revue

Historique et état actuel de la prise en charge de la leucémie myéloïde chronique (LMC) en Algérie

**Rose Marie
HAMLADJI**

Rédactrice en chef
Revue Algérienne d'Hématologie

L'évolution du traitement de la leucémie myéloïde chronique s'est déroulée en 3 étapes qui ont été fonction principalement des possibilités d'accès aux différents traitements, de ce fait elle a réalisé un parcours particulier qui n'est comparable à aucun autre. Tout d'abord, les traitements palliatifs (Busulfan à partir de 1962, puis Hydroxyurée dès 1965) ont été les seuls utilisés jusqu'en 1998, année où les premières allogreffes à conditionnement myéloablatif ont été réalisées [1], puis en 2001 les greffes à conditionnement atténué ont été introduites. Ce type de greffe nous a conduit à mettre au point la technique de biologie moléculaire : la RT-PCR qualitative, nécessaire au diagnostic et la RT-PCR quantitative en temps réel permettant le suivi moléculaire de la maladie résiduelle [2]. L'allogreffe est restée le traitement de référence, chez tout patient âgé de moins de 60 ans, atteint de LMC, possédant un donneur génodentique jusqu'en décembre 2007. Les résultats à long terme de l'allogreffe ont été évalués en décembre 2014 [3] chez 272 patients après un suivi médian de 80 mois, avec des survies actuarielles globales à 5 ans et à 12 ans, respectivement de 64% et 55,5% et un taux de rechute à 10%. Ce n'est qu'en 2005 que le premier inhibiteur de tyrosine kinase (ITK), l'Imatinib (Imatib* indien) a été introduit en Algérie et utilisé chez les patients atteints de LMC n'ayant pas de donneur génodentique. L'utilisation de cette molécule a été validée par deux études simultanées [4, 5] qui ont permis de montrer son efficacité et sa tolérance, comparables à celle de la molécule princeps. C'est à partir de ces résultats que la décision a été prise d'arrêter l'indication de l'allogreffe dans la LMC en première phase chronique, à partir de décembre 2007, ce qui a été rigoureusement appliqué car il n'existait qu'un seul centre dédié à ce traitement sur le territoire national. C'est donc à partir de 2007, que le traitement par Imatinib a pu être disponible et dispensé à tous les patients atteints de LMC, quel que soit leur âge et l'allogreffe n'a été réservée à partir de 2008 qu'aux patients atteints de LMC en phase avancée ou résistant/intolérants aux ITK. C'est ainsi que de 2008 à 2014, seulement 23 allogreffes génodentiques ont été réalisées dans la LMC [6 à raison de 2 à 4 par année. Cette diminution a suivi l'évolution observée dans les pays européens à partir de 2004 [7] et de 2003 aux USA [8] mais avec un retard de 4 années dans notre pays (Figure 1).

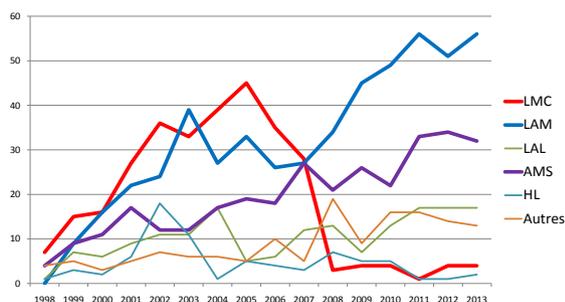


Figure 1 : Evolution des allogreffes pour LMC.

Cependant nous avons été parmi les premiers à utiliser sur une large échelle une molécule qui n'était pas la molécule princeps et qui n'est devenue que très récemment un générique. L'état actuel de la prise en charge de la LMC est abordé dans cette revue sous 3 aspects : l'approche épidémiologique, les résultats du traitement par l'Imatib* et les progrès dans le diagnostic et le suivi de la maladie. Tout d'abord la mise à jour du profil épidémiologique et son évolution dans le temps [9]. L'incidence globale en Algérie est passée de 0,4/100 000 ha en 2004 à 0,53 en 2014, comparable à celle retrouvée en Tunisie, qui est de 0,50 en 2014. Par contre en ce qui concerne la prévalence en 2014, elle est de 1030 cas en Algérie avec un taux de 2,5/100 000 ha et de 227 cas en Tunisie avec un taux de prévalence de 0,23/100 000 ha, cette différence peut être expliquée par la particularité, du système de santé algérien qui ouvre la possibilité de traitement à tous les patients quel que soit leur statut social. L'évaluation, quant à elle, de l'efficacité et de la tolérance de l'Imatib*, produit 10 fois moins coûteux que la molécule princeps, a fait l'objet de 2 études rétrospectives portant sur des pts présentant une LMC en première phase chronique suivis sur des périodes respectivement de 8 ans et 12 ans avec une répartition comparable selon les scores de Sokal. La première étude multicentrique [10] concerne l'ensemble des patients (1007 cas) recrutés entre 2007 à 2013, avec un suivi moléculaire n'ayant été assuré que chez 22% des pts à 6 mois, 32,5% à 12 mois, 20% à 18 mois et 24% à 24 mois avec une RMM cumulative (BCR/ABL <0,1%) quel que soit le temps de suivi, à 55,4% à 12 mois, 75,7% à 18 mois et 85% à 24 mois. Les survies actuarielles globale et sans événement sont respectivement de 84% et 76% à 8 ans avec des différences significatives en fonction du score de Sokal et 107 pts (10,6%) ont été switchés vers un ITK2. La seconde étude monocentrique [11] porte sur 222 pati-

ents recrutés de 2005 à octobre 2017, tous en première phase chronique traitée par Imatinib 400mg. Les résultats montrent chez 204 pts (92%) ayant atteint 3 mois de traitement, une RHC et une RMM à 6 mois de 46,5%, à 12 mois de 65% est à 24 mois de 80%% chez respectivement 172, 155 et 124 pts. Les survies actuarielles globale et sans événement sont respectivement de 88,6% et 77% à 12 ans. Une différence significative en fonction du score de Sokal n'est retrouvée qu'entre les faibles et les hauts risques et que 142 pts/204 (69,5%) sont toujours traités par Imatinib 400 mg dont 72 sont en RMM4 et 7 en RMM3 au-delà de 3 ans de traitement avec un risque de progression nul au-delà de 6 ans. Seize pts (7%) ont été switchés vers un ITK2. Quant aux progrès effectués dans le diagnostic et le suivi de la maladie, ils font l'objet de 2 travaux :

- Le diagnostic précis par RT-PCR qualitative mis au point dans un 2ème centre algérien qui confirme l'intérêt majeur de cette méthode de préciser non seulement les types de transcrit classiques b3 a2 et b2 a2 mais aussi de dépister les variantes rares [12]

- Quant à l'autre étude elle concerne le suivi moléculaire par RT-PCR qui est en fait la seule méthode efficace pour évaluer la maladie résiduelle. Il s'agit de l'étude quantitative de la méthode automatique par l'Xpert BCR-ABL et la démonstration de l'efficacité supérieure de la forme améliorée BCR-ABL Ultra (G x V2) par rapport à la précédente BCR-ABL Monitor Gx. La comparaison des résultats de ces 2 méthodes avec ceux obtenus avec la méthode de référence par RT-PCR quantitative en temps réel standardisée, selon le programme de l'EAC a montré la bonne corrélation entre la méthode de référence et la forme améliorée de la méthode automatique pour l'évaluation de la réponse moléculaire majeure (RMM) de 93%, pour la RM4 de 91% et pour la RM4.5 de 83% [13] ce qui va permettre à la majorité des centres algériens équipés de l'appareil Gene Expert Dx System (Céphéid) d'évaluer de manière précise l'évolution de leurs patients sous traitement.

Au terme de cet état des lieux les propositions que l'on peut faire en fonction des résultats thérapeutiques obtenus et des possibilités élargies du suivi moléculaire sont d'une part en raison du nombre élevé de patients à traiter dont le nombre va atteindre 2269 en 2020 et de l'efficacité de l'Imatib* d'autre part, il apparaît raisonnable de continuer à traiter nos pts par cette molécule. La question posée est la suivante : peut-on en améliorer les résultats ?

- La première piste est l'adaptation de la dose à adminis-

trer .En ce qui concerne les patients à faible risque et à risque intermédiaire de Sokal, la dose de 400 mg paraît adaptée en raison des résultats excellents obtenus avec une augmentation de la dose à 600 mg seulement dans les situations suivantes : en cas de réponse moléculaire insuffisante (>10% à 6 mois), en l'absence de RMM à 12 mois ou en cas de perte de RMM. Par contre chez les patients à haut risque de Sokal la dose de 800 mg d'emblée pourrait apporter une amélioration des réponses bien que les résultats obtenus par différentes études ne soient pas concordants. La 1ère étude menée de 2000 à 2005 [14] bien que non randomisée, a montré un bénéfice en terme de réponse moléculaire complète par rapport à la dose de 400 mg, avec de plus à 3 ans un risque moindre de transformation et de résistance. Deux autres études randomisées, l'une chez les patients à haut risque [15] et l'autre chez tous les pts [16], n'ont pas montré de bénéfice à long terme, bien que la CCyR et la RMM soient plus précoces avec cependant un bénéfice significatif pour les pts chez lesquels il est possible de maintenir la dose de 800 mg. Enfin, une dernière étude[17] a montré que le bénéfice portait sur l'amélioration de la survie sans rechute. Ainsi il apparaît intéressant de proposer la dose de 800mg d'emblée chez les sujets à haut risque, avec une surveillance attentive des effets secondaires et leur prise en charge adéquate afin d'améliorer la tolérabilité pour obtenir des résultats optimaux.

- L'autre approche qui pourrait être proposée est celle de l'association Imatinib 400 mg-Interféron pégylé à la dose de 45 µg par semaine, en se basant sur les résultats de l'étude SPIRIT [18] dont les résultats montrent avec un suivi médian de 60 mois une survie globale et sans progression respectivement de 94% et 93%. L'utilisation des ITK2 en première intention quant à elle n'est toujours pas envisageable en raison des résultats déjà obtenus avec l'Imatinib 400 et du coût toujours prohibitif de ces produits par rapport à nos budgets. Le passage aux ITK2 restant réservé aux pts résistants ou intolérants à l'Imatinib ce qui ne représente que 10% de nos patients. L'allogreffe quant à elle restant réservée aux patients résistants / intolérants à la fois à l'Imatinib et aux ITK2 (Dasatinib et Nilotinib) et bien sûr aux pts ayant acutisé.
- Enfin une autre perspective à envisager actuellement est la possibilité suggérée par l'étude récente DESTINY [19], d'une désescalade thérapeutique chez les pts traités par Imatinib 400 mg en RM4 (Ratio BCR-ABL1 : ABL1 <0,01%) depuis au moins 3 ans et ayant un minimum de 3 PCR de <0,01% au cours des 12 derniers mois, avec d'abord une diminution de la dose à 200 mg pendant 12

mois, une rechute moléculaire n'ayant été observée que chez 2% des pts avec restitution de la réponse en MR3 au bout de 4 mois après reprise de la dose complète.■

RÉFÉRENCES

- 1.Ramaoun M. Allogreffe de cellules souches hématopoïétiques génoidentiques dans la leucémie myéloïde chronique. Thèse DESM, Alger, 07/01/2006.
- 2.Benakli M. Greffe allogénique non myeloablative génoidentique. Thèses DESM, Alger, le 19/06/2005.
- 3.Hamladji R-M, Benakli M, Ahmed-Nacer R, Harieche F et al. Evaluation of 272 patients with chronic myeloid leukemia who underwent allogenic stem cells transplantation between 1998 and 2007. 41 st Annual Meeting of European Society for Blood and Marrow Transplantation EBMT 22-25 March 2015 – Istanbul .
- 4.Harieche F, La RT-PCR quantitative en temps réel : application au diagnostic et à l'étude de la maladie résiduelle dans les leucémies myéloïdes chroniques Thèse DESM, Alger ,20/10/2008.
- 5.Abdennebi-Mansour.N, Le traitement de la leucémie myéloïde chronique en première phase chronique par l'Imatinib chez les patients n'ayant pas de donneur HLA compatible. Thèse DESM, Alger, le 30/11/2010.
- 6.Zerkout.S, Benakli M, Mehdi F et al. Allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) chez 23 patients atteints de leucémie myéloïde chronique (LMC) en phase avancée au résistants /intolérants aux inhibiteurs de tyrosine (ITK). Revue Algérienne d'Hématologie, 2017, n° 12.
- 7.Gratwohl A,Brand R, Appectley J et al. Allogenic hematopoietic Stem cell transplantation for chronic myeloid leukemia in Europe 2006: Transplant activity, long term and current results. An analyses for the chronic Leukemia Working Party of the EBMT Haematologica 2006, 91: 513-21.
- 8.Giralt SA, Arora M, Goldman JM et al. Impact of Imatinib therapy on the use of allogenic haematopoietic progenitor cell transplantation for the Treatment of chronic myeloid leukemia Br J Haematol 2007, 137: 461-7 .
- 9.Djouadi .K et al. Approche épidémiologique de la leucémie myéloïde chronique : étude algéro tunisienne à propos de 1195 cas sur 5 ans (2.010 à 2.014) Revue Algérienne d'Hématologie, 2017, n° 12.
10. Djouadi K et al. Evaluation du traitement par Imatinib (Imatib*) des patients suivis pour LMC en Algérie : étude nationale multicentrique, exhaustive et rétrospective sur 7

ans (2.007 à 2.013) à propos de 1007 cas. Revue Algérienne d'Hématologie, 2017, n° 12.

11. Abdennebi N , Harieche F, Boukhemia F et al. Résultats à 12 ans du traitement de la leucémie myéloïde chronique en 1ère phase chronique chez 222 patients par l'Imatinib 400 mg (Imatib*). Revue Algérienne d'Hématologie, 2017, n° 12.

12. Nachi M , Guella D, Abed A et al. Recherche des différents transcrits de fusion BCR/ABL1 par RT-PCR qualitative multiplex : intérêt diagnostique chez les patients atteints de leucémie myéloïde chronique. Revue Algérienne d'Hématologie, 2017, n° 12.

13. Harieche F, Abdennebi N, Boukhemia F et al. Quantification du transcrit BCR-ABL avec Xpert BCR-ABL Monitor Assay Xpert BCR-ABL Ultra (Cepheid). Revue Algérienne d'Hématologie, 2017, n° 12.

14. Allatar M, Kantarjian H, Jabbour E et al Clinical significance of complete cytogenetic response (CCyR) and major molecular response (MMR) achieved with different treatment modalities used as front line therapy in chronic myeloid leukemia (CML) chronic phase (CP) [abstract] Blood (ASH Annual Meeting Abstracts) 2011; 118 abstract 745.

15. Baccarini M, Roste G, Castognetti F et al. Comparison of

imatinib 400 mg and 800 mg daily in the front line treatment of high-risk Philadelphia positive chronic myeloid leukemia: a European Leukemia study. Blood 2009 ; 119 4497-4504.

16. Cortes JE, Kantarjian HM, Goldberg SL et al High-dose imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia : high rates of rapid cytogenetic and molecular responses J.Clin. Oncol. 2009; 27: 4734-4759.

17. Hehlmann R, Lausekor M, Jung-Munkwitz S et al Tolerability-adapted Imatinib 800 mg/d versus 400 mg/ d versus 400 mg/d plus Interferon-alpha in newly diagnosed chronic myeloid leukemia J.Clin. Oncol. 2011; 29: 163- 1642.

18. Guilhot F, Rigal / Huguet F, Guilhot J et al Long term outcome of chronic phase chronic myeloid leukemia (CP CML) patients (pts) from the French Spirit study comparing Imatinib (IM) 400 mg to higher dose Imatinib or combinaison with Peg-interferon α2 (Peg IFN) or cytarabine (Ara-C): A trial of the FLMC (France intergroupe de la leucémie myeloïde chronique). Blood. 2014; 124: 1793.

19. Clark RE, Polydoros F, Apperly Jf et al De-escalation of tyrosine kinase inhibitor dose in patients with chronic myeloid leukemia with stable major molecular response (DESTINY): on interim analysis of a non-randomized, phase 2 rial. Lancet Haematol. 2017, 4: e310-6.

Approche épidémiologique de la Leucémie Myéloïde Chronique étude Algéro-Tunisienne à propos de 1349 cas sur 05 ans (2010 à 2014)

K.Djouadi¹, N. Abdennebi², F.Hariche², R.Ahmed Nacer², R.M. Hamladji², A.Bouchakour³, S.Taoussi³, M.T.Abad³, F/Z .Touil⁴, S.Hamdi⁴, S.Boughrira⁵, F.Griffi⁵, Kerrar⁶, I.Allam⁶, O .Djiddjik⁶, N. Boudjerra⁶, M.Belhani⁶, S.Gherras⁷, A.Graine⁷, H .Ait Ali⁷, B.Entasoltane⁸, M .Brahimi⁸ M.A.Bekadja⁸, R Ben Lakhel⁹, B Meddeb⁹, Z.Ouchenan¹⁰, N.Sidi-Mansour¹⁰, Kacha¹¹, Tibermacine¹¹, M.Saidi¹¹, M.Mehalhal¹², A.Z.Brahimi¹³, L.Touati¹³, N.Lakhdari¹³, D .Saber-cherif¹, Y.Meddour¹, S .Chaib¹, F/Z.Ardjoun¹, Bellaj¹⁴, K.Taibi¹⁵, EH.Touham¹⁵, H Z .Manai¹⁶, Benzineb¹⁷, N. Mesli¹⁷, A. Maghraoui¹⁸, S .Hadjeb¹⁸, Z.Zouaoui¹⁸, S .Baghdad¹⁹, Bachiri¹⁹, M.A.Laatiri²⁰, Attari²¹, D . Lamara²¹, B.Bendjaballah²¹, H. Ghédira²², Y Ben Youssef²³, A.Trabzi²⁴, S Menif²⁵, T. Ben Othman²⁶, M.Benakli²⁷.

¹Hôpital Central de l'Armée Mohammed Seghir Nekkache Alger, ²EHU CPMC, ³CAC Blida, ⁴CHU Sétif, ⁵CHU Annaba, ⁶CHU Beni-Messous, ⁷CHU Tizi-Ouzou, ⁸EHU Oran, ⁹Hôpital Aziza Othmana Tunis, ¹⁰CHU Constantine, ¹¹CAC Batna, ¹²EPH Constantine, ¹³CHU Bejaïa, ¹⁴Hôpital hedi chaker sfax, ¹⁵CHU Oran, ¹⁶Hôpital Rabta tunis, ¹⁷CHU Tlemcen, ¹⁸CHU Sidi Belabes, ¹⁹Hopital militaire regional d'Oran, ²⁰Hôpital Fettouma Bourguiba Monastir, ²¹Hôpital militaire régional de Constantine, ²²Hôpital militaire Tunis, ²³Hôpital Farhet Hached Sousse, ²⁴Pédiatrie Beni Messous, ²⁵Institut Pasteur de Tunis.²⁷Président de la SAHTS.

RESUME

La Leucémie myéloïde chronique (LMC) représente 7 à 15% des leucémies chez l'adulte, Son incidence en Algérie est 0,4/100000 habitants en 2009. Sa prévalence dans le monde est en progression depuis l'avènement des anti-tyrosines kinases. Dans cette étude, nous essayons d'établir une approche épidémiologique Algéro-tunisienne, de la LMC et de connaître les caractéristiques de cette affection dans les deux pays. Il s'agit d'une étude rétrospective, longitudinale, multicentrique, ayant inclus les patients algériens et tunisiens présentant une LMC diagnostiquée entre janvier 2010 et décembre 2014. Nous avons colligé 1349 fiches, dont 325 provenant de 06 services d'hématologie de Tunisie et 1024 de 18 services d'Algérie. L'incidence dans la population Algéro-tunisienne est de 0,67 /100000 habitants avec un taux de prévalence de 2,72 /100000 habitants. L'incidence globale en Tunisie est de 0,50 /100000 habitants. En Algérie l'incidence globale est de 0,53/100000 habitants. L'âge médian au diagnostic est de 48 ans avec des extrêmes allant de 03 à 90ans, on note un pic de fréquence dans la tranche d'âge (45-49ans) avec une légère prédominance masculine, sex ratio homme /femme de 1,2. Le caryotype : 38,1% (n=444), le chromosome Philadelphie est retrouvé dans 423 cas (95,3 %), des anomalies additionnelles sont retrouvées dans 17 cas (3,8%). La Fish est pratiquée dans 281 cas (24,1%) et le transcrite bcr /abl est retrouvé dans 257 cas (91,4 %). La biologie moléculaire est pratiquée dans 672 cas (57,7 %) le transcrite bcr /abl est retrouvé dans 100% des cas, le type de transcrite est précisé dans 373 cas, il est de type b2a2 dans 159 cas (42,6 %), de type b3a2 dans 180 cas (48,3%) et d'autres transcrits dans 34cas (9,1 %). La LMC est diagnostiquée en phase chronique dans 88,8% (n=1051), en accélération 9% (n=107), en phase d'acutisation : 3,1% (n=37). La répartition des patients selon la classification pronostique de Sokal (n= 948) retrouve une prédominance du risque intermédiaire : 54 % (n=511), haut risque (n=287) 30,3 %, faible risque 16 % (n=152). Le score Eutos est précisé dans 769 cas (66 %), il est inférieur à 87 dans 661 cas (86%) et supérieur à 87 dans 108 cas (14 %).

INTRODUCTION

LA LEUCÉMIE MYÉLOÏDE CHRONIQUE représente approximativement 7 à 15% des leucémies de l'adulte selon les séries publiées. Son incidence dans le monde varie en fonction des pays, la plus basse incidence est de 0.7 retrouvée en Suède et en Chine et la plus haute est de 1.7 retrouvée en Suisse et aux États Unis [1]. En Algérie, elle est estimée à 0,4 /100 000 habitants en 2004, et à 0,46 /100 000 en 2009. Sa prévalence est en progression dans le monde depuis l'avènement des anti-tyrosines kinases. Dans cette étude, nous essayons d'établir une approche épidémiologique Algero-Tunisienne, de la LMC et de connaître les caractéristiques de cette affection de façon comparative dans les deux pays maghrébins.

MATERIELS ET METHODES

Il s'agit d'une étude rétrospective, longitudinale, multicentrique, Ayant inclus les patients algériens et tunisiens présentant une LMC diagnostiquée entre janvier 2010 et décembre 2014. Nous avons établie une fiche technique, diffusée aux différents services d'hématologie d'Algérie et de Tunisie, permettant de recueillir les données suivantes et de les analyser : Les caractéristiques générales des patients, la profession, les circonstances de découverte de la maladie, l'examen clinique et les examens para-cliniques au diagnostic : hémogramme, frottis sanguin, ponction de moelle osseuse, cytogénétique, biologie moléculaire, phase de la maladie et la classification pronostique selon le score de Sokal

Tests bio-statistiques : calcul de l'incidence, la prévalence et le taux de prévalence ou prévalence relative (rapportée à 100000 habitants /an). L'analyse descriptive des variables quantitatives par le calcul des moyennes et médianes. L'analyse descriptive des variables qualitatives en pourcentages et intervalle de confiance à 95%. Le test du Chi2 est utilisé pour comparer entre deux variables.

Tableau 1 : Variation de l'incidence de la LMC dans la population Algéro-Tunisienne entre 2010 et 2014.

Année	Algérie		Tunisie		Population Algéro-Tunisienne	
	Cas	Incidence	Cas	Incidence	Cas	Incidence
2010	200	0,56	67	0,47	267	0,58
2011	207	0,56	69	0,48	276	0,72
2012	189	0,50	81	0,57	270	0,72
2013	219	0,57	46	0,50	265	0,68
2014	185	0,48	64	0,49	217	0,59
Global	200	0,53	65	0,50	259	0,67

RÉSULTATS

Nous avons colligé 1349 fiches, dont 325 provenant de 06 services d'hématologie de Tunisie et 1024 cas provenant de 18 services d'Algérie.

Incidence globale

L'incidence globale de cette affection dans la population Algéro-tunisienne est de 0,67 /100000 habitants avec un taux de prévalence de 2,72 /100000 habitants. L'incidence globale en Tunisie est de 0,50 /100000 habitants. En Algérie l'incidence globale est de 0,53/100000 habitants. Cette incidence est restée relativement stable de 2010 à 2014 (Tableau 1).

Incidence en fonction du sexe

L'incidence de la LMC dans la population algéro-tunisienne masculine est comme suit : 0,49 /100000habitants en 2010, 0,55 en 2011, 0,51 en 2012, 0,52 en 2013 et 0,52 en 2014. Dans la population féminine elle est comme suit : 0,50 en 2010, 0,48 en 2011, 0,37 en 2012, 0,48 en 2013 et 0,45 en 2014 (tableau 2).

Tableau 2 : Variation de l'incidence de la LMC dans la population Algéro -tunisienne en fonction du sexe.

Année	Masculin		Féminin		Total	
	Nbre	Incidence	Nbre	Incidence	Nbre	Incidence
2010	116	0,49	116	0,50	232	0,50
2011	133	0,55	114	0,48	247	0,52
2012	125	0,51	90	0,37	215	0,44
2013	126	0,52	121	0,48	246	0,50
2014	132	0,52	85	0,45	217	0,43

Prévalence

Le taux de prévalence de la LMC dans la population algéro-tunisienne est de 2,72 /100000 habitants, la prévalence

nce en 2014 est de 227 cas avec un taux de prévalence de 0,23 /100000 habitants, et en Algérie, elle est de 1030 cas avec un taux de prévalence à 2,6/100000 habitants.

Répartition en fonction de L'âge

L'âge médian au diagnostic est de 48 ans avec des extrêmes allant de 03 à 90ans, on note un pic de fréquence dans la tranche d'âge allant de 45 à 49ans, (fig1 & 2). La population au dessous de 14 ans représente 0,5%, la population au dessus de 65 ans est de 16,2% et la population entre 15 et 64 ans représente 83,3%. Dans la population algérienne, le pic de fréquence se situe entre 45 et 49 ans et dans la population tunisienne, il est entre 50 et 59 ans.

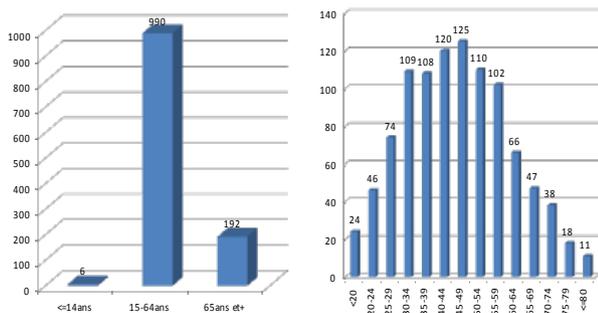


Fig 1 : Répartition de tous les patients en fonction de l'âge.

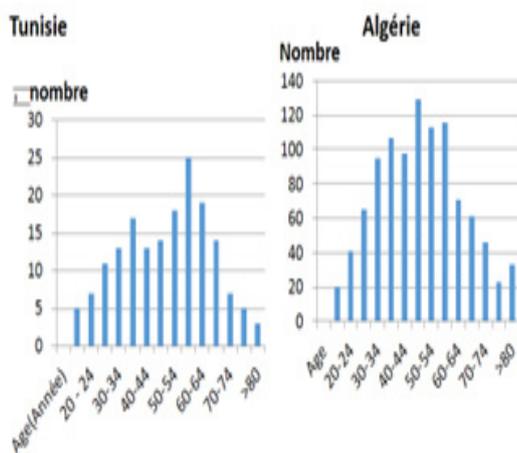


Fig 2 : Répartition des patients algérien et tunisien en fonction de l'âge de façon comparative.

Répartition en fonction du sexe

Le sexe est précisé dans 1165 cas, on note 637 hommes et 528 femmes avec un sexe ratio de 1,2. La répartition des patients algero-tunisiens selon le sexe et par année est résumée dans le tableau 3.

Tableau 3: Répartition des patients selon le sexe par année.

Année	Masculin		Féminin		Sex ratio
	Effectif	%	Effectif	%	
2010	116	50	116	50	1
2011	133	53,8	114	46,2	1,1
2012	125	58,1	90	41,9	1,4
2013	126	51	121	49	1,04
2014	132	60,8	87	39,2	1.57
Total	637	54,6	528	45,5	1,2

Répartition des patients selon la profession

La profession est précisée dans 475 cas. On retrouve une notion d'exposition à un toxique dans 23 cas soit 4%, il s'agit d'une exposition au benzène dans 11cas, aux radiations ionisantes dans 02 cas, aux rayons X dans 01 cas et non précisé dans 09 cas.

Caractéristiques cliniques de tous les patients Algéro-Tunisiens

Délai entre le début des troubles et la date du diagnostic

Le délai séparant le début des troubles de la date du diagnostic varie de 1 à 667 jours, il est en moyenne de 127 jours.

Les circonstances de découverte

Une découverte fortuite est retrouvée dans 30,5% (n=355), une splénomégalie dans 39,7 % (n=463), une asthénie dans 24,6 % (n=287), une complication dans 8,4% (n=95), dans 431 cas soit 37%, on retrouve d'autres symptômes : un amaigrissement, des ADP cervicales, des douleurs articulaires, des douleurs osseuses, fièvre, infection pulmonaire, pâleur cutanéomuqueuse et des vomissements (Tableau 4).

L'examen clinique au diagnostic

On retrouve des signes généraux dans 424 cas (36,4%): Amaigrissement 22,6% (n=263), Sueurs profuses 13,8% (n=13 ,8%). Les douleurs osseuses sont retrouvées dans

Tableau 4 : Circonstances de découverte.

Circonstance	Nombre de patients (%)
Découverte fortuite	355 (30,5 %)
Splénomégalie	463 (39,7 %)
Asthénie	287 (24,6 %)
Thrombose	7 (0,6 %)
Hémorragie	84 (7,2 %)
Crise de goutte	4 (0,3%)
Autres	431 (37,0 %)

81,7% (n=952) avec un débord splénique moyen de 11,5±5,3 cm (1 à 28 cm).des hémorragies cutanées et sous cutanées (ecchymoses et hématomes) 13,5% (n=97), thrombose : 0,9% (n=09), crise de goutte : 0,8% (n=9).Tableau 5.

Tableau 5 : Signes cliniques.

Signes cliniques	Nombre de patients (%)
Amaigrissement	263 (22,6 %)
Sueurs profuses	161 (13,8 %)
Asthénie	516 (44,3 %)
Douleurs osseuses	91(7,8 %)
Splénomégalie	952 (81,5%)
Débord splénique	de 1 à 28 cm en moyenne 11,5±5,3 cm
Hémorragie	97(13,5%)
Thrombose	11 (0.9%)
Crise de goutte	9 (0,8%)
Autres signes	165 (14,2%)

Tableau 6 : Analyse quantitative des différents paramètres de la moelle osseuse.

Examen	Nombre	Valeurs extrêmes	Moyenne	Ecart type	Médiane	Quartiles	
						Q1	Q3
Erythroblastes	524	0 à 82%	10,5%	9 %	9%	5%	13%
Granuleux	532	1% à 99%	76,5%	17,1%	81%	70%	88%
Blastes	570	0% à 30%	3,6%	4,2%	2%	1%	5%

Les caractéristiques biologiques des patients Algéro-Tunisiens

Données hématimétriques

L'hémogramme est pratiqué chez tous les patients (n=1349), le taux moyen des globules blancs 171, 223 G/L avec des extrêmes allant de 34 ,700 à 984, 800 G /L, Le taux d'hémoglobine moyen 10,2g /dl (4 à 17g /dl), plaquettes 394 ,070 G /L (85 à 1340 G /L). Le frottis sanguin est pratiqué chez 1121 sujets (96,3 % des cas). L'équilibre leucocytaire montre la prédominance des polynucléaires (PN) neutrophiles, le taux moyen des PN est de 41%, avec des valeurs extrêmes allant de 20 à 97%. Le taux de myélemie moyen est de 43% avec des valeurs extrêmes allant de 10 à 98 %.

Moelle osseuse

Cet examen est pratiqué chez 641 sujets (55,0 %) L'analyse quantitative des différents paramètres est détaillé dans le tableau 6.

Caryotype

Il est pratiqué chez 38,1% des patients (n=444), le chromosome Philadelphie est retrouvé dans 423 cas (95, 3 %), des anomalies additionnelles sont retrouvées dans 17 cas (3,8%), il s'agit d'une délétion du chromosome 9 chez 15 patients, d'une duplication du chromosome Philadelphie dans un cas et d'une trisomie 8 dans un cas.

Biologie moléculaire

Cet examen est réalisé chez 672 sujets (57,7 % des cas). Le transcrit bcr /abl est retrouvé dans 100% des cas, le type de transcrit est précisé dans 373 cas, il est de type b2a2 dans 159 cas (42,6 %), de type b3a2 dans 180 cas (48,3%) et d'autres transcrits dans 34cas (9,1 %) dont le type exacte est non précisé.

Hybridation in situ (FISH)

Examen réalisé chez 281 sujets (24,1% des cas).Le

transcrit bcr-abl est Positif dans 257 cas (91,4 %) et Négatif dans 10 cas (3,6 %) et non précisé dans 14 cas (5,0%).

Statut de la LMC au diagnostic

Phase de la LMC

La LMC est diagnostiquée en phase chronique dans 88,8% (n=1051), en accélération dans 9% (n=107), et en phase d'acutisation dans 3,1% (=37).

Classification selon le score de Sokal

La répartition des patients selon la classification pronostique de Sokal est précisée dans 950 cas. Les patients sont repartis comme suit : faible risque 16 % (n=152), risque intermédiaire : 53,8 % (n=511) et haut risque (n=287) 30,2 % (Tableau 7). Dans la cohorte algérienne le risque intermédiaire est majoritaire : 55,5%, alors que dans la population tunisienne, c'est le haut risque qui a prédominé : 41% (fig1).

Classification selon le score d'Eutos

Il est précisé dans 769 cas (66 %), il est inférieur à 87 dans 661 cas (86%) et supérieur à 87 dans 108 cas (14 %).

Tableau 7 : répartition des patients Algériens et Tunisiens selon la classification pronostique de Sokal.

Score	Algérie	Tunisie	P	Total
Faible	121 (18,7%)	31 (20,9%)	P=0,23	152 (16,0 %)
Intermédiaire	316 (55,5%)	195 (38%)	P=0,01	511 (53,8 %)
Haut	170 (25,8%)	117 (41%)	P=0,02	287 (30,2 %)
Total	607	343		950

DISCUSSION

La LMC reste une affection rare au sens de la définition donnée par le groupe RARE care cancer qui considère qu'un cancer est rare si son incidence est inférieure à 6/100 000 habitants/an [1]. L'incidence de la LMC dans le monde varie de 0,7 à 2/100000 habitants /an selon les données recueillies dans les différents registres [2]. Cette incidence varie en fonction des pays, la plus basse incidence est de 0.7 retrouvée en suède et en chine et la plus haute est de 1.7 à 2 retrouvée en suisse et aux Etats Unis [1, 2]. Il se pourrait qu'il y ait des variations de l'incidence en fonction de la distribution géographique et ethnique. En Algérie elle est estimée à 0,4 /100 000 habitants en 2004 [3], et à 0,46 /100 000 en 2009 [3].

Dans la population algero-tunisienne, elle de est de 0,67/100000 habitants ces chiffres restent en deçà des données publiées, ce qui fait de ces deux pays des zones de faible incidences de la LMC. Le taux de prévalence de la LMC dans la population Algéro -tunisienne est de 2,72 /100000 habitant, soit 1270 cas de LMC en 2014. Le taux de prévalence est différent dans les deux pays, en effet en Algérie il est de 2,6/100000 habitants alors qu'il n'est que de 0,23 /100000 habitants en Tunisie ce qui pourrait, peut être, s'expliquer par la différence des systèmes de santé dans les deux pays et la disponibilité des ITK pour tous les patients y compris les patients sans assurance sociale en Algerie. Cette prévalence est en progression dans le monde depuis l'introduction des anti- tyrosine kinase dans le traitement de la LMC qui améliorent considérablement la survie. En effet, en Algérie la prévalence passe de 472 cas en 2004 à 1030 cas en 2014 et les prévisions pour 2020 sont de 2269 cas. Au États-Unis, la médiane de survie des patients suivis pour LMC est passée de 90 à 210 mois [4]. En France, l'augmentation du taux de survie retentit sur l'augmentation de la population générale [4]. Selon le registre suédois, entre 1985 et 2012, le taux de prévalence passe de 3.9 à 11.9/ 100 000 habitants et la Prévalence prédictive en 2060 est de 22 cas/100,000 habitants [5]. Dans la population Algéro-Tunisienne, La LMC, reste une affection de l'adulte jeune puisque l'âge médian est de 48 ans, avec un pic de fréquence qui se situe entre 45 et 49 ans. Ce dernier se situe entre 57-60 ans selon les séries publiées [6, 7]. Une légère prédominance masculine est retrouvée dans notre série avec un sexe ratio de 1,2, ce dernier varie entre 1,4 et 2,2 dans les séries de la littérature [6, 7 ,8].

La notion d'exposition professionnelle n'est retrouvée que dans 4%, mais les modalités d'exposition au risque en termes de niveaux et de durée restent méconnues, alors que ce sont des critères d'imputabilité très importants [6, 9]. Le délai moyen entre les premiers symptômes et le diagnostic reste relativement trop long 127 jours, ce qui expliquerait probablement les caractéristiques clinico-biologiques des patients. En effet, on note une prédominance des formes tumorales, la présence de la splénomégalie est quasi-constante, elle est retrouvée dans 81,7% (n=952) avec un débord splénique moyen de 11,5±5,3 cm (1 à 28 cm), le taux moyen des globules blancs est de 171, 223 G/L et le taux moyen de myélémie est de 43%. Ce qui explique également la répartition des patients Algéro-Tunisiens selon le score de Sokal avec une

prédominance des hauts risques et intermédiaires alors que les hauts risque selon le registre européen ne représentent que 24% [10]. La classification selon le score Eutos retrouve un score inférieur à 87 dans 661 cas (86%) et supérieur à 87 dans 108 cas (14 %), il serait très intéressant d'évaluer, ultérieurement la corrélation de ce score avec une réponse cytogénétique complète à 12 mois chez nos les patients .

CONCLUSION

L'incidence de la LMC dans la population Algéro-Tunisienne est de 0,67/100000 habitants avec un taux de prévalence 2,72/100000 habitant (une prévalence en 2014 de 1270 cas), ces chiffres restent en deçà des données publiées puisque l'incidence rapportée dans le monde varie de 1 à 2/100000 habitants /an. L'adulte jeune est touché avec prédilection avec un pic de fréquence entre 45 et 49 ans .Le délai moyen, entre le début le la maladie et le diagnostic reste long et ce retard explique probablement, la fréquence des formes tumorales rencontrées chez nous et la prédominance des hauts risques et intermédiaires, selon la classification pronostique de Sokal.■

RÉFÉRENCES

1. Gatta G, et al Rare cancers are not so rare: the rare cancer burden in Europe. *Eur J Cancer* 2011;47(17):2493-511.
2. Höglund M1, Sandin F, Simonsson B. Epidemiology of chronic myeloid leukaemia: an update. *Ann Hematol.* 2015 Apr;94 Suppl 2:S241-7. doi: 10.1007/s00277-015-2314-2. Epub 2015 Mar 27.
3. K. DJOUADI Approche epidemiologique de la LMC en Algerie. *Revue Algérienne d'hématologie* Numéro 03.
4. Kantarjian H et al improved survival in chronic myeloid leukemia since the introduction of imatinib therapy: a single-institution historical experience. *Blood* 2012;119(9):1981-7.
5. Monnereau A, et al. Unbiased estimates of long-term net survival of hematological malignancy patients detailed by major subtypes in France *Int J Cancer* 2013;132(10):2378-87.
6. Gunnarsson N *Eur J Haematol.* 2016 Feb 2. doi: 10.1111/ejh.12743.
7. J. Tanzer, F. Guillot. *Leucémie myeloide chronique L'hématologie de Bernard Dreyfus, Édition 1992 : 619-637.*
8. Cortes JE, Talpaz M, Kantarjian H. Chronic myelogenous leukemia: A review *American journal of Medecine.*1996; 100: 555-570.
9. Williams *Chronic Myelogenous Leukemia and Related Disorders: Overview. Haematology 2007 > Part IX. Malignant Diseases > Chapter 88.*

10. Moloney WC. Radiogenic leukaemia revisited. *Blood* 1987; 70: 905-908.

11. The EUTOS population-based registry: incidence and clinical characteristics of 2904 CML patients in 20 European Countries. *Leukemia.* 2015 Jun;29(6):1336-43. doi: 10.1038/leu.2015.73. Epub 2015 Mar 18. Hoffmann VS1, Baccarani M2, et al.

SUMMARY

EPIDEMIOLOGICAL APPROACH OF CHRONIC MYELOID LEUKEMIA ALGERIAN-TUNISIAN STUDY 1349 CASES OVER 05 YEARS (2010 TO 2014).

Introduction: Chronic myeloid leukemia (CML) accounts for 7%-15% of all leukemias affecting adults. the prevalence in the world is increasing since the advent of tyrosine kinase inhibitors. the incidence in Algeria is 0.4 /100,000 inhabitants in 2009. The aim of this study is to establish an Algerian-Tunisian epidemiological approach of CML and to know the characteristics of the disease in both countries.

Materials and methods: This is a retrospective, longitudinal and multicenter study, including Algerian and Tunisian patients with CML diagnosed between January 2010 and December 2014. Through a data form distributed to various hematology services in Algeria and Tunisia, we collected and analyzed the following information: Patient's general characteristics, profession, circumstances of discovery of the disease, clinical and para-clinical examinations outcomes at the time of diagnosis including blood count, blood smear, bone marrow aspiration, cytogenetics, molecular biology, stages of the disease and the Sokal and Eutos prognostic classification scores.

Bio-statistical tests: calculation of incidence, prevalence and rate of prevalence or relative prevalence (reported to 100 000 inhabitants / year). The descriptive analysis of quantitative variables by calculating means and medians. The descriptive analysis of qualitative variables as percentages and 95% confidence interval. The Chi2 test is used to compare two variables.

Results: We collected 1349 records, including 325 from 06 Tunisian hematology services and 1024 from 18 Algerian services. The incidence of the disease in the Algerian-Tunisian population was 0.67 / 100 000 inhabitants with a prevalence rate of 2.72 / 100 000 inhabitants (Prevalence was 1270 cases in 2014). The incidence in Tunisia was 0.50 / 100 000 inhabitants with a

prevalence of 227 cases in 2014. In Algeria the incidence was 0.53 / 100,000 inhabitants with a prevalence of 1 030 in 2014. The median age at the time of diagnosis is 48 years, ranging from 03 to 90 years, there is a peak incidence in the age group (45-49ans) with a slight male predominance, a male / female sex ratio of 1, 2. The distribution of patients by occupation did not find any notion of risk exposure. The average time between the start of the unrest and the date of diagnosis is 127 days, with a range from 1 to 667 days. The circumstances of discovery are as follows: fortuitous discovery in 30.5% (n = 355), splenomegaly in 39.7% (n = 463), asthenia in 24.6% (n = 287), a complication in 8.4% (n = 95). Clinical examination at diagnosis includes general signs in 424 cases (36.4%): Weight loss 22.6% (n = 263), profuse sweating 13.8% (n = 13, 8%), bone pains found in 7.8%, splenomegaly in 81.7% (n = 952) with an overhang splenic average of 11.5 ± 5.3 cm (1 to 28 cm), cutaneous and subcutaneous bleeding (bruising and hematomas) 13.5% (n = 97), thrombosis 0.9% (n = 09), gout acute attack 0.8% (n = 9). The biological characteristics are as follows: The Complete blood count (n = 1185) shows a white blood cells average rate of 171,223 G/L, with a range between 34, 700 to 984, 800 g/l, hemoglobin average rate of 10.2 g/dl (4 to 17 g/dl), platelets at 394,070 g/l (from 85 to 1340 g/l). Blood smear 96.3% (n = 1121): The average myeloma was 43.2% with extremes from 10 to 98%. The Myelogram is practiced in 55% (n = 641), the average rate of the granular 76, 5% (40-99%), erythroblasts 10.5% (0 to 82%), average

blasts 3.6%. The karyotype 38.1% (n = 444), the Philadelphia chromosome was found in 423 cases (95, 3%); additional abnormalities were found in 17 cases (3.8%). The Fish was practiced in 281 cases (24.1%) and transcribed bcr/abl was found in 257 cases (91.4%). Molecular biology is practiced in 672 cases (57.7%) the transcript bcr / abl is found in 100%, the transcript of the type is specified in 373 cases, it is kind of b2a2 in 159 cases (42.6%), a b3a2 type in 180 cases (48.3%) and other transcribed in 34cas (9.1%). CML chronic phase is diagnosed in 88.8% (n = 1051), acceleration phase in 9% (n = 107) acutisation-phase in 3.1% (= 37). The distribution of patients according to Sokal prognostic classification (n = 948) describes a predominance of intermediate risk in 54% (n = 511), high risk in 30.3% (n = 287) and low risk in 16% (n = 152). The Eutos score is specified in 769 cases (66%), it is less than 87 in 661 is specified in 769 cases (66%), it is less than 87 in 661 cases (86%) and more than 87 in 108 cases (14%).

Conclusion: The incidence of CML in the Algerian-Tunisian population is 0.67 / 100,000 population with a prevalence rate of 2.72 / 100,000 inhabitants (in 2014 a prevalence was 1270 cases), these figures are still below the published data as the reported incidence in the world varies from 1 to 2 hundred thousandths inhabitants / year. The young adult is more affected with a peak incidence between 45 and 49. The average time between the onset of the disease and the diagnosis remains long and the delay probably explains the frequency of tumor forms encountered in Algeria and the prevalence of high and intermediate risk, according to Sokal prognostic classification.

Quantification du transcrit BCR-ABL1 avec la XPERT BCR-ABL monitor ASSAYET XPERT BCR-ABL ULTRA(CEPHEID)

F Harieche, N Abdennebi, F Boukhemia, W Assouak, R Belhimer, F Zerhouni, RM Hamladji,
R Ahmed Nacer.

Service Hématologie Greffe de Moelle, E.H.S Pierre et Marie Curie, Alger.

RESUME

L'essai Xpert BCR-ABL Monitor (Cepheid®) et sa nouvelle version l'Xpert BCR-ABL Ultra (développé en 2015), est un test automatisé qui permet la quantification des deux transcrits chimériques majoritaires de la Leucémie Myéloïde Chronique (LMC) : les transcrits b2a2 et b3a2 (Mbc). Nous avons évalué cet essai en le comparant à la méthode de référence, la PCR quantitative en temps réel après transcription Inverse (RTq-PCR), basée sur le protocole standard de l'EAC (Europe Against Cancer), chez deux séries d'échantillons sanguins de patients LMC traités par des Inhibiteurs de Tyrosine Kinase (ITK) : 34 échantillons ont été testés par l'essai Xpert BCR-ABL Monitor et la méthode EAC (série #1), et 93 échantillons l'ont été par la méthode Xpert BCR-ABL Ultra et la méthode EAC (série #2). Les résultats montrent dans la série #1, une bonne concordance dans les résultats de quantification, jusqu'à un niveau de réponse moléculaire de type RM4 avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,97$. Pour les réponses moléculaires profondes, (RM4.5 et RM5), le niveau de concordance est très faible (28,5 % et 14,2% respectivement) témoignant du manque de sensibilité de la méthode Xpert BCR-ABL Monitor Assay. Dans la série #2, Une meilleure concordance est observée pour des niveaux de réponse moléculaire profonde RM4.5 et RM5 (83% et 70% respectivement) avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,95\%$. Dans sa nouvelle version, l'essai Xpert BCR-ABL Ultra, démontre une sensibilité dans l'intervalle nécessaire à la prise de décisions cliniques : dégression chez les patients ayant achevé une réponse moléculaire de type RM4 ou arrêt de traitement chez des patients ayant achevé une réponse moléculaire de type RM4.5.

INTRODUCTION

LE SUIVI MOLÉCULAIRE DES PATIENTS LMC (Leucémie Myéloïde Chronique), traités par des inhibiteurs de Tyrosine Kinase (ITK) est aujourd'hui essentiel à l'évaluation, la stratification thérapeutique ainsi qu'à la prise de décisions cliniques. Ce suivi moléculaire consiste en la mesure séquentielle (quantification) des niveaux de transcrits BCR-ABL1 (ARNm) par la technique de PCR Quantitative en temps réel après Transcription Inverse : la qRT-PCR ; cette dernière nécessite une standardisation des protocoles et un alignement strict des valeurs de transcrit BCR-ABL1 mesuré sur une échelle internationale (International Scale ou IS) afin de permettre une comparaison des résultats et une reproductibilité inter-laboratoires.[1, 2] Dans ce contexte, l'essai Xpert BCR-ABL Monitor (Gx), développé par Cepheid, a été proposé comme une alternative robuste à la RTq-PCR pouvant aider à améliorer la reproductibilité inter laboratoires. [3, 4] En effet, cet essai est basé sur l'utilisation de cartouches à usage unique, qui intègrent des étapes automatisées d'extraction d'ARN, de transcription inverse et de PCR quantitative pour les transcrits b2a2 et b3a2 BCR-ABL1 et ABL sur des analyseurs automatiques de type GeneXpertDx System. Depuis 2015, une nouvelle version de cette méthode automatisée a été développée : l'Xpert BCR-ABL Ultra (Gx V2). Cette méthode permet une détection reproductible de faibles niveaux de transcrit avec une Limite de Détection (L.O.D) et de Quantification (L.O.Q) prouvées de 4.5 log (<0,0032%). L'objectif de notre étude est de comparer les résultats de la quantification automatisée (Gx et Gx V2) et non automatisée (qRT-PCR protocole EAC) des transcrits BCR-ABL chez des patients LMC traités par des ITK afin de déterminer le niveau de fiabilité des méthodes automatisées (Gx et Gx V2).

ECHANTILLONS BIOLOGIQUES ET MÉTHODES

Echantillons biologiques.

Les échantillons biologiques sont représentés par du sang total provenant de patients LMC, porteurs des transcrits de fusion BCR-ABL de type b2a2 et/ou b3a2, traités par des ITK et suivis en consultation d'Hématologie de l'E.H.S Pierre et Marie Curie. La quantification des transcrits BCR-ABL1 a été réalisée de manière prospective et simultanée par :

- La méthode EAC et la méthode Xpert BCR-ABL Monitor Assay (Gx) pour 34 échantillons, entre Mars et Octobre 2015.
- La méthode EAC et la méthode Xpert BCR-ABL Ultra (Gx V2) pour 93 échantillons, entre Janvier et Septembre 2017. Selon les taux de transcrit BCR-ABL, les patients ont été classés en 5 niveaux de réponse :
 - Absence de RMM : Taux de transcrit BCR-ABL > 0,1% (IS).
 - RMM : Taux de transcrit BCR-ABL ≤ 0,1% (IS).
 - RM4 : Taux de transcrit BCR-ABL ≤ 0,01% (IS).
 - RM4.5 : Taux de transcrit BCR-ABL ≤ 0,0032% (IS)
 - RM5 : Taux de transcrit BCR-ABL ≤ 0,001% (IS).

Méthodes

qRT-PCR. (EAC)

La quantification des transcrits BCR-ABL1 par RT-PCR quantitative en temps réel est effectuée dans notre laboratoire depuis 2004, en suivant de manière stricte et rigoureuse les procédures standardisées du programme de l'EAC (Europe Against Cancer) à toutes les étapes du processus analytique.[5]

- Les échantillons cellulaires sont congelés dans du Trizol et l'extraction des ARN totaux est réalisée par la méthode de Chomczynski et Sacchi. L'efficacité de l'extraction est contrôlée quantitativement par spectrophotométrie UV à 260 et 280 nm et qualitativement après électrophorèse sur gel d'agarose à 1%.

- Durant la phase RT, Les ARN extraits sont Retro-Transcrits en ADN complémentaire grâce à une enzyme spécifique des Rétrovirus : la Transcriptase Inverse.

- La PCR quantitative en temps réel, utilisant les sondes TaqMan pour l'amplification et la quantification du gène BCR-ABL et ABL, est réalisée sur un analyseur de type ABI 7000 et 7500.

Les résultats sont exprimés en Ratio BCR-ABL/ABL (%IS) grâce à un facteur de conversion propre au laboratoire (F= 0.80) validé.

Méthodes Gx (V1 et V2).

Elle est réalisée sur des automates de type GeneXpertDx System (instruments développés par la société Cepheid), qui requièrent l'utilisation de cartouches à usage unique contenant les réactifs de PCR et «abritant» la réaction de PCR. (Figure 1). 200µL de sang total (pour la méthode Gx) et 4mL de sang total (pour la méthode Gx V2) sont lysés selon les recommandations du fabricant ; les lysats sont ajoutés aux cartouches GeneXpert puis analysés sur l'instrument GeneXpert qui réalise la procédure automatisée comme suit :



Figure 1: GeneXpertDx System IV.

- Une extraction des ARN totaux
- Une Reverse transcription des ARN extraits
- Une PCR quantitative en temps réel : il s'agit d'une PCR nichée avec deux couples d'amorces et deux sondes marquées, spécifiques des gènes BCR-ABL et ABL. (Figure 2).

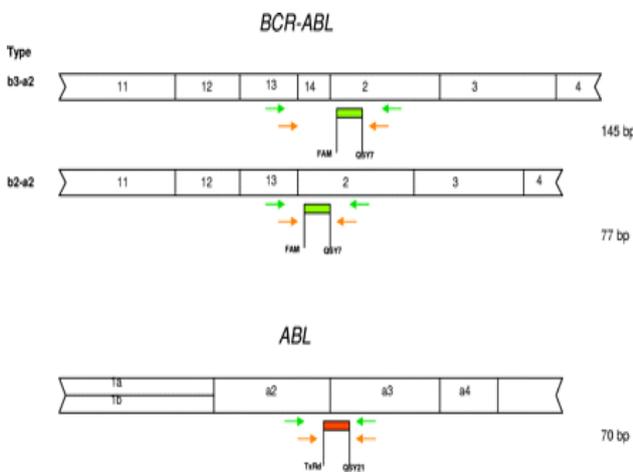


Figure 2 : Set amorces et sondes dans le système CepheidXpert BCR-ABL.

- Un couple d'amorces externes (en vert) sert à initier la transcription inverse (phase RT) et le 1^{er} tour de PCR (15 cycles)
- Un couple d'amorces internes (en orange) sert à initier le 2^{ème} tour de PCR (PCR nichée) en 35 cycles qui correspond en fait à la PCR en temps réel.
- La sonde spécifique de BCR-ABL (en vert) est marquée en 5' par le fluorophore FAM (Reporter) et par le fluorophore QSY7 (Quencher) en 3'; elle s'hybride à l'exon a2 de d'ABL;
- la sonde spécifique du gène ABL (en orange) est marquée en 5' par le fluorophore Texas Red (TxRd) et le fluorophore QSY21 (Quencher) en 3'; elle s'hybride à la jonction a2 et a3 du gène ABL.

Un produit d'amplification (amplicon) de 145 pb (b3a2)

ou de 77pb (b2a2) est généré selon les points de cassures. Le logiciel effectue une analyse des données de fluorescence pour déterminer les Ct ABL et BCR-ABL pour chaque échantillon et calcule le ratio BCR-ABL/ABL (%) IS en utilisant :

- le delta Ct (ΔCt) = Ct ABL - Ct BCR-ABL,
- et l'efficacité de la réaction de PCR (E ΔCt) associée à chaque lot de réactif (cartouche) et établi par Cepheid à partir d'une courbe de calibration ΔCt fx (log de la quantité d'ARN). Sa valeur figure sur le certificat d'analyse qui accompagne chaque kit de Xpert BCR-ABL Assay Monitor et de Xpert BCR-ABL Ultra.

% BCR-ABL/ABL IS = E ΔCt (ΔCt) x 100 x Facteur de conversion.

L'analyse est validée pour des échantillons dont le Ct ABL est compris entre 12 et 18.

RÉSULTATS

Patients

Tous les patients sont informatifs pour le transcrit BCR-ABL (identifié au moment du diagnostic par PCR qualitative).

• Pour la 1^{ère} série de l'étude (Gx vs EAC), il est de type b2a2 chez 12/34 patients (35,3%) et de type b3a2 chez 22/34 (64,7%) patients.

• Pour la 2^{ème} série de l'étude (Gx V2 vs EAC), il est de type b2a2 chez 42/93 patients (45%) et de type b3a2 chez 51/93 (55%) patients. (Tableau 1)

Tous les patients étaient en rémission hématologique au moment de l'étude.

Tableau 1 : Répartition du type de Transcrit dans les deux séries de l'étude.

Type de Transcrit au diagnostic	b2a2	b3a2	Total
Série 1	12 (35,3%)	22 (64,7%)	34
Série 2	42 (45%)	51 (55%)	93
Total	54 (42,5%)	73 (57,4%)	127

Résultats de la méthode EAC pour les deux séries de patients.

• Dans la série 1, les résultats de quantification du transcrit BCR-ABL n'ont pas pu être validés chez un patient 1/34 (3%) en raison du faible nombre de copies du gène ABL dans l'échantillon : (557,62 au lieu de 10 000 copies requises). 33 patients sont donc évaluables pour cette série.

• Concernant la série 2, les 93 patients sont évaluables.

Les résultats de quantification du transcrite BCR-ABL dans les échantillons de patients nous ont permis de les répartir en 5 niveaux de réponse. (Tableau 2)

Tableau 2: Répartition des niveaux de réponse des échantillons testés en fonction des résultats de quantification du transcrite BCR-ABL par la méthode EAC dans les deux séries de l'étude.

Qualité de la réponse moléculaire	Série 1 (n=33)	Série 2 (n=93)
Absence de RMM n (%)	n=11 (33,33%)	n=39 (42%)
RMM n (%)	n=10 (30,30%)	n=13 (14%)
RM4 n (%)	n=4 (12,12%)	n=11 (11,8%)
RM4.5 n (%)	n=7 (21,21%)	n=10 (10,75%)
RM5 n=1(3,03%)	n=1 (3,03%)	n=20 (21,5%)

Résultats de la méthode automatisée (Gx et Gx V2).

Dans la série 1, un échantillon sur les 34 testés a été invalidé (2,9%). Le Ct ABL obtenu pour cet échantillon est de 27,6 et se situe en dehors de l'intervalle de Ct valide (12 - 18) établi pour la méthode Gx. Seuls les résultats obtenus pour les 33 échantillons testés (97%) seront exploités. Comme pour la méthode EAC, les résultats de quantification du transcrite BCR-ABL nous ont permis de répartir les échantillons des deux séries en 5 niveaux de réponse. (Tableau 3).

Tableau 3 : Répartition des niveaux de réponse des échantillons testés en fonction des résultats de quantification du transcrite BCR-ABL par la méthode Gx dans les deux séries de l'étude.

Qualité de la réponse moléculaire	Série 1 (GxV1) (n=33)	Série 2 (GxV2) (n=93)
Absence de RMM n (%)	n=9 (27,27%)	n=39 (42%)
RMM n (%)	n=12 (36,36%)	n=13 (14%)
RM4 n (%)	n=3 (15,15%)	n=11 (11,8%)
RM4.5 n (%)	n=2 (6%)	n=10 (10,75%)
RM5 n=1(3,03%)	n=7 (21,21%)	n=20 (21,5%)

Comparaison des résultats de quantification obtenus entre les deux méthodes (EAC et Gx).

Globalement, les résultats de la quantification du transcrite BCR-ABL par les deux méthodes montrent que les patients présentent des niveaux de transcrits BCR-ABL faibles : médianes à 0,08% IS (EAC) et 0,027% IS (Gx V1), et à 0,08% IS (EAC) et 0,027% IS (Gx V2). (Tableau 4)

Tableau 4 : Comparaison des résultats globaux de quantification du transcrite BCR-ABL par les deux méthodes.

	BCR-ABL (%IS)	EAC	Gx
Gx vs EAC	Min%	0	0
	Max%	51,08	22
	Médiane%	0,08	0,027
Gx V2vs EAC	Min%	0	0
	Max%	35,8	82
	Médiane%	0,039	0,04

EAC vs Gx

Les résultats de la quantification du transcrite BCR-ABL par les deux méthodes ne sont disponibles que pour 32/34 (94,11%) échantillons : 1 échantillon a été invalidé par la méthode EAC et un autre l'a été par la méthode Gx et ne pourront pas être comparés.

Le transcrite BCR-ABL est indétectable chez 1 seul patient par la méthode EAC (3,1%) et chez 6 patients (18,75%) par la méthode Gx. Le test de Fisher montre une différence significative ($p=0,001$) : Statistiquement, il y a plus d'échantillons mesurés négatifs par la méthode GX que par la méthode EAC.

La discordance concerne 5 patients pour lesquels le transcrite BCR-ABL est détecté par la méthode EAC et pas par la méthode Gx. (Tableau 5).

Tableau 5 : Concordance des résultats positifs et négatifs obtenus par les deux méthodes.

	EAC Négatifs	EAC Positifs	Total
GX négatifs	1	5	6 (18,75%)
Gx positifs	0	26	26
Total	1(3,1%)	31	32

EAC vs Gx V2

87/93 (93,5%) des échantillons testés sont quantifiables par la méthode EAC, le transcrit est indétectable chez 6 patients (6,5%). Pour la méthode GX V2, seuls 76/93 (82%) des échantillons sont quantifiables ; le transcrit est indétectable chez 17/93 (18%) des patients. Statistiquement, Il y a plus de résultats mesurés négatifs par la méthode Gx V2 (18%) que par la méthode EAC (6,5%). ($p=0,0035$). (Tableau 6)

Les discordances concernent 11 échantillons :

- 7 échantillons mesurés < 0,001% (classés RM5)
- 3 échantillons mesurés < 0,0032% (classés RM4.5)
- 1 échantillon mesuré < 0.01% (classé RM4)

Tableau 6 : concordance des résultats positifs et négatifs obtenus par les deux méthodes

	EAC Négatifs	EAC Positifs	Total
GxV2 négatifs	6	11	17 (18%)
GxV2 positifs	0	76	76
Total	6(6,5%)	87	93

Evaluation de la concordance entre les deux méthodes.

La concordance entre les deux méthodes de mesure est établie par le rapport entre le nombre d'évènements classés à un niveau de réponse par les deux méthodes et le nombre d'évènements classés à un niveau de réponse par l'une ou l'autre des deux méthodes.[6]

Nombre de prélèvements classés à un niveau de réponse par
les 2 méthodes

Nombre de prélèvements classés à un niveau de réponse par
l'une au l'autre des 2 méthodes

EAC vs Gx (Tableau 7)

• Dans cette étude, 11 échantillons sur les 32 mesurés ont été classés en RMM (BCR-ABL1<0.1%) par la méthode Gx vs 10 échantillons pour la méthode EAC ce qui réalise une concordance de 90,9% ; la discordance a porté sur un échantillon dont le taux de transcrit BCR-ABL1 était 0.058% en Gx (RMM) et de 0.135% en EAC (pas de réponse moléculaire).

• 3 échantillons sur les 32 testés ont été classés en RM4 (transcrit BCR-ABL1<0.01%) par les 2 méthodes. Pour un échantillon, le transcrit est indétectable par la méthode Gx et mesuré à 0.0034%IS par la méthode EAC (donc

classé RM4). Pour ce niveau de réponse moléculaire, la concordance est de 3/4 soit 75%.

Tableau 7 : Etude de la concordance des résultats de quantification par les deux méthodes pour chaque niveau de réponse moléculaire.

	Gx	EAC	Gx et EAC	Gx ou EAC	Concordance
RMM < 0,1%	11	10	10	11	90%*
RMM ≤ 0,01%	3	4	4	3	75%**
RM4.5 ≥ 0,0032%	2	7	2	7	28,57***
RM5 = 0,001%	7	1	1	7	14,2%***

*1 échantillon classé RMM en Gx et pas en EAC.

**1 échantillon indétectable en Gx et en RM4 en EAC.

***4 échantillons indétectables et 1 échantillon classé RM5 en Gx mesurés RM4,5 en EAC.

EAC vs Gx V2

Les taux de concordance entre les deux méthodes pour chaque niveau de réponse moléculaire pour les 93 échantillons testés sont regroupés dans le tableau 8.

Tableau 8 : Etude de la concordance des résultats de quantification par les deux méthodes pour chaque niveau de réponse moléculaire pour les 93 échantillons testés.

	Gx V2	EAC	GxV2 et EAC	GxV2 ou EAC	Concordance
Absence de RMM	39	43	39	42	93%
RMM < 0,1%	13	14	13	14	93%
RMM < 0,01%	11	10	10	11	91%
RM4.5 < 0,0032%	10	12	10	12	83%
RM5 < 0,001%	20	14	14	20	70%

Les taux de concordance les plus élevés sont retrouvés pour les niveaux de réponse moléculaires de type RMM, RM4 et RM4.5 : 93,91 et 83% respectivement. Le taux de concordance le plus faible est observé pour les réponses moléculaires très profondes de type RM5. Ce faible taux s'explique par le nombre d'échantillons (17) quantifiables par la méthode EAC et mesurés négatifs (Transcrit indétectable) par la méthode Gx V2.

Etude de la corrélation entre les deux méthodes

Afin de pouvoir comparer les résultats de quantification obtenus par les deux méthodes sur une droite de régression, nous avons converti les valeurs de quantification en log. EAC vs Gx

La courbe de régression obtenue est une droite d'équation $y = 0,146x + 0,038$. Le coefficient de corrélation est de $R^2 = 0,70$. En raison de la faible concordance des résultats obtenus par les deux méthodes pour les réponses moléculaires profondes, nous avons voulu réexaminer la corrélation des résultats en ne considérant pas les réponses moléculaires de type RM4,5 et RM5 afin de déterminer jusqu'à quel niveau de réponse moléculaire on pouvait se fier aux résultats obtenus avec la méthode Gx.

La courbe de régression est une droite d'équation $y = 0,162x + 0,070$. Le coefficient de corrélation est de $R^2 = 0,97$. EAC vs Gx V2

La courbe de régression est une droite d'équation $y = 0,718x - 0,04$, avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,95$ (Figure3). Ceci témoigne d'une très bonne corrélation entre les deux méthodes quand tous les résultats sont considérés.

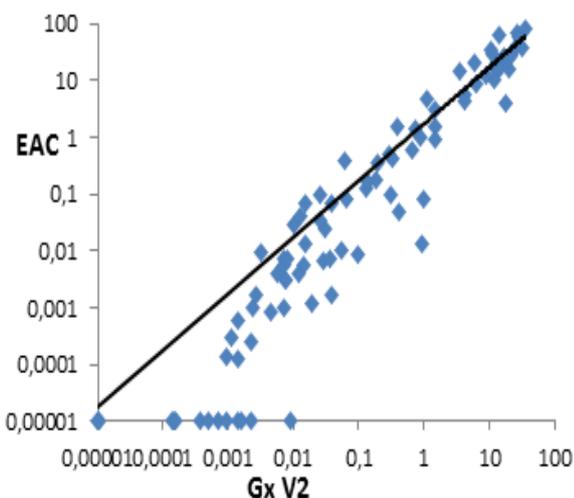


Figure 3 : Droite de régression pour l'ensemble des résultats obtenus avec les deux méthodes (EAC vs Gx V2).

Evaluation du délai de rendu des résultats

Les délais de rendu des résultats ont été estimés depuis la réception de l'échantillon au laboratoire jusqu'à la délivrance du compte rendu. Le circuit de l'échantillon pour la méthode EAC comporte plusieurs étapes :

- Séparation et congélation des cellules : réalisées le jour du prélèvement (24h).
- Extraction des ARN totaux au Trizol : précipitation,

lavages à l'éthanol et séchage avant reconstitution. Temps estimé 48h.

- Contrôle quantitatif et qualitatif des ARN extraits. 24h à 48h.
- RT-PCR. Temps estimés 24h
- PCR quantitative en temps réel. 24h
- Analyse et interprétation des résultats.

Toutes ces étapes sont réalisées pour des séries de prélèvements comportant au minimum 8 échantillons. Nous recevons au laboratoire une moyenne de 70 échantillons par mois ce qui réalise **une** expérience de quantification par semaine (16 échantillons). Ceci ramène le délai de rendu de résultats entre 10 à 15 jours en moyenne. Pour la méthode Gx, le traitement des échantillons est réalisé à l'intérieur de cartouches à usage unique dans des modules indépendants après une étape de lyse d'environ 20min. La durée totale de l'analyse est de 2h 30min et les résultats sont rendus le jour même, le lendemain au plus tard.

DISCUSSION

Notre étude est prospective et concerne des échantillons de patients LMC traités par des ITK tous porteurs du transcrite BCR-ABL de type b2a2 (35,3%) et b3a2 (64,7%) : l'informativité des patients pour le transcrite BCR-ABL est un pré-requis à l'utilisation de la méthode Gx et Gx V2 qui ne détectent pas les transcrits autres que b2a2 et b3a2 (Mbc). Il s'agit d'une population avec des niveaux de transcrite BCR-ABL relativement faibles : médiane 0,08% (EAC) vs 0,027% (Gx) et 0,04% (GxV2).

Dans notre série, la plus petite valeur de quantification détectée est de 0,00074% pour la méthode Gx est de 0,00012% pour la méthode Gx V2. Ceci signifie que le domaine de mesure de cette méthode s'étend sur 5 log. Cette performance est suffisante pour détecter une réduction du taux de transcrite de 3 log par rapport au diagnostic définissant ainsi la RMM. Globalement, les résultats de quantification obtenus avec la méthode automatisée (Gx et Gx V2) sont plus faibles que ceux obtenus avec la méthode EAC avec plus de résultats négatifs pour la méthode automatisée : (18,75% Gx vs 3,1% EAC) et (18% Gx V2 vs 6,5% EAC) ; différence statistiquement significative $p=0,001$ et $0,0035$ respectivement. Sur la base des résultats de la méthode EAC, les résultats Gx et Gx V2 faussement négatifs concernent des échantillons de patients en réponse moléculaire profonde (RM4,5 et RM5) pour la méthode Gx et majoritairement en réponse moléculaire de type RM5 pour la méthode Gx V2.

Pour la méthode Gx, La concordance entre les résultats de quantification obtenus avec la méthode EAC est variable selon le niveau de réponse moléculaire considéré ; les meilleurs taux de concordance sont obtenus pour la RMM et la RM4 (90,9% et 75% respectivement). La méthode Gx permet donc de définir le statut RMM de façon très fiable. En deçà de la RM4 (réponses moléculaires profondes), le niveau de concordance décroît rapidement (28,57% pour la RM4,5 et 14,2% pour la RM5). On note une tendance à sous-estimer les résultats pour la méthode Gx. Ceci s'explique par le manque de sensibilité de la méthode Gx. Ces observations sont parfaitement illustrées par le coefficient de corrélation R2 qui passe de 70% lorsque tous les résultats sont considérés (tous les niveaux de réponse) à 97% lorsque seuls les résultats RMM et RM4 sont considérés. Ce degré de sensibilité de la méthode EAC est atteint en isolant de l'ARN à partir de quantités de sang total de l'ordre du ml ; la méthode Gx utilise une PCR nichée avec un ARN isolé à partir de 200µL de sang total seulement. Ceci explique la meilleure sensibilité de la méthode EAC comparée à la méthode Gx.[4] Dans sa nouvelle version, la méthode Gx V2, réalise la quantification des transcrits chimériques BCR-ABL de type b2a2et/ou b3a2 à partir de 4mL de sang total, ce qui permet une détection reproductible de faibles niveaux de transcrit expliquant d'une part, une meilleur concordance avec la méthode EAC, obtenue pour des niveaux de réponse moléculaire profonde : RM4.5 et RM5 (83% et 70% respectivement), et un meilleur coefficient de corrélation d'autre part (R2=0.95). Nos résultats sont proches de ceux retrouvés dans la littérature qui rapportent un coefficient de corrélation R2 = 0,92. [9] Théoriquement, la sensibilité d'une méthode est définie par la Limite de Détection (LOD). Pour la quantification du transcrit BCR-ABL, elle dépend de la différence entre les quantités des gènes ABL et BCR-ABL dans l'échantillon.[3] Sur la base des valeurs seuils de l'essai, la meilleure LOD de la méthode Gxserait en théorie un ratio BCR-ABL/ABL de **0,00024%.(soit 2 cellules sur un million)** ; La LOD la plus mauvaise correspondrait à un ratio BCR-ABL/ABL = **0,0111%.(soit une cellule sur 10000)**. Pour la méthode EAC, la LOD dépend du nombre de copies du gène ABL détectées et donc du nombre de cellules utilisées pour l'extraction de l'ARN. Le nombre de copies du gène ABL mesurées par la méthode EAC pour les 34 échantillons testés varie de 16 415 à 656 003,93 avec une médiane de 82 314,54 copies ce qui correspond à une LOD de 1 copie BCR-ABL sur 10⁶.

CONCLUSION

La méthode automatisée (Gx) présente les avantages suivants :

- 1.L'automatisation quasi-totale : avec des temps de manipulations <30min.
- 2.Rapidité d'exécution : durée totale du test 2h30min : ce qui offre la possibilité de rendre un résultat le jour même pour le patient et le médecin traitant. Cette rapidité pourrait réduire l'anxiété des patients si les résultats sont bons et un rapide ajustement thérapeutique si les résultats montrent une augmentation du taux de transcrit BCR-ABL.
- 3.Spécificité pour les transcrits b2a2 et b3a2 (Mbc).
- 4.Résultats exprimés en ratio BCR-ABL/ABL et alignés IS.
- 5.Ne nécessite pas l'élaboration d'une droite d'étalonnage.
- 6.Possibilité de standardisation interlaboratoire.

Les principales limites du test sont :

1. Seuls les transcrits b2a2 et b3a2 sont détectés.
2. Le test n'est pas optimal pour le screening des patients au diagnostic, puisqu'il ne détectera pas les variants BCR-ABL.
3. Développé pour les échantillons sanguins seulement : non applicable aux échantillons de moelle, aux culots de cellules et à l'ARN.
4. Non adapté aux grandes hyperleucocytoses ; il est recommandé de réduire la prise d'essai à 20µL.
5. Coût des cartouches.

Les tests Xpert BCR-ABL Monitor et Xpert BCR-ABL ultra représentent une alternative robuste et reproductible à la RT-qPCR. Ils permettent de mesurer efficacement les niveaux de transcrit BCR-ABL1 dans les échantillons sanguins de patients LMC traités par in ITK, à condition qu'ils expriment le transcrit b2a2 et/ou b3a2, jusqu'à la RM4. La méthode, entièrement automatisée, permet de rendre un résultat rapide (2h30), exprimé en ratio BCR-ABL/ABL et aligné sur l'échelle internationale. Dans sa nouvelle version, l'essai Xpert BCR-ABL Ultra, démontre 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 RM4.5 (<0,0032% IS).

RÉFÉRENCES

1. Branford S, Cross N, Hochhaus A, Radish J, Saglio G, Kaeda j, et al. "Rationale for the recommandations for harmonizing current methodology for detecting BCR-ABL transcripts in patients with chronic myeloid

leukemia". *Leukemia*, 2006, 20(11) : 1925-30.

2. Branford S, Fletcher I, Cross N, Muller M, Hochhaus A, Kim D, et al. "Desirable performance characteristics for BCR-ABL measurement on an international scale to allow consistent interpretation of individual patient response and comparison of response rates between clinical trials. *Blood*.2008;112(8):3330-8.

3. Winn-Deen E, Helton B, Van Atta R, Wong W, Peralta J, Wang J, et al. "development of an integrated assay for detection of BCR-ABL RNA. *Clin Chem*.2007;53(9):1593-600.

4. Jobbagy Z, Van Atta R, Murphy K, Eshleman J, Goke C. "evaluation of the Cepheid GeneXpert BCR-ABL assay". *J Mol Diagn*. 2007;9(2):220-7.

5. Gabert J, Beillard E, Van Der Velden VH, Bi W, Pallisgaard N, et al. « Standardization and quality control studies of real-time quantitative transcription polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia- a Europe Against Cancer program". *Leukemia*.2003;17(12):2318-57.

6. Bland JM, Altman DG. "Measuring agreement in method comparison studies". *Stat Methods Med Res*.1999;8(2):135-60.

7. Cayuela J-M, Macintyre E, Dalington M, Abdelali RB, Fund X, Villarese P, Tulliez M, Raffoux E, Sigaux F, Rea D, AnfSeror V. "Cartridge-based automated BCR-ABL1 mRNA quantification: solving the issues of standardization, at what cost?". *Haematologica* 2011;96(5):664-671.

8. Heba N. Raslan. « Validation of the Xpert BCR-ABL Monitor Assay Results : King Fahd Specialist Hospital Dammam Experience". *J Am Sci* 2013;9(9):281-285.

9. GWO-Jen Day, C Lockwood, JE Payton, GL Uy, C Shiffer, S Feldman et al. "Development of Xpert BCR-ABL Ultra, an automated and standardized multiplex Assay with required performance characteristics for BCR-ABL1 quantitative measurement on an International Reporting scale". *Blood* 2015; 126 (23): 2793.

SUMMARY

QUANTIFYING BCR-ABL1 TRANSCRIPTS USING XPRT BCR-ABL MONITOR ASSAY AND XPRT BCR-ABL ULTRA (CEPHEIDR).

The Xpert BCR-ABL Monitor Assay (Cepheid®) and its new version, the Xpert BCR-ABL Ultra (developed by Cepheid), is an automated test for quantifying the amount of the two major BCR-ABL transcripts of Chronic Myelogenous Leukemia (CML): b2a2 and b3a2 transcripts (Mbc). The performance of this assay was evaluated in our laboratory by comparison with an in house assay based on the Europe Against Cancer (EAC) standardized "Real Time" quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (QRT-PCR), in two series of blood samples, obtained from patients with CML undergoing TKI therapy: 34 samples were tested, prospectively, with both the Xpert BCR-ABL Monitor Assay and the routine Assay EAC (serie#1), and 93 samples were tested with the Xpert BCR-ABL Ultra Assay and the EAC method (serie#2).

In serie#1, the results show a good concordance within the MR4 level and an $R^2=0,97$. Higher discordance is noted in the range of MR 4.5 and MR 5 (28,5% and 14,2% respectively), probably due to the lack of sensitivity of the Xpert BCR-ABL Monitor Assay.

In serie#2, a higher concordance is noted in the deep molecular response MR4.5 and MR5 (83% and 70% respectively) with an $R^2=0.95\%$.

In its new version, the Xpert BCR-ABL Ultra, demonstrated a higher sensitivity in a range that allows clinical decision making: degression in patients who achieve an MR4, or discontinuation therapy in patients achieving a MR4.5 response.

Recherche des différents transcrits de fusion BCR-ABL1 par RT-PCR QUALITATIVE MULTIPLEX Interets diagnostiques et de suivi chez les patients atteints de Leucémie Myéloïde Chronique

N. Nachi¹, D. Guelaa¹, B. Bensoltane¹, I. Belmir², MA. Bekadja², O. Abaou¹.

¹Service Service de biochimie, EHU 1^{er} Novembre, Oran-Algérie.
²Service d'Hématologie et de Thérapie Cellulaire, EHU 1^{er} Novembre, Oran

RESUME

Le diagnostic de la leucémie myéloïde chronique (LMC) est établi à l'aide de la cytogénétique à la recherche de la translocation t(9 ; 22) et de la biologie moléculaire à la recherche du transcrit de fusion BCR-ABL1 indispensable également à la quantification pour permettre ensuite un suivi moléculaire adapté. La technique de RT-PCR (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction) multiplex est actuellement la méthode la plus recommandée en raison de sa sensibilité, sa rapidité et de sa capacité de détecter plusieurs transcrits simultanément dans une seule réaction de PCR. Nous avons effectué dans le service de biochimie/ EH Oran, une recherche qualitative des transcrits de fusion BCR-ABL1 par RT-PCR Multiplex pour les nouveaux cas suspects de LMC et pour les anciens patients non typés. L'étude moléculaire a montré les résultats suivants : le diagnostic de la LMC a été confirmé chez 46 patients (69,69 %) parmi les 66 suspicions de LMC. Le type de transcrit a été identifié chez 18 patients parmi les 26 anciens. Le transcrit majeur est le transcrit majoritaire, présent chez 62 patients (96,87%) et dont le type b3a2 est plus fréquent que le type b2a2: 39(60,94%)/23(35,93%). Dans notre série, deux patients avaient un transcrit rare de type e19a2 (3,12%). Ces résultats démontrent l'intérêt de l'application de la RT-PCR multiplex pour le diagnostic de la LMC et également pour l'identification de l'isotope moléculaire.

Mots clés : LMC, RT-PCR multiplex, qRT-PCR, Transcrit BCR-ABL1, Transcrit rare

INTRODUCTION

LA LEUCÉMIE MYÉLOÏDE CHRONIQUE (LMC) est une hémopathie maligne chronique rare appartenant au groupe des néoplasies myéloprolifératives (NMP)[1]. Sur le plan cytogénétique, elle est caractérisée par la présence d'une anomalie chromosomique dans plus de 95% des cas, le chromosome Philadelphie (Chr Ph+) découvert dans les années 60 [2], résultat de la translocation réciproque entre les bras longs des chromosomes 9 et 22 : t (9 ; 22) (q34;q11), qui fusionne le gène codant pour la tyrosine kinase c-abl (homologue cellulaire de l'oncogène viral Abelson) situé sur le chromosome 9 au gène « break point cluster région(BCR) » situé sur le chromosome 22, donnant naissance à un gène de fusion BCR-ABL1. Ce gène de fusion code pour une protéine chimérique anormale BCR-ABL1 de 210 kDa (p210) ayant une forte activité tyrosine kinase constitutionnelle, responsable du processus leucémique de la LMC [3,4]. Les transcrits b2a2 (e13a2) ou b3a2 (e14a2) (coupure dans le M_{bcr}) sont retrouvés dans plus de 95 % des cas. Plus rarement, on retrouve les transcrits e1a2, e8a2, e6a2, e19a2, e1a3, b2a3 et b3a3 (Fig1)[5].

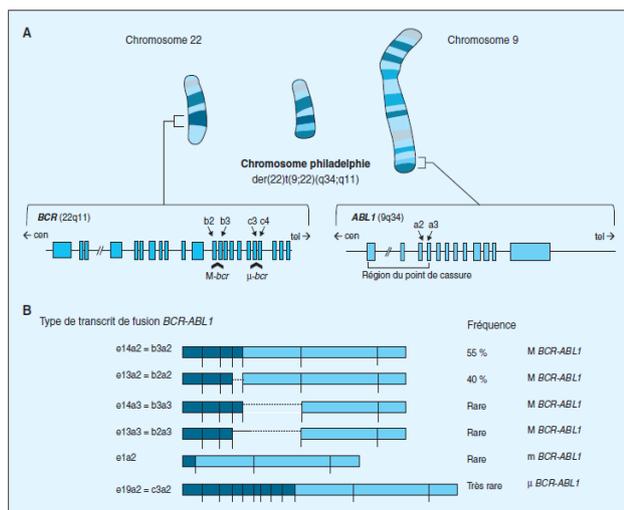


Figure1: Représentation schématique de la translocation t(9;22) et les différents types de transcrits BCR-ABL1 retrouvés dans la LMC [5].

La confirmation diagnostique de la LMC repose essentiellement sur la recherche en cytogénétique de la translocation t (9;22)(q34;q11), par un caryotype conventionnelle ou par hybridation in situ fluorescente (FISH), et sur la caractérisation moléculaire de transcrit

de fusion BCR-ABL1 par la RT-PCR qualitative. Méthode bien standardisée permettant de détecter avec certitude le transcrit de fusion bcr/abl sur un extrait d'ARN totaux. Le recours à des stratégies d'amplification multiplexes capables d'amplifier la plupart des transcrits est fortement recommandé (Fig 2) [6].

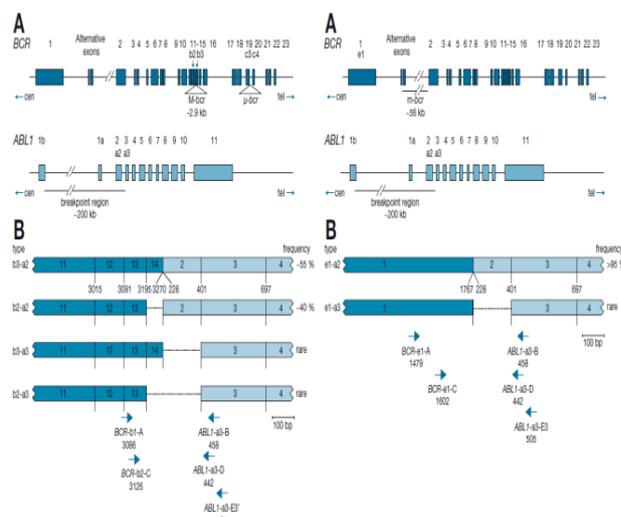


Figure 2 : Détection des transcrits par RT-PCR [6]

La détermination de l'isotype moléculaire au diagnostic permettrait de bien choisir les amorces spécifiques nécessaires au suivi moléculaire. Ce suivi est assuré en quantifiant les transcrits BCR-ABL1 à l'aide d'une technique sensible, la PCR quantitative en temps réel (qPCR). C'est la méthode de référence, basée sur les recommandations du groupe de standardisation Europe Against Cancer (EAC) [7] et qui repose sur la possibilité de suivre au cours du temps (« en temps réel ») le processus de PCR à l'aide de la fluorescence.

MATERIEL ET METHODES

Extraction de l'ARN total

Cette étape est réalisée à partir du sang total (2.5ml) sur un extracteur automatique Maxwell16 «Promega» qui met en œuvre une cartouche de 8 puits dans lesquels sont successivement réalisés, après une étape préliminaire de lyse cellulaire différentielle (les globules rouges sont lysés, en laissant les leucocytes intacts) : 1) une capture d'ARN contenu dans l'échantillon, par des billes magnétiques recouvertes de silice présentes dans la cartouche, 2) un traitement à la DNase et à la protéinase K pour éliminer toute trace de protéines et d'ADN, 3) des lavages de l'ARN par différents réactifs contenus dans

dans différents puits de la cartouche, 4) l'élution de l'ARN.

Dosage des ARN

Une fois extrait, l'ARN est quantifié en spectrophotométrie UV après une double lecture de l'absorbance à 260nm et à 280nm. Le rapport 260/280 nous renseigne sur la pureté de l'échantillon, il doit être compris entre 1.8 - 2.

Technique de RT-PCR Multiplex

La Rétro-transcription

La synthèse des ADNc par transcription inverse des ARN est réalisée par le protocole proposé par le groupe EAC [8].

- 10µl d'ARN (1µg) préalablement incubé pendant 10min à 70°C, est mélangé avec 10 µl de la solution mix contenant 4µl de Tampon RT 5x, 2µl de DTT 10mM, 2µl de dNTP 1mM, 1 µl de mélange d'amorces, 0.5 µl de Rnase inhibiteur et 0.5 µl de la MultiScribe™ Reverse Transcriptase.

- Dans un thermocycleur pré-PCR, on lance le programme de la RT suivant :

1- Incubation pendant 60 minutes à 37° c.

2- Dénaturation pendant 03minutes à 95° c.

3- Refroidissement à 04° c.

Amplification des produits de la RT

Nous avons utilisé le kit seeplex™ Leukemia BCR/ABL (Seegene, Seoul, Korea), qui présente un double avantages :

- Il permet en utilisant plusieurs amorces de détecter huit types de transcrit dans une seule réaction de PCR : Mb2a2, Mb3a2, m e1a2 et les autres variant, b1a1, b3a3, e19a2, b2a3, c3a2 et e1a3, avec une limite de détection estimée à 0.1%.

- Il possède une grande spécificité et sensibilité grâce à la technologie employée de double amorçage DPO™ (Dual OligoPrimer ou DOP).

Les conditions de l'amplification par PCR sont résumées dans le tableau 1.

- Un témoin négatif (contrôle eau), un témoin positif du

Tableau 1: Programme de l'amplification par PCR.

Dénaturation	T° : 94° c, 15min
37 cycles	
Dénaturation	T° : 94° c, 30 sec
Hybridation	T° : 60° c, 1min30
Elongation	T° : 72° c, 1min30
Extension finale	T° : 72° c, 10 min
Maintien T°	T° : 08° c

kit seeplex (PC) (b2a2, me1a2 et le gène de référence ABL), et un témoin de la lignée cellulaire K562 (transcrit Mb3a2) sont intégrés dans chaque série d'analyse et traités dans les mêmes conditions que les échantillons des patients. Les produits d'amplification obtenus sont ensuite soumis à une électrophorèse sur gel d'agarose à 3 % en présence de Bromure d'Ethidium (BET) et d'un marqueur de poids moléculaire.

Interprétation des résultats

Validation de la PCR

- Vérifier l'absence de contamination des ré-actifs : absence de bande dans le témoin eau.

- Vérifier la positivité du témoin positif (PC) et de la lignée cellulaire K562 : obtention d'une bande à la taille attendue du témoin Seeplex (e1a2, B2a2), et du témoin K562 pur (Mb3a2).

Validation des échantillons

La qualité de l'ARN extrait et l'efficacité de la transcription inverse sont vérifiées par la présence des bandes correspondantes au gène contrôle ABL1 (600 pb). En cas de positivité d'un échantillon, on compare la taille obtenue à celle attendue pour en déduire le type de transcrit obtenu: Mb3a2 (476 pb), Mb2a2 (401pb) e1a2 (348pb) et C3a2 ou e19a2 (micro : 1012) (Fig3).

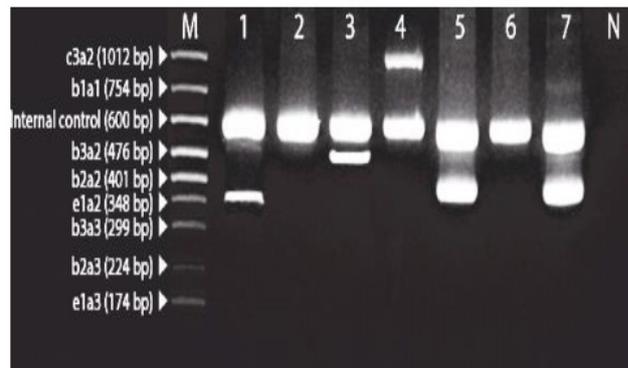


Figure 3 : Gel agarose Seeplex. N: contrôle négatif. M: marqueur de taille. 1-7. Echantillons: 1(e1a2), 2 et 6 négatifs. 3 (b3a2), 4 (c3a2 ou e19a2), 5 et 7 (b2a2).

Quantification des transcrits BCR-ABL1

Dans le cadre de l'évaluation moléculaire des anciens pts, nous avons effectué une quantification des transcrits BCR-ABL1. Cette évaluation nous a permis de les stratifier en fonction des définitions de réponse au traitement du ELN [9]. Pour le transcrit majeur, nous utilisons un kit standardisé (kit ipsogen BCR-ABL1 Mbc IS-MMR). Ce test exploite le principe de la qPCR par hydrolyse des sondes

TaqMan™ et met en œuvre un témoin hautement positif et un étalon IS-MMR standardisé, d'après l'Échelle Internationale ou IS (pour International Scale), qui permet de convertir les résultats de nombre de copies normalisé (NCN) selon cette échelle [10](Fig4). Pour le transcrit variant e19a2, nous utilisons le même mode opératoire mais avec des amorces spécifiques recommandées par EAC [7].

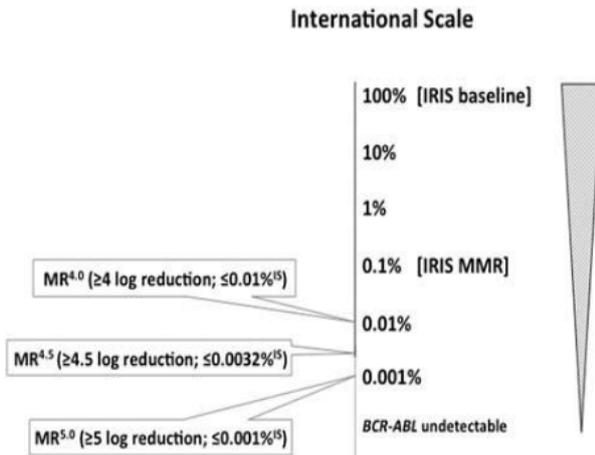


Figure 4 : Définitions de la réponse moléculaire selon l'échelle internationale [10].

RESULTATS

L'étude moléculaire par RT-PCR Multiplex a permis de mettre en évidence le transcrit de fusion et de le caractériser chez 46 patients parmi les 66 suspicions de LMC. Il s'agit de :

- Transcrit majeur de type b3a2 identifié chez 27 pts (58.70%),
- Transcrit majeur de type b2a2 identifié chez 18 pts (39.13%),
- Transcrit micro de type e19a2 (μ e19a2) identifié chez un patient (2.17%).

Tableau 2 : Résultats de la RT-PCR multiplex au diagnostic et au suivi.

Variables	Au diagnostic	Au suivi	Totalité
Effectif Patients			
N	66	26	92
%	71.73	28.27	100
Transcrit détectable			
N	46	18	64
%	69.69	69.23	69.56
Transcrit indétectable			
N	20	08	28
%	30.3	30.76	30.43

Tableau 3 : Caractéristiques épidémiologiques et moléculaires des patients atteints de LMC

Patients LMC	Variables	Au diagnostic	Au suivi	Totalité
Effectif	N	46	26	72
	%	63.88	36.12	100
Sexe	F/M	22/24	14/12	36/36
	Sex-ratio (h/f)	1.09	0.85	1
Age (ans)	Médiane [Intervalle]	47 [16-78]	49 [17-85]	47 [16-85]
b3a2	N	27	12	39
	%	58.70	66.67	60.94
b2a2	N	18	05	23
	%	39.13	27.77	35.93
e19a2	N	1	1	2
	%	2.17	5.56	3.12

Les résultats de l'étude moléculaire par RT-PCR Multiplex dans notre cohorte de 92 patients sont résumés dans les tableaux 2 et 3. Les résultats des deux méthodes pour nos patients déjà traités, sont exposés dans le tableau 4.

Tableau 4 : Détection et quantification du transcrit BCR-ABL1 chez les patients.

RT-PCR quantitative	RT-PCR multiplex	
	Transcrit détectable	Transcrit indétectable
Ratio BCR-ABL1/ABL1 > 0.1%	N= 18 [0.29-68.30%]	
Ratio BCR-ABL1/ABL1 ≤ 0.1%	-	N= 3 0.018 à 12 mois 0.09 et 0.047 à 18 mois
Ratio BCR-ABL1/ABL1 ≤ 0.01 %	-	N= 4 0.005 à 12 mois 0.0095 à 36 mois 0.004 à 48 mois 0.008 à 48 mois
Ratio BCR-ABL1/ABL1 ≤ 0.001 %	-	N= 1 0.001 à 36 mois

DISCUSSION

Dans la présente étude, nous avons effectué une recherche qualitative des transcrits BCR-ABL1 chez 92 patients Algériens afin de confirmer le diagnostic et d'identifier le profil moléculaire. Les résultats de l'étude

sont interprétables dans les deux séries. La qualité de l'ARN et l'efficacité de la rétro-transcription ont été confirmées par l'amplification du gène de contrôle ABL1 (Figures 5,6). Pour les nouveaux patients, la technique de RT-PCR multiplex nous a permis de confirmer le diagnostic de LMC chez 46 pts (69,69%).

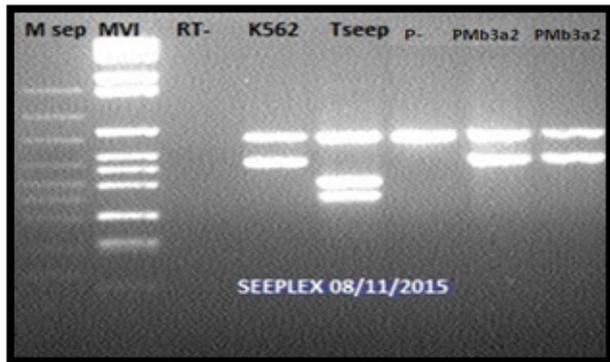


Figure 5 : Profil du gel agarose montrant bien l'amplification du gène de contrôle ABL (600pb). Msep: marqueur seeplex. MVI marqueur VI. RT-: Témoin négatif de la RT. K562: témoin positif de la lignée cellulaire k562. Tseep: témoin du kit seeplex. P-: patient négatif.

Photo service de biochimie/EHUOran.

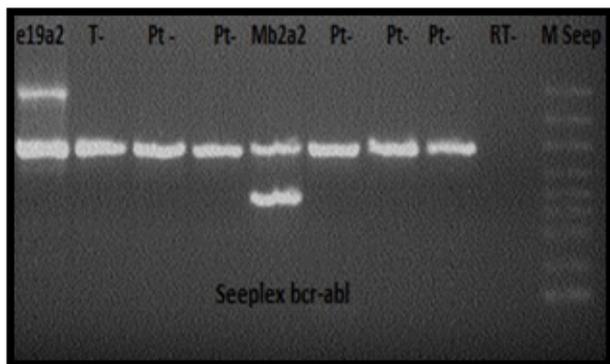


Figure 6: Profil du gel agarose montrant l'amplification transcrit e19a2 (position 1) et du transcrit b2a2 (401pb)(Position 5).

Photo service de biochimie/EHUOran.

Pour les anciens patients, l'analyse par RT-PCR multiplex, a montré tout son intérêt dans le typage moléculaire et également dans le suivi des patients. En effet, dans notre étude, nous avons pu identifier le type de transcrit chez 18 (69,23%) pts dont 17 (94,44%) avaient un transcrit majeur. Chez ces 17 patients, le transcrit majeur a été quantifié au-dessus de 0.1% ce qui correspond au seuil de détection de la méthode de typage. Ces patients étaient soit :

- En réponse optimale au traitement, défini par une diminution du taux de BCR-ABL1 $\leq 10\%$ à trois mois, $\leq 1\%$ à six mois, et $\leq 0.1\%$ à douze mois,

- En état d'alarme, défini par un taux de BCR-ABL1 $\geq 10\%$ à trois mois, entre 1-10 % à six mois, et 0.1-1 % à douze mois,

- En état d'échec thérapeutique, défini par un taux de BCR-ABL1 $> 10\%$ à six mois, $> 1\%$ à douze mois puis par perte de la réponse moléculaire à tout moment.

Pour le patient suivi comme ayant un transcrit majeur et adressé pour une évaluation moléculaire, nous avons détecté un transcrit rare de type micro e19a2. Ce transcrit a pu être quantifié à 68.30 % grâce à l'utilisation d'amorces spécifiques. Ceci démontre l'intérêt de la recherche du type du transcrit au diagnostic. En effet, si le type de transcrit avait été identifié au diagnostic, ce patient aurait pu avoir un meilleur suivi avec la possibilité de changement thérapeutique à temps avant sa transformation aigue.

Une discordance a été notée entre les deux méthodes (RT-PCR qualitative et quantitative) chez huit anciens patients dont les transcrits n'ont pas été identifiés (Tableau 4). Chez ces pts, il est envisageable que leur durée de traitement ait induit une réponse suffisante pour abaisser le niveau d'expression des transcrits BCR-ABL1 en dessous du seuil de détection de la méthode. En effet, leur quantification par le kit (kit ipsogen BCR-ABL1 MbcR IS-MMR) a montré que le transcrit majeur a bien été détecté mais en dessous du seuil de détection de la méthode de typage (Tableau IV) :

- Trois patients (37,5%) étaient en RMM,
- Quatre (50%) en RM4.0, qui correspond à une réduction de plus de 4 log ($\leq 0.01\%$ IS) du taux de transcrit BCR-ABL1.
- Un patient (12,5%) en RM5, qui correspond à une réduction de plus de 5 log ($\leq 0.001\%$ IS) du taux de transcrit BCR-ABL1.

- Au total sur les 64 patients où le transcrit a été identifié, 62 (96.87%) avaient le transcrit majeur avec 60.94% de type M b3a2 et 35.93 % de type Mb2a2.

Deux patients (3.12%) avaient un transcrit rare de type e19a2. Par contre, nous n'avons pas trouvé de co-expression b3a2/b2a2.

Nos résultats ont été comparés avec ceux de la littérature où plusieurs groupes ont rapporté des fréquences variables des transcrits M b3a2, b2a2 et e19a2 [11-14] (Tableau 5). Aucune différence significative n'a été retrouvée sauf pour l'étude de Yaghmaie et al [11, où le type b3a2 était 3 fois supérieur au type b2a2 ($p=0.009$). Nos chiffres en revanche rejoignent ceux retrouvés dans l'étude tunisienne [12]. L'étude menée au CPMC en 2008

a retrouvé également des fréquences relative-ment proches avec 54.2 % de transcrit Mb3a2 et 44.6 % de transcrit Mb2a2 (p= 0.53) [13]. Les fréquences faibles observées du transcrit e19a2 sont aussi similaires aux données de la littérature [11,14].

Tableau 5 : fréquences observées des transcrits BCR-ABL1 dans différentes études publiées.

Auteurs; population	Patients LMC (N)	Fréquence des différents transcrits BCR-ABL1 (%)			P
		b3a2	b2a2	e19a2	
Yaghmaie et al; Iran [11]	75	63	20	4	0.009
Bennour et al; Tunisie [12]	44	63.63	36.36	-	0.13
Harieche F ; Alger [13]	87	54.2	44.6	-	0.53
Deb et al; India [14]	80	56.25	41.25	2.5	0.28
Notre étude; Ouest Algérien	64	60.94	35.93	3.12	0.1

CONCLUSION

La technique de RT-PCR multiplex été implantée avec succès à l'EHU d'Oran. Elle nous a permis de confirmer d'une part, le diagnostic de LMC et d'autre part, de confirmer les données de la littérature, en montrant un taux de transcrit majeur plus fréquent (97%), avec le type Mb3a2 plus élevé (61%) que le type Mb2a2 (36%). Cette technique nous a également montré son intérêt dans l'identification des transcrits rares.

Dans notre série, deux cas de type e19a2 ont été répertoriés (3%). Ceci démontre la nécessité de rendre systématique au diagnostic, la recherche qualitative des transcrits BCR-ABL1 par RT-PCR multiplex, afin d'avoir des données suffisamment informatives pour les transcrits variants permettant donc de bien choisir les amorces spécifiques pour le suivi ultérieur de la réponse moléculaire sous traitements. D'un point de vue pratique, cette technique possède des avantages considérables par rapport à la RT-PCR conventionnelle notamment en termes de gain de temps de réalisation (Technique plus rapide), et de sensibilité (seuil de détection 0.1%).

RÉFÉRENCES

- 1.Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016;blood-2016-03-643544.
- 2.Nowell PC. A minute chromosome in human granulocytic leukemia. *Science*. 1960;132:1497-501.
- 3.Rowley JD. A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukaemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining. 1973.
- 4.Heisterkamp N, Stephenson JR, Groffen J, et al. Localization of the c-abl oncogene adjacent to a translocation break point in chronic myelocytic leukaemia. 1983.
- 5.Gendron N, Belhouachi N, Morel V, et al. Leucémie myéloïde chronique avec transcrit de fusion variant BCR-ABL1 e19a2: intérêt de l'identification moléculaire au diagnostic pour le suivi de la maladie résiduelle. *Annales de Biologie Clinique*; 2014.
- 6.Cayuela J-M, Huguet F. Chronic myeloid leukemia (CML) diagnosis in 2012. *Oncologie*. 2012;14(10-11):561-8.
- 7.Gabert J, Beillard E, Van der Velden V, et al. Standardization and quality control studies of 'real-time' quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia—a Europe Against Cancer program. *Leukemia*. 2003;17(12):2318-57.
- 8.Van Dongen J, Macintyre E, Gabert J, et al. Standardized RT-PCR analysis of fusion gene transcripts from chromosome aberrations in acute leukemia for detection of minimal residual disease Report of the BIOMED-I Concerted Action: Investigation of minimal residual disease in acute leukemia. *Leukemia*. 1999;13:1901-28.
- 9.Baccarani M, Deininger MW, Rosti G, et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. *Blood*.
- 10.Cross N, White H, Müller M, et al. Standardized definitions of molecular response in chronic myeloid leukemia. *Leukemia*. 2012;26(10):2172-5.
- 11.Yaghmaie M, Seyed H, Ghaffari PhD, et al. Frequency of BCR-ABL Fusion Transcripts in Iranian Patients with Chronic Myeloid Leukemia. *Archives of Iranian Medicine*. 2008;11(3).
- 12.Bennour A, Ouahchi I, Achour B, et al. Analysis of the clinico hematological relevance of the breakpoint location within M-BCR in chronic myeloid leukemia. *Medical*

oncology. 2013;30(1):348.

13.Hariche F. La RT - PCR quantitative en temps réel : application au diagnostic et à l'étude de la maladie résiduelle dans les leucémies myéloïdes chroniques Thèse du DEMS - Alger 2008.

14.Deb P, Chakrabarti P, Chakrabarty S, et al. Incidence of BCR-ABL transcript variants in patients with chronic myeloid leukemia: Their correlation with presenting features, risk scores and response to treatment with imatinib mesylate. Indian Journal of Medical and Paediatric Oncology. 2014;35(1):26.

SUMMARY

SEARCH FOR DIFFERENT BCR-ABL1 FUSION TRANSCRIPTS BY QUALITATIVE MULTIPLEX RT-PCR : DIAGNOSTIC INTERESTS IN PATIENTS WITH CHRONIC MYELOID LEUKEMIA.

The diagnosis of Chronic Myeloid Leukemia (CML) is based on cytogenetic in research of translocation t (9, 22) and molecular biology in search of the BCR-ABL1 fusion transcript, which is also essential for quantification to

allow for appropriate molecular monitoring. The technique of RT-PCR (reverse transcription polymerase chain reaction) of multiplex is currently the most preferred method because of its sensitivity, speed and ability to detect multiple transcripts simultaneously in a single PCR reaction. We conducted a qualitative research of the BCR-ABL1 fusion transcripts by the RT-PCR Multiplex in the biochemistry department / EHU Oran for new suspicious cases of CML and for former untyped patients. The molecular study showed the following results: the diagnosis of the CML was confirmed in 46 patients among the 66 suspicions of CML. The type of fusion transcript was identified in 18 patients among 26 known. The major transcript is the majority transcript, present in 62 patients (96.87%) and whose type b3a2 is more frequent than type b2a2: 39 (60.94%) / 23 (35.93%). In our series, two patients had a rare e19a2 transcript (3.12%). These results demonstrate the value of the application of multiplex RT-PCR for the diagnosis of CML and also for the identification of the molecular isotype.

Keywords: CML, RT-PCR multiplex, qRT-PCR, BCR-ABL1 Transcribed, rare Transcribed.

Evaluation du traitement par Imatinib des patients suivis pour LMC en Algérie

Etude nationale, exhaustive et restrospective sur 07 ans (2007 à 2013)

A propos de 1007 cas

K.Djouadi¹, A.Bouchakour², S.Taoussi², M.T.Abad², Z.Ouchenan³, N.SidiMansour³, N.Abdennebi⁴, F.Harieche⁴, R.Ahmed Nacer⁴, R.M.Hamladji⁴, F/Z .Touil⁵, S.Hamdi⁵, B.Entasoltane⁶, M .Brahimi⁶, M .Nachi⁶, M.A.Bekadja⁶, C. Kerrar⁷, I.Allam⁷, O .Djidjik⁷, N.Boudjerra⁷, M.Belhani⁷, S.Bouhrira⁸, F.Griffi⁸, Z.Brahimi⁹, L.Touati⁹, N.Lakhdari⁹, M.Mehalhal¹⁰, K.Taibi¹¹, EH.Touhami¹¹, Benzineb¹², N.Mesli¹², D .Saber-cherif¹, M/C.Rahali¹, N.Mansour¹, Y.Meddour¹, S .Chaib¹, F/Z.Ardjoun¹, A.Maghraoui¹³, S .Hadjeb¹³, Zenori¹³, Benlazar¹³, Z.Zouaoui¹³, S.Baghdad¹⁴, Bachiri¹⁴, Attari¹⁵, D.Lamara¹⁵, B.Bendjaballah¹⁵.

¹Hopital Mohamed Seghir Nekkache. Alger, ²CAC Blida, ³CHU Constantine, ⁴EHU CPMC, ⁵CHU Sétif, ⁶EHU Oran, ⁷CHU Beni Messous, ⁸CHU Annaba, ⁹CHU Bedjaia, ¹⁰EPH Mascara, ¹¹CHU Oran, ¹²CHU Tlemcen, ¹³CHU Sidi Belabbes, ¹⁴CHURMO, ¹⁵CHURMC

RESUME

Le but de cette étude est d'évaluer l'efficacité et la toxicité de du traitement par Imatinib, ITK utilisé en Algérie, pour traiter les patients atteints de LMC en phase chronique. L'objectif principal est d'évaluer la survie globale et la survie sans progression chez ces patients. Il s'agit d'une étude longitudinale, Nationale, multicentrique, et rétrospective, ayant inclus les patients algériens présentant une LMC en phase chronique et traité par Imatinib, entre janvier 2007 à décembre 2013. L'examen clinique et les examens para-cliniques pratiqués au moment du diagnostic sont : hémogramme, frottis sanguin, ponction de moelle osseuse, caryotype, biologie moléculaire. Les patients sont classés selon la classification pronostique s de Sokal et le score Eutos. Le traitement institué : Imatinib 400 mg /J, l'évaluation thérapeutique est faite selon les recommandations du GAT-LMC, qui tient compte des recommandations de l'ELN adaptées à nos conditions et moyens locaux : La réponse hématologique complète (RHC) à 03 mois, et la réponse moléculaire et /ou cytogénétique et /ou Fish à 06,12, 18,24 mois et plus selon les possibilités. A 6mois on recherche un taux de bcr /abl <10%, si non, on escalade les doses d'Imatinib à 600 ou 800mg selon la tolérance. À 12 mois on recherche une réponse moléculaire majeure (RMM) définie par un ratio bcr/abl inférieur à 0,1% selon l'ELN. Un ratio entre 0,1 et 1% est considéré comme une bonne réponse selon GAT-LMC et le traitement par Imatinib est poursuivi. Le suivi médian des patients à décembre 2014 est de 48 mois (12 à 84 mois). La survie globale et la survie sans progression sont établies selon la méthode de Kaplan Meier. L'analyse descriptive des variables quantitatives par le calcul des moyennes, médianes .L'analyse descriptive des variables qualitatives en pourcentages et intervalle de confiance à 95%. Le test du Chi2 est utilisé pour comparer entre deux variables. L'âge médian des patients est 45,7 ans (06 à 87 ans), il s'agit de 516 hommes et 491 femmes avec un sexe ratio H/F à 1,05. Le diagnostic de LMC est fait par un examen cytogénétique chez 337 patients (33%), par Fish chez 214 patients (21 %) et par biologie moléculaire chez 401 patients (39%). La classification pronostique (PC) selon le score de

Sokal retrouve un risque faible dans 18,7%, intermédiaire dans 55,5% et un risque élevé dans 25,8%. Le score Eutos est recherché dans 573 cas, il est inférieur à 87 dans 97% et supérieur à 87 dans 03%. Une RHC à 03mois est retrouvée chez 907 patients (90,1%). L'évaluation moléculaire à 06 mois est pratiquée chez 222 patients et un ratio bcr /abl <10% est retrouvé dans 66,5%. L'évaluation moléculaire à 12 mois retrouve une RMM chez 55,4%. La survie globale est de 84% à 08 ans, elle est significativement corrélée au score de Sokal (p < 10-6). Un taux d'échec au TRT est retrouvé dans 11,5% des cas et un taux de rechute de 10,1% en rapport avec une non adhérence au TRT dans 50% des cas et un manque de surveillance par un monitoring moléculaire régulier dans l'autre moitié des cas. La survie sans événement à 08 ans est de 76%. On note une bonne tolérance clinique et biologique dans 90% des cas. Seuls 8% des patients ont été switchés vers un ITK de 2ème génération pour intolérance. Une non-adhérence au TRT est retrouvée dans 14,4%.

INTRODUCTION

L'AVÈNEMENT DES ANTI-TYROSINES KINASES a révolutionné la prise en charge de la leucémie myéloïde chronique. En effet, à partir de l'an 2000, l'IMATINIB est devenu le gold standard du traitement de la LMC en phase chronique sur le plan international, alors que la greffe de moelle allo génique était jusque là, le traitement de choix en 1ère intention, s'il existe un donneur HLA compatible. En Algérie, l'IMATINIB (Glivec) n'était pas disponible, en raison de son coût très élevé. Nous n'avons commencé à utiliser les ITK de 1ère génération pour traiter les patients présentant une LMC, qu'à partir de 2007, après l'avènement de l'Imatib premier anti tyrosine kinase de 1ère génération disponible en Algérie et beaucoup moins coûteux. Le but de cette étude est d'évaluer l'efficacité et la toxicité de cette molécule utilisée en Algérie, pour traiter les patients atteints de LMC en phase chronique.

PATIENTS ET METHODES

Il s'agit d'une étude longitudinale, nationale multicentrique, exhaustive et rétrospective. Ayant inclus les patients algériens présentant une LMC en phase chronique et traité par Imatib entre janvier 2007 à décembre 2013. Nous avons établie une fiche technique, diffusée aux différents services d'hématologie à l'échelle nationale,

permettant de recueillir les données suivantes et de les analyser :

Les caractéristiques générales des patients, les circonstances de découverte de la maladie, l'examen clinique et les examens para-cliniques au moment du diagnostic notamment l'hémogramme, le frottis sanguin, la ponction de moelle osseuse, le caryotype, la biologie moléculaire, la classification pronostique selon le score de Sokal et le score Eutos. Le traitement institué : IMATIB 400 mg /L'évaluation thérapeutique est faite selon les recommandations du groupe Algérien de travail sur la LMC « GAT-LMC » qui tient compte des recommandations de l'ELN adaptées à nos conditions et moyens locaux : La réponse hématologique complète (RHC) à 03 mois, et la réponse moléculaire et /ou cytogénétique et /ou Fish sont recherchées à 06, 12, 18, 24 mois et plus selon les possibilités du monitoring moléculaire. A 6mois on recherche le taux de bcr /abl qui devrait être inférieur à 10%, sinon on escalade les doses d'Imatib à 600 ou 800mg selon la tolérance. À 12 mois on recherche une réponse moléculaire majeure (RMM) définie par un ratio bcr/abl inférieur à 0,1% selon les recommandations de l'ELN mais un ratio entre 0,1 et 1% est considéré comme une bonne réponse selon GAT-LMC et le traitement par Imatib est poursuivi (Tableau 1). Le suivi médian des patients à décembre 2014 est de 48 mois avec (12 à 96 mois). La survie globale et la survie sans progression sont établies selon la méthode

Tableau 1 : Recommandations GAT-LMC dans la prise en charge de la LMC.

Temps	Réponse optimale	Warning	Echec
Au diagnostic		Haut risque ACA	
03 mois	RHC		Pas RHC Escalade TRT 600/800
06 mois	Bcr/abl ≤ 10% RCyP		Brc/abl > 10% Escalade TRT 600/800
12 mois	bcr/abl < 10% bcr/abl : 0,1 à 1 %	bcr/abl >1% Escalade TRT	
18 mois	bcr/abl <0,1%	bcr/abl : 0,1 à 1 %	bcr/abl >1%
Plus tard	RMM ou Profonde		Perte RHC Perte RCyC Perte RMM Mutations ACA

de Kaplan Meier. L'analyse descriptive des variables quantitatives est assurée par le calcul des moyennes, médianes. L'analyse descriptive des variables qualitatives en pourcentages et intervalle de confiance à 95%. Le test du Chi2 est utilisé pour comparer deux variables. un examen cytogénétique chez 337 patients (33%), par Fish chez 214 patients (21 %) et par biologie moléculaire chez 401 patients (39%). Le type de transcrite est précisé dans 271 cas, il s'agit de type b2a2 dans 120 (44,3, %) et de type b3a2 dans 124 cas (45,8 %), autres types transcrits

Tableau 2 : Caractéristiques clinico-biologiques des patients.

Patients inclus N = 1007		
Caractéristiques	Nombre	%
Age (années)		
médian	46	
Extrêmes	(06-87)	
Sexe		
F	491	
M	516	
Sex ratio H/F	1,05	
Diagnostic		
Cytogénétique	337	33%
Fish	214	22%
Biologie moléculaire	401	39%
Score Sokal		
Faible	143	18,7%
Intermédiaire	425	55,5%
Haut	198	25,8%
Score Eutos		
< 87	556	93%
> 87	17	03%

dans 27 cas (10,0%). La classification pronostique selon le score de Sokal retrouve un risque faible dans 18,7%, intermédiaire dans 55,5% et un risque élevé dans 25,8%. Le score Eutos est recherché dans 573 cas, il est inférieur à 87 dans 97% et supérieur à 87 dans 03%.

Résultats thérapeutiques

Une RHC à 03 mois est retrouvée chez 907 patients (90,1%). L'évaluation moléculaire à 06 mois est pratiquée chez 222 patients et un ratio bcr /abl<10% est retrouvé dans 66,5% (n=146). L'évaluation cytogénétique à 12 mois est pratiquée chez 327 patients. La rémission cytogénétique complète (RCyC) à 12 mois est de 50,1%, et à 18 mois 73%. L'évaluation moléculaire à 12 mois est pratiquée dans 327 cas (32,5%) et une RMM est retrouvée dans 55,4%. Faute de moyens de monitoring,

l'évaluation moléculaire n'est pratiquée qu'à 18 mois chez 204 patients, la RMM est retrouvée dans 44,6%, à 24 mois chez 240 patients et à 36 mois chez 321 patients avec des taux de RMM respectifs de 60% et 61,3%. Le suivi moléculaire est assuré par FISH chez 214 patients, les résultats du suivi sont résumés dans le tableau 3.

Tableau 3 : Résultats du suivi des patients par FISH.

Fish	N = 214	
Réponse	% GAT-LMC	IRIS
RCyC 3mois	28,6%	
6 mois	43%	
12 mois	62,2%	68%
18 mois	76%	76,2%
24 mois	84%	

La réponse cumulative chez nos patients en matière de RMM est comme suit : 55,4 %, à 12 mois, 75,7% à 18 mois et 85% à 24 mois. Ces résultats sont récapitulés dans le tableau 4. La survie globale est de 84% à 08 ans. La survie globale à 8 ans en fonction du score de sokal est de 98% pour le faible

Tableau 4 : Résultats thérapeutiques, récapitulatifs des patients.

Patients	N = 1007		
		Corrélation Sokal	Score Eutos
RHC 03 mois	907 (90,1%)	p=0,23	p<10 ⁻³
Cytogénétique RCyC 12 mois	327 (50,1%)	p=0,26	p<10 ⁻³
Bcr/abl 06 mois	222 (22%)		
< 10%	127 (66%)		
>10%	65 (34%)		
Bcr/abl 12 mois RMM	327 (32,5%)		181 (55,5%)
Bcr/abl 18 mois RMM	204 (20,3%)		91 (44,6%)
Bcr/abl 24 mois RMM	240 (23,8%)		144 (60%)
Bcr/abl >24 mois RMM	321 (31,9%)		179 (61,3%)

risque, 82% pour le risque intermédiaire et 63% pour le haut risque (p<10⁻³) figure1.

Cent soixante et un patients sont décédés soit 16%, seul

OS = 84%

Correlation Sokal
test de Logrank : $p < 10^{-3}$

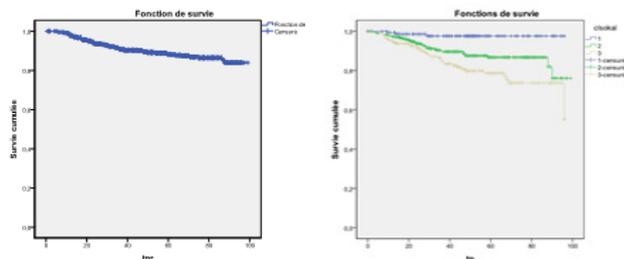


Figure 1 : Survie globale à 8 ans. N=1007.

la moitié des décès sont inhérents à la LMC en rapport avec une acutisation (n= 88), soit 08,7% de la totalité des patients. Dans 73 cas soit 7,2%, il s'agit d'une cause cardiovasculaire dans 16 cas, d'autres néoplasies dans 36 cas, de syndrome myélodysplasique dans 06 cas, d'accident vasculaire cérébral dans 05 cas et enfin non précisée dans 10 cas. La survie sans événement (EFS) à 8ans est de 76%, l'EFS à 8ans en fonction du score de Sokal est de 99% dans les faibles risques, 78% dans le risque intermédiaire et 58% dans les hauts risques ($p < 10^{-3}$). Figure 2 Echec : le taux d'échec au TRT est retrouvé dans 11,5% des cas et dans 60% des cas, il s'agit d'une non observance au traitement.

76%

EFS/SOKAL
Logrank : $\chi^2 = 19,835$ $p < 10^{-3}$

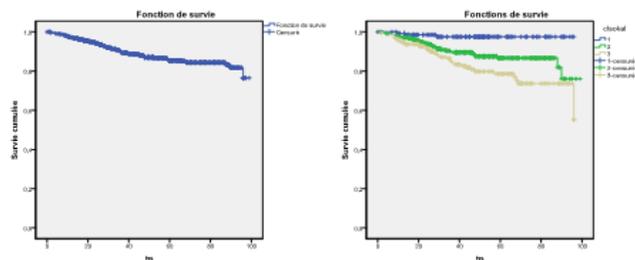


Figure 2 : EFS à 08 ans

La rechute est retrouvée dans 11% (n=112), elle est hématologique dans 83 cas soit 74%, il s'agit des patients sans monitoring moléculaire. La rechute est moléculaire dans 29 cas soit 16%, en rapport avec une non-adhérence au TRT dans 50% des cas.

Tolérance : les effets secondaires cliniques sont rapportés chez 753 patients, les plus fréquemment rencontrés sont la prise de poids 351(35%), les œdèmes périorbitaires 301 (30%), les crampes musculaires 240 (24,0%) et les douleurs ostéo-articulaires 65 (18,0%). Les autres symptômes sont plus rares et répertoriés dans le tableau 5. La toxicité biologique : Au plan hématologique les neut-

Tableau 5 : Effets secondaires à l'Imatib. N=753

Symptômes	Présence du symptôme
Prise de poids	351 (34,9%)
Œdème périorbitaire	301 (30%)
Œdème des membres inférieurs	85 (8,4%)
Nausées	133 (14,0%)
Vomissements	84 (8,3%)
Epigastralgies	134 (13,3%)
Diarrhée	103 (10,2%)
Douleurs ostéarticulaires	65(18,0%)
Crampes musculaires	240 (24%)
Rush cutané	76 (7,5%)
Pigmentation des ongles	14 (1,4%)
Conjonctivite allergique	25 (2,3%)
Autres Prurit, céphalées, asthénie	102 (10,6%)

ropénies grade 3 et 4 sont retrouvées respectivement dans 14% et 4,5%, la thrombopénie grade 3 dans 5,4% et grade 4 dans 4%. L'anémie grade 3 et 4 est retrouvée dans 02% (Tableau 06). La toxicité hépatique est retrouvée dans 160 cas soit 18% représentée

Tableau 6 : Tolérance hématologique du traitement.

Signes	Neutropénie	Anémie	Thrombopénie
Nombre de sujets	1007	1007	1007
Présence du signe	219 (21,7%)	266 (26,4%)	257 (25,5%)
Grade 1	104 (47%)	178	162 (63%)
Grade 2	61 (28%)	56	73 (28%)
Grade 3	31 (14%)	16	14 (5,4%)
Grade 4	10 (4,5%)	11	8 (3,8%)
Grade NP	12 (5,4%)	0	2 (0,7%)

essentiellement par une augmentation des transaminases. L'élévation de la créatinine est retrouvée dans 3,5%, une élévation de la glycémie dans 5,9% : Tableau 07. Seuls 107 patients soit 10.6% ont été switché aux ITK

Tableau 7 : Toxicité biologique de l'Imatib.

Paramètres	Nbre de cas précisés fiche	Nombre de cas	< 2,5 fois la normale	> 2,5 fois la normale	5 fois la normale
Transaminases	896	64 (7,1%)	30 (46,9%)	23 (35,6%)	0
Bilirubines	871	29 (3,3%)	11 (37,9%)	14 (48,3%)	0
PAL	835	45 (5,4%)		2	1
GGT	652	22 (3,4%)	16	5	2
Glycémie élevée	860	51 (5,9%)			
Toxicité rénale	1007	35 (3,5%)			
Hypoalbuminémie	1007	02 (0,19%)			
Hypocalcémie	1007	07 (0,69%)			
Hypophosphorémie	1007	03 (0,29%)			

de 2^{ème} génération pour intolérance, le délai entre le traitement initial et le Switch varie de 02 à 117 mois avec une moyenne de 34.11 mois.

La notion d'adhérence ou pas au TRT n'est mentionnée sur les fiches d'exploitation que dans 356 cas. Quarante-neuf patients soit 29% sont non adhérents. Les causes de non adhérence sont, en rapport avec une intolérance dans 21% des cas, éducation thérapeutique insuffisante dans 19%, des raisons sociales dans 30%, raisons familiales dans 17%, professionnelles dans 04% et enfin non précisées dans 5,6% (Tableau 08).

Tableau 8 : Causes de non adhérence au traitement.

Causes	N	%
Intolérance	21	23
Education thérapeutique insuffisante	17	19
Raison sociale	27	30
Raison familiale	15	17
Raison professionnelle	4	4
Non précisées	5	5,6
Total	89	100

DISCUSSION

Cette étude rapporte les résultats thérapeutiques des patients algériens suivis pour LMC et traités par Imatib dans la vraie vie sans aucune sélection, et porte sur une cohorte importante, 1007 cas, ce qui fait les deux points forts de cette étude, d'autre part elle est rétrospective ce qui lui confère un point faible. La RHC à 03 mois est de 91%, ce qui représente un taux très intéressant, qui rejoint tout à fait les résultats de l'étude IRIS, qui retrouve une

une RHC à 03 mois dans 95% [1, 2]. Il n'y a pas de corrélation entre la RHC à 03 mois et la classification pronostique de SOKAL ($p=0,23$), nous avons essayé par contre d'établir une corrélation entre la RHC et le score Eutos, bien que ce score soit plutôt prédictif d'une rémission cytogénétique complète à 12 mois, mais on retrouve une corrélation significative avec le score Eutos ($p < 10^{-3}$), ce résultat mérite justement d'entreprendre une étude prospective en Algérie sur le score Eutos et sa corrélation avec les réponses thérapeutiques. L'évaluation moléculaire à 06 mois est pratiquée chez 222 patients et un ratio bcr /abl $< 10\%$ est retrouvé dans 66,5%, cette dernière est significativement corrélée au score de Sokal ($p < 10^{-6}$). La rémission cytogénétique complète à 12 mois est retrouvée dans 50,1%, ce taux varie entre 47 à 77% selon les séries publiées [3, 7]. À 18 mois, il est de 73%, ce taux rejoint tout à fait les résultats de l'étude IRIS qui retrouve une RCyC de 76% à 18 mois ($P = 0,23$) [3, 4]. La RMM à 12 mois est retrouvée dans 55,4%, ce taux varie entre 18 et 58% dans les différentes séries de la littérature [3, 6]. Dans notre série on retrouve une réponse moléculaire cumulative à 24 mois de 85%, ce qui représente un taux particulièrement intéressant, sachant que l'obtention d'une RMM reste intimement associée à la survie sans progression à 05ans [5, 6], et le meilleur taux de RMM dans l'essai IRIS à 8ans est de 86% [6, 7]. Dans notre étude, la survie globale est de 84% à 08 ans ce qui rejoint les résultats de l'étude IRIS 85%, ce taux passe à 93% en tenant compte que des décès inhérents à la LMC [2, 3]. La survie globale reste intimement corrélée à la classification pronostique de Sokal comme on le voit sur la courbe de survie fig1, ce qui rejoint les résultats des différentes études IRIS PETHEMA, SPIRIT, GIMEMA, CAMELIA, German Study Group IV, et autres [8].

Tableau 9 : Survie des patients sous Imatinib.

Etudes	Dose Imatinib mg	Nbre patients	Haut risque PC	OS	EFS	PFS	Années	Suivi médian/Y
GAT-LMC	400	1007	26%	84%	76	91	08	04
IRIS	400	553	18%	85%	NR	92	08	06
HammerSmith	400	204	29%	83%	63	83	05	3,2
HOUSTON	400	258	08%	97	NR	92	05	4,4
PETHEMA	400	210	16%	97	94	71	05	4,2
Czech Registry	400	343	22%	88	NR	90	05	3,8
Gimema	400 (76%) 800 (24%)	559	22%	90	65	87	05	05
German CML Study	400-600	1551	12%	88	NR	86	06	5,6

La survie sans événement (EFS) à 8 ans est de 76%, cette dernière est corrélée au score de Sokal ($p < 10^{-3}$) ce qui rejoint les résultats des autres séries publiées. A travers les résultats de notre étude et celle des autres séries publiées, il est clair qu'en matière de résultats à long terme, il est difficile de faire mieux que l'Imatinib (Tableau 09). Un taux d'échec au TRT est retrouvé dans 11,5% des cas. Un taux de rechute de 10,1%. Cette rechute est hématologique dans 74% des cas, en raison d'un manque de monitoring moléculaire des patients faute de moyens, ce qui représente une contrainte de taille à la prise en charge de la LMC en Algérie. Dans 26% des cas la rechute est moléculaire, en rapport avec une non adhérence au TRT dans 50% des cas, d'où l'intérêt de l'éducation thérapeutique qui retrouve toute sa place. L'Imatinib est un ITK relativement bien toléré, les effets secondaires rencontrés sont modérés et peu graves mais pouvant parfois être invalidants. Les plus fréquemment rencontrés sont la prise de poids, les œdèmes périorbitaires, nausées, vomissements, crampes musculaires et douleurs ostéo-articulaires, ce qui rejoint les séries publiées. La toxicité hématologique retrouvée dans notre série, rejoint tout à fait celle des séries de la littérature [9]. L'observance du traitement est un volet important dans la prise en charge des patients dans la LMC, puisqu'elle a un impact important sur l'efficacité et la réponse au traitement. La non-observance est intimement liée au risque potentiel de perte de réponse, de rechute et de progression de la maladie comme le démontre notre étude, puisque 60% des échecs et 50% des rechutes moléculaires sont liées à la non-adhérence au TRT, ce qui concorde avec les résultats des séries publiées [10]. La non-adhérence au traitement est une conduite

intentionnelle chez la plupart de nos patients. Les causes sont dominées par les raisons sociales dans notre série, suivies de l'intolérance au TRT et de l'éducation thérapeutique insuffisante. Dans l'étude d'Eliasson L. et al [11], réalisée chez des patients avec une LMC traitée par Imatinib sur la base d'entretiens personnalisés et questionnaires. Les conduites non intentionnelles sont les plus fréquentes représentées par l'oubli, l'erreur de prescription, retard ou délai dans le suivi de consultation. Les conduites intentionnelles viennent au second plan, dominées par l'intolérance au TRT, suivies des causes sociales.

CONCLUSION

L'Imatinib, anti tyrosine kinase de 1^{ère} génération utilisée en Algérie, est une molécule très intéressante tant sur le plan efficacité que sur le plan tolérance. La survie globale est de 84% à 08 ans, ce qui rejoint les résultats de l'étude IRIS 85%. La survie sans événement (EFS) à 8ans est de 76%, cette dernière est corrélée au score de Sokal ($p < 10^{-3}$), ce qui rejoint les résultats des autres séries publiées. Le monitoring moléculaire des patients est indispensable pour un suivi optimal. L'éducation thérapeutique représente un volet important dans la prise en charge des patients pour une meilleure observance du traitement, ce qui conditionne l'efficacité et la réponse au traitement. ■

RÉFÉRENCES

1. Druker BJ, Guilhot F, O'Brien SG, et al. Five-year follow-up of patients receiving Imatinib for chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med.* 2006 ; 355(23):2408-2417. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa062867>. [PubMed].
2. O'Brien SG, Guilhot F, Larson RA, et al. Imatinib compared with interferon and low-dose cytarabine for

newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med.* 2003;348(11):994-1004.

3. O'Brien SG, Guilhot F, Goldman JM, et al. International randomized study of interferon versus STI571 (IRIS) 7-year follow-up: sustained survival, low rate of transformation and increased rate of major molecular response (MMR) in patients (pts) with newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phase (CML-CP) treated with Imatinib (IM) [abstract] *Blood.* 2008;112(11):76. Abstract 186.

4. Cervantes F, Lopez-Garrido P, Montero MI, et al. Early intervention during imatinib therapy on patients with newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia: a study of the Spanish PETHEMA group. *Haematologica.* 2010;95(8):1317-1324. <http://dx.doi.org/10.3324/haematol.2009.021154>. [PMC free article][PubMed].

5. Kantarjian HM, Hochhaus A, Saglio G, et al. Nilotinib versus imatinib for the treatment of patients with newly diagnosed chronic phase, Philadelphia chromosome-positive, chronic myeloid leukemia: 24-month minimum follow-up of the phase 3 randomised ENESTnd trial. *Lancet Oncol.* 2011;12(9):841-851. [http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045\(11\)70201-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045(11)70201-7).

6. Tomasz Sacha Imatinib in Chronic Myeloid Leukemia: an Overview *Mediterr J Hematol Infect Dis.* 2014; 6(1): e2014007. Published online 2014 Jan 2. doi: 10.4084/MJHID.2014.00.7.

7. Hanfstein B, Muller MC, Hehlmann R et al (2012) early molecular and cytogenetic response is predictive for long-term progression-free and overall survival in chronic myeloid leukemia (CML). *Leukemia* 26:2096-2102

8. Carmen Fava & Giovanna Rege-Cambrin & Giuseppe Saglio The choice of first-line Chronic Myelogenous Leukemia treatment *Ann Hematol* (2015) 94(Suppl 2):S123-S131 DOI 10.1007/s00277-015-2321-3.

9. Murai K1, Akagi T2, Shimosegawa K3, Sugawara T4, Ishizawa K5, Ito S1, Murai K6, Motegi M7, Yokoyama H8, Noji H9, Tajima K10, Kimura J11, Chou T12, Ogawa K9, Harigae H5, Kubo K2, Oba K13,14, Sakamoto J15, Ishida Y1. A prospective analysis of clinical efficacy and safety in chronic myeloid leukemia-chronic phase patients with imatinib resistance or intolerance as evaluated using European LeukemiaNet 2013 criteria. *Eur J Haematol.* 2015 Dec; 95(6):558-65. doi: 10.1111/ejh.12536. Epub 2015 Mar 25.

10. Noens L1, van Lierde MA, De Bock R, Verhoef G, Zachée P, Berneman Z, Martiat P, Mineur P, Van Eygen K, MacDonald K, De Geest S, Albrecht T, Abraham

Prevalence, determinants, and outcomes of nonadherence to imatinib therapy in patients with chronic myeloid leukemia: the ADAGIO study. *Blood.* 2009 May 28; 113(22):5401-11. doi: 10.1182/blood-2008-12-196543.

11. Eliasson L, Clifford S, Barber N, Marin D. Exploring chronic myeloid leukemia patients' reasons for not adhering to the oral anticancer drug imatinib as prescribed. *Leuk Res.* 2011 May; 35(5):626-30. doi: 10.1016/j.leukres.2010.10.017.

SUMMARY

EVALUATION OF THE IMATINIB TREATMENT OF PATIENTS FOLLOWED BY UP FOR CHRONIC MYELOGENOUS LEUKEMIA (CML) IN ALGERIA

A national, multicenter and retrospective study over 07 years (2007 to 2013): about 1007 cases (Algerian Working Group on CML: GAT-CML).

Introduction: The advent of anti-tyrosine kinase has revolutionized the treatment of chronic myeloid leukemia. Indeed, from 2000, the IMATINIB has become internationally the gold standard of treatment for CML chronic phase, while the allogeneic bone marrow transplant was previously, the 1st intention choice, when an HLA-matched donor is available. The aim of this study is to evaluate the efficiency and the toxicity of a treatment with Imatib, drug used in Algeria to treat patients with a CML chronic phase. The main objective is to evaluate the overall survival and the progression-free survival to these patients.

Materials and methods: This is a longitudinal study, National, multicenter, retrospective, which included Algerian patients with chronic phase CML and treated with Imatinib between January 2007 and December 2013. A technical form was established and distributed to different hematology services nationwide, to collect and analysis the following data: Patient's general characteristics, disease circumstances of discovery, clinical and para-clinical examinations at diagnosis (blood count, blood smear, bone marrow aspiration, karyotype, molecular biology, Sokal prognostic classification score and Eutos score). The treatment: Imatinib 400 mg / d, a therapeutic assessment is made according to the ELN recommendations adapted to our conditions and capabilities in Algeria: The complete hematologic response (CHR) at 03 months and molecular response and / or cytogenetic and / or Fish at 03, 06,12,

18.24 months and more according to capabilities. At 03 mois and / or 6 months we search a bcr/abl rate <10%. At 12 months we research a major molecular response (MMR), defined by a bcr/abl ratio lower than 0,1% according to the ELN. A ratio between 0.1 to 1% is considered a good response according to GAT-LMC (the CML study Algerian group) so the Imatinib treatment is continued. The median follow-up of patients in December 2014 is 48 months (12-96 months). Overall survival and progression-free survival are determined by using the Kaplan-Meier method. The descriptive analysis of the quantitative variables by calculating averages, medians and the qualitative variables, by using percentages and 95% confidence interval. The Chi2 test is used to compare between two variables.

Results: From 1024 collated sheets, 1007 are assessable; the median age of patients was 45.7 years (06-87 years), it's about 516 men and 491 women with a sex ratio M / F 1.05. The Diagnosis of CML is done by cytogenetic examination in 337 patients (33%), by Fish 214 patients (21%) and by molecular biology in 401 patients (39%). The prognostic classification (PC), according to the Sokal score, found a low risk in 18.7%, 55.5% as intermediate and a high risk in 25.8%. The Eutos score is less than 87 in 97% and more than 87 in 03%. A CHR at 03 mois

was found in 907 patients (90.1%). There is no correlation between the RHC at 03 months and the SOKAL PC ($p = 0.23$), by cons we found a significant correlation with the Eutos score ($p < 10^{-3}$). Molecular assessment at 03 and 06 months is performed in 222 patients and a bcr / abl ratio <10% was found in 66.5%. A molecular evaluation at 12 months showed an MMR in 55.4%. Cytogenetic evaluation (FISH) has found a 28.6% CCyR at 3 months, 45% at 6 months, 64.2% at 12 months (IRIS = 68%), 75.7% at 18 months (IRIS = 76.2%) and 85% at 24 months. Overall survival was 84% at 08 years and it is significantly correlated to Sokal score ($p < 10^{-6}$). A failure to TRT was found in 11.5% of the cases and a 10, 1% relapse rate, related to non-adherence to TRT in 50% of the cases and a lack of monitoring by a regular molecular control in the other half of the cases. Event-free survival at 08 years was 76%. A good clinical and biological tolerance is noted in 90% of the cases. Only 8% of patients were switched to a 2nd generation TKIs because of intolerance. A non-adherence to TRT was found in 14.4%.

Conclusion: Imatinib, used in Algeria, is a very interesting molecule both efficiency side and tolerance level. However, we must ensure a molecular monitoring for a patients optimal follow up, and an adequate patient education for a better adherence.

Résultats à 12 ans du traitement de la leucémie myéloïde chronique (LMC) en 1^{ère} phase chronique par l'Imatinib 400 mg (Imatib*)

Abdennebi N, Harieche F, Boukhemia F, Benakli M, Ahmed-Nacer R, Hamladji RM.

Service Hématologie-Greffe de Moelle Osseuse, CPMC Alger.

RESUME

L'évolution classique de la LMC en 3 phases (chronique, accélérée et blastique) a été révolutionnée par l'avènement des inhibiteurs de tyrosine kinase en chef de file l'Imatinib : on parle maintenant d'une maladie chronique. D'Avril 2005 à Octobre 2017, 222 patients (pts) atteints de LMC en 1^{ère} phase chronique ont été traités par Imatinib Indien : Imatib*. Il s'agit de 115 hommes et 107 femmes (sex ratio : 1.07) avec un âge médian de 44 ans (13 - 77). L'étude moléculaire par RT-PCR qualitative a précisé le type de transcrit chez 219 pts (98.6%) de type b2a2 : 98 pts (45%), b3a2 : 117 pts (53%), un double transcrit b2a2-b3a2 : 2 pts et un variant BCR-ABL : 2 pts (c3a2 et e1a2). Selon la classification de Sokal, 129 pts (58%) sont au score intermédiaire, 57 pts (26%) au haut risque et 36 pts (16%) au faible risque. Selon le score Eutos, 170 pts sont au faible risque (77%) et 52 pts au haut risque (23%). Tous les patients ont été traités par Imatib* 400mg après un traitement par Hydroxy-Urée chez 210 pts (94,5%) et de novo chez 9 pts. A noter que 3 pts ont reçu de l'Interféron pégylé car diagnostic sur grossesse au 1^{er} trimestre.

En Octobre 2017 avec un suivi médian de 76 mois (3-163) sur 204 pts évaluable. La réponse est hématologique complète chez tous les pts et moléculaire majeure (maladie résiduelle < 0,1% par RT-PCR quantitative) à 6, 12 et 24 mois respectivement chez 80/172 pts (46,5%), 101/155 pts (65%) et 99/124 pts (80%). Une résistance primaire ou secondaire est observée chez 53 pts/204 (26%) : pas de RMM au moins à 12 mois chez 26 pts, perte de RMM déjà obtenue chez 8 pts, ratio > 10% à 6 mois chez 5 pts et rechute hématologique chez 14 pts. Une progression vers une leucémie aigüe (LA) est observée chez 12 pts (6%) mais chez aucun pt au-delà de 6 ans.

Seize pts/204 (8%) sont décédés : 11 d'acutisation, 4 d'une complication probable de l'Imatib et un seul d'une cause non liée à la LMC. A 12 ans, 142 pts (69,5%) sont toujours traités par Imatib* 400 mg dont 72 en RMM4 et 7 en RMM3 à plus de 3 ans de traitement, les survies actuarielles globales (SG) et sans événement (SSE) sont respectivement de 88,6% et 77% comparables à celles de l'étude IRIS. Selon Sokal, les SG sont respectivement de 100, 88 et 84,3% et les SSE de 92,8 ; 76,3 et 71,6% pour les faibles, intermédiaires et hauts risques avec une différence significative seulement entre les faibles et hauts risques. Selon Eutos, les SG et SSE sont sans différence significative elles sont de 91 et 85,3% et 78,7 et 72,6% pour les faibles et hauts risques.

Mots clés : LMC, Imatib*, RHC, RMM.

INTRODUCTION

LA LEUCÉMIE MYÉLOÏDE CHRONIQUE (LMC) est un syndrome myéloprolifératif rare dont l'incidence dans le monde est de 1 à 2 cas/100000 habitants.

Cette incidence est plus faible en Algérie de 0,4 cas/100000 habitants en 2004 elle passe à 0,53 /100000 habitants en 2014 [1]. Elle est caractérisée par l'acquisition d'une anomalie cytogénétique spécifique : le chromosome Philadelphie (Ph) qui correspond à une translocation (9,22) [2, 3]. Il en résulte un gène de fusion BCR-ABL mis en évidence en biologie moléculaire par RT-PCR [4] qui code pour une protéine oncogénique Pbc-abl qui possède une forte activité enzymatique constitutive de type tyrosine kinase (TK) [5, 6] et qui est responsable de la maladie. Le pronostic de la LMC a été révolutionné par l'avènement des inhibiteurs de TK (ITK) dont le chef de file est l'Imatinib mésylate. L'Imatinib s'est avéré capable de réduire de façon significative la probabilité de progression ou de décès dans l'essai IRIS [7, 8]. Cet essai a également montré que le risque de progression devenait négligeable pour les patients (pts) qui obtenaient une réponse moléculaire majeure (RMM) précocement [9, 10]. Le suivi à long terme de l'essai IRIS a ensuite montré que les réponses étaient durables et se traduisaient par une espérance de vie proche de la normale [11]. Cependant, seuls 55% des pts sont restés traités par l'Imatinib au bout de 5 à 8 ans en raison d'intolérance ou de résistances qui sont présentes d'emblée (primaires) ou apparaissent au cours de l'évolution de la maladie (secondaires). Selon les recommandations de l'ELN (European Leukemia Net) 2009 [12] révisées en 2013 [13], les résistances sont jugées sur la profondeur de la réponse moléculaire en plus de la réponse hématologique complète (RHC). L'intolérance est définie comme une toxicité grade 3/4 répétée et persistante malgré des co-médications appropriées ou des règles hygiéno-diététiques adaptées.

L'Imatinib Indien : Imatib* a été introduit dans notre service d'hématologie à partir du mois d'Avril 2005 chez les patients porteurs d'une LMC sans donneurs HLA compatibles avec suivi cytogénétique et moléculaire (RT-PCR en temps réel) puis chez tous les patients à partir de Septembre 2007 après validation de la molécule sur 40 patients [14].

PATIENTS ET MÉTHODES

Sur une période de 12 ans : Avril 2005 à Octobre 2017, 222 patients atteints de LMC en première phase chorni-

-que ont été traités par Imatib*. Il s'agit de 115 hommes et 107 femmes (sex ratio : 1.07), avec un âge médian de 44 ans (13-77). Le délai moyen premier signe diagnostique est de 2 mois (0-12).

Les caractéristiques cliniques (Tableau 1)

• Les circonstances diagnostiques : diagnostic fortuit chez 75 pts (34%), fait à l'occasion de douleurs de l'hypochondre gauche (HG) chez 73 pts (33%), de signes généraux chez 50 pts (22.5%), de complications chez 15 pts (7%) (syndrome hémorragique cutané : 7 pts, priapisme : 3 pts, troubles visuels : 3 pts et nodules sous cutanés : 2 pts) et à l'occasion d'une grossesse chez 6 pts (3%) (3 au 1er trimestre, 2 au 2ème et une au 3ème trimestre). A noter que le diagnostic d'une LMC professionnelle est posé chez un pt (manipulateur en radiologie).

• L'examen clinique retrouve une splénomégalie (SPM) chez 153 pts (70%) avec un débord splénique (DS) \geq 10 cm chez 85 pts (55.5%).

Tableau 1 : caractéristiques cliniques des 222 patients atteints de LMC en phase chronique.

Nombre de patients	222
Age médian (années)	44 (13 - 77)
Sexe	H : 115, F : 107, sex ratio = 1,07
Délai diagnostique (mois)	2 (0 - 12)
Circonstances diagnostiques :	
- Fortuite	75 pts (34%)
- Douleurs de l'HG	73 pts (33%)
- Signes généraux	50 pts (22,5%)
- Complications	15 pts (7%)
- Grossesse	6 pts (3%)
Splénomégalie	153pts (70%)

Les caractéristiques biologiques

les taux moyens de globules blancs (GB) : 155 G/L (15-650) (GB > 100G/L chez 160 pts/222 soit 72%) , d'hématocrite : 33% (16-49), de plaquettes : 441 G/L (67-1400), de myélémie : 41% (3-95), de basophiles sanguins : 2% (0-13) et de blastes circulants : 2% (0-9). Le myélogramme au diagnostic est réalisé chez 105 pts (47%) et confirme la phase chronique. L'étude moléculaire par RT-PCR qualitative a permis de préciser le type de transcrite chez 219 pts (98.6%) avec un transcrite b2a2 : 98 pts (45%), b3a2 : 117 pts (53%), un double transcrite b2a2-b3a2 : 2 pts et un variant BCR-ABL : 2 pts (c3a2 et e1a2).

La classification pronostique

Selon Sokal, on retrouve un groupe intermédiaire majoritaire : 129 pts (58%), un haut risque : 57 pts (26%) et un faible risque : 36 pts (16%). Selon le score Eutos, 170 pts sont au faible risque (77%) et 52 pts au haut risque (23%).

Le traitement

L'Imatib* à la dose de 400 mg/j per os en une seule prise a été instauré après un délai moyen de 1.8 mois (7 jours-26 mois). Il a été introduit de novo chez 9 pts et après un traitement par Hydroxy-urée à la dose de 30 à 50 mg/kg/j chez 210 pts (94.5%) en attendant la confirmation moléculaire de la LMC. Un traitement par l'interféron pegylé à la dose de 90µg/semaine en sous cutané a été prescrit chez les 3 ptes diagnostiquées au 1^{er} trimestre de la grossesse.

La surveillance du traitement

Comporte 3 volets : clinique, biologique et moléculaire. Les surveillances clinique (tolérance de l'Imatib et DS) et biologique (hémogramme/FS, bilans hépatique, rénal et phospho-calcique, acide urique, protides totaux et albumine), sont réalisées de façon hebdomadaire le 1^{er} mois, bimensuelle le 2^{ème} mois puis mensuelle à partir du 3^{ème} mois. Elles permettent de définir la RHC sur les arguments suivants :

- Rate non palpable.
- GB < 10 G/L.
- Absence de myélémie.
- Plq < 450 G/L.
- Basophiles < 5%.

Le suivi moléculaire par RT-PCR quantitative réalisée chez 220 pts (en dehors des 2 variantes) tous les 3 mois la 1^{ère} année puis tous les 6 mois, permet de définir les réponses moléculaires selon une échelle internationale ou IS (International Scale) .

La réponse moléculaire majeure :

- RMM (3 log) : ratio BCR/ABL/ABL < 0.1%.
- RMM (4 log) : ratio < 0.01%.
- RMM (4.5 log) : ratio < 0.0032%.
- RMM (5 log) : ratio < 0.001%.

Les RMM 4, 4.5 et 5 log définissent les réponses moléculaires profondes.

RÉSULTATS DU TRAITEMENT

Evaluation en Octobre 2017 avec un suivi médian de 76 mois (3-163). Quatorze pts/222 (6%) sont non évaluables : 6 pts indisciplinés, 3 perdus de vue à 4, 18 et 50 mois et 5 pts intolérants à l'Imatib au début du traitement (une toxicité hépatique à 9 mois et 4 toxicités cutanées avant 3 mois). Nous avons évalué 204 pts qui ont atteint 3 mois d'Imatib.

La RHC : est obtenue chez tous les pts, sous hydroxy-urée : 85 pts/204 (42%) après un délai moyen de 1.2 mois (0.5-6) et sous Imatib : 119 pts (58%) après un délai moyen de 0.8 mois (0.25-3).

La réponse moléculaire

Est appréciée chez 172 pts/202 (sans les 2 variants) ayant atteint 6 mois de traitement à 6, 12 et 24 mois (Tableau 2).

Tableau 2 : Evaluation des réponses moléculaires.

Délai (mois)	Nombre pts	RMM(%)
06 (n = 172)	80	46.5
12 (n = 155)	101	65
24 (n = 124)	99	80

Une résistance primaire ou secondaire est observée chez 53 pts/204 (26%) : pas de RMM au moins à 12 mois chez 26 pts, perte de RMM déjà obtenue chez 8 pts, ratio > 10% à 6 mois chez 5 pts et rechute hématologique chez 14 pts. Le devenir de ces 53 pts est le suivant :

- Les 26 pts en absence de RMM sous Imatib 400mg à 12 mois, l'augmentation des doses à 600mg a permis l'obtention d'une RMM chez 18 pts (69%) après un délai moyen de 25 mois (3-60) et parmi les 8 autres pts, 6 pts ont été traités par Imatib 800mg : un seul est en RMM à 24 mois.

- Parmi les 8 pts en perte de RMM, l'augmentation des doses d'Imatib à 600mg a permis l'obtention d'une nouvelle RMM chez 7 pts après un délai moyen de 9,5 mois (3-24).

- Les 5 pts avec un ratio > 10% à 6 mois ont été mis sous Imatib 600mg : 3 pts sont évaluables en RMM à 18, 24 et 42 mois.

- Les 14 rechutes hématologiques/204 pts (7%) sous Imatib 400mg sont survenues après un délai moyen de 17,5 mois (3-63). Il s'agit d'un pt au faible risque de Sokal, 8 risques intermédiaires et 5 hauts risques et sur le plan moléculaire, 2 ont perdus la RMM déjà obtenue et 12 sont en absence de RMM au moment de la rechute. Parmi ces 14 pts en rechute hématologique, 12 ont bénéficié d'une augmentation des doses d'Imatib à 600mg avec obtention d'une RHC chez 8 d'entre eux dont 4 (50%) ont présenté une résistance secondaire à l'Imatib 600 (3 rechutes hématologiques et une absence de RMM à 24 mois). Une augmentation de l'Imatib à 800mg chez 8 pts : les 4 échecs hématologiques et les 4 résistances secondaires à l'Imatib 600 mg n'a permis l'obtention d'une RHC que chez un patient.

Une acutisation a été observé chez 12 pts/204 (6%) qui ont progressé vers une LA après un délai moyen de 21mois (5-44) dont 7 pts au risque intermédiaire et 5 au haut risque (aucun faible risque). Il s'agit de LANL : 6 pts, LAL : 3 pts, LA bi phénotypique : 2 pts et non précisé chez un patient. A noter que 3 pts ont acutisé après une rechute hématologique. Le pourcentage annuel des acutisations est illustré par la figure 1.

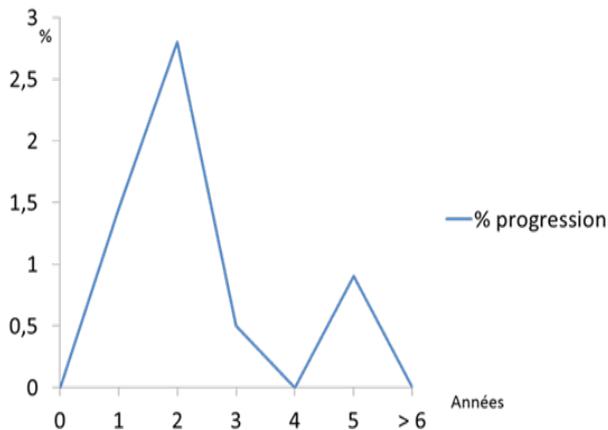


Figure 1 : Pourcentage d'acutisation par années.

Au total, 16 pts/204 (8%) sont décédés. Les causes de décès sont : 11 pts d'acutisation, 4 complications probables de l'Imatib dont une néoplasie pulmonaire sous Imatib 600, une insuffisance cardiaque globale et 2 insuffisances respiratoires. Seul un pt est décédé d'une cause non liée à la LMC : complication post opératoire pour une maladie de Crohn.

Les effets secondaires (ES) sont fréquents au cours des 6 premiers mois et sont représentés par des neutrothrombopénies : 85% pour les neutropénies avec un grade 3-4 chez 35 % qui sont résolutifs au bout de 10 jours d'arrêt d'Imatib et 62% pour les thrombopénies avec un grade 3-4 chez 37% et qui sont résolutifs au bout de 20 jours d'arrêt d'Imatib. Les ES extra-hématologiques sont dominés par les œdèmes péri-orbitaux, la prise de poids et les douleurs osseuses avec myalgies au début du traitement. La toxicité hépatique grade 1-2 est observée chez 21 pts/208 (10%) et la toxicité cutanée chez 11 pts (5%) résolutive à l'arrêt momentané de l'Imatib et corticothérapie de courte durée.

Au 30/10/2017, 142 pts/204 (69,5%) sont toujours traités par Imatib 400mg et sur les 222 pts diagnostiqués au début, 5 pts (2,25%) ont présenté une intolérance définitive à l'Imatib 400mg et 11 autres pts résistants soit un total de 16 pts (7%) ont été switchés vers un ITK de

2^{ème} génération. Parmi ces 142 pts, 72 sont en RMM4 et 7 en RMM3 à plus de 3 ans de traitement.

Les survies actuarielles globale (SG) et sans événements (SSE) (événement = décès, rechutes hématologique et moléculaire, acutisation) des 208 pts à 12 ans sont respectivement de 88,6% et 77% : (Tableau 3 & Figure 2).

Tableau 3 : Récapitulatif du devenir des pts sous Imatib 400 mg.

Résultats	Nombre	(%)
Nombre pts évaluables	204	92
Pts résistants primaires et secondaires	53	26
- Pas de RMM à 12 mois	26	
- Perte de RMM	8	
- Ratio > 10% à 6 mois	5	
- Rechutes hématologiques	14	
Acutisations	12	
Décès	16	18
Pts vivants sous Imatib 400 mg	142	69,5
SG		88,6
SSE		77

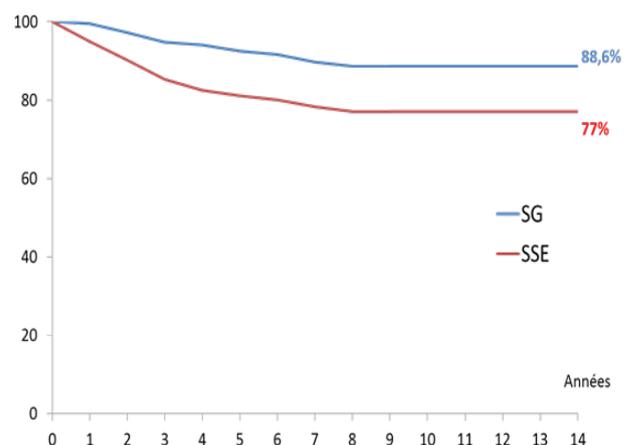


Figure 2 : SG, SSE des 208 pts à 12 ans.

Les SG selon le score de Sokal sont respectivement de 100 ; 88 et 84,3% (Figure 3) et les SSE de 92,8 ; 76,3 et 71,6% (Figure 4) pour les faibles risques, risques intermédiaires et hauts risques. On note une différence significative en terme de SG entre les faibles et hauts risques de Sokal ($p = 0,05$), différence non retrouvée entre les groupes faible risque et risque intermédiaire ($0,05 < p < 0,1$) et entre les groupes haut risque et risque intermédiaire ($p = 0,5$). Cette différence est également significative en terme de SSE entre les groupes faible et haut risque ($0,02 < p < 0,05$).

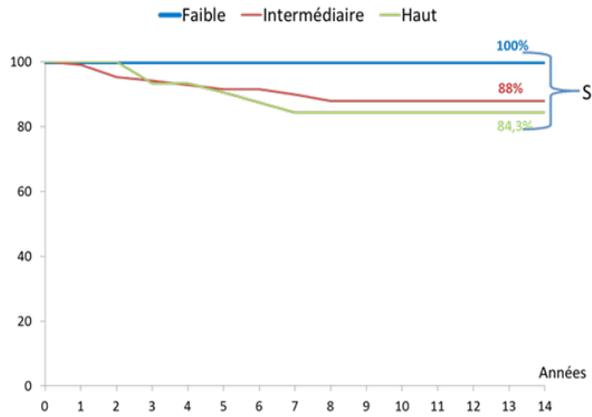


Figure 3 : SG selon le score de Sokal.

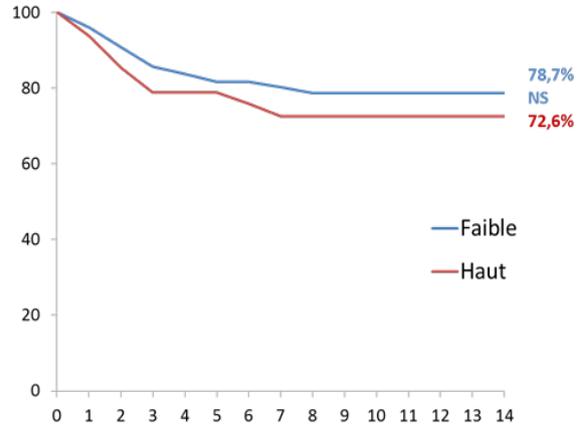


Figure 6 : SSE selon le score Eutos.

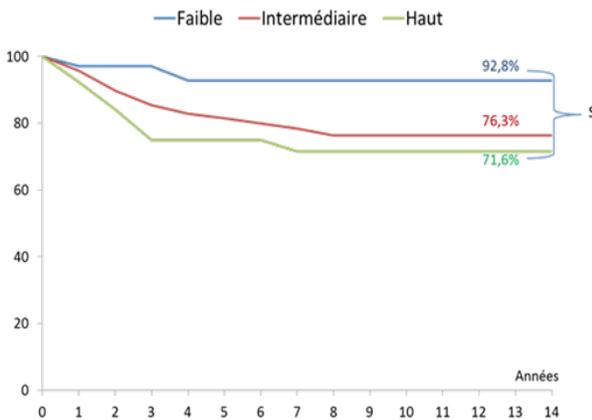


Figure 4 : SSE selon le score de Sokal.

Selon Eutos les SG sont respectivement de 91 et 85,3% (Figure 5) et les SSE de 78,7 et 72,6% (Figure 6) pour les faibles et hauts risques. Il n'y a pas de différence significative entre les 2 groupes en terme de SG ($0,3 < p < 0,5$) et de SSE ($p = 0,9$).

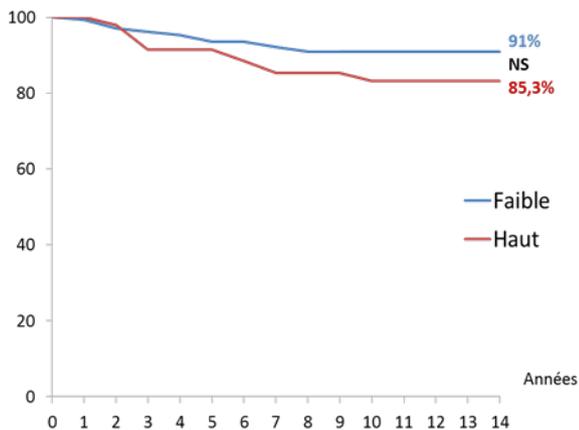


Figure 5 : SG selon le score Eutos.

DISCUSSION

L'âge médian de nos pts est de 44 ans plus jeune que dans la littérature où il est supérieur à 50 ans [15]. Le sex ratio de 1,07 dans notre série est inférieur à la littérature [15]. Le diagnostic fortuit à 34% dans notre série se rapproche de celui de la littérature. La splénomégalie est observée dans 70% de notre série versus 40% dans la littérature [15]. La répartition selon le type de transcrite a été comparé à celle d'une étude Britannique [16]. Il n'y a pas de différence significative. (Tableau 4).

Tableau 4 : comparaison de la répartition selon les types de transcrits.

Série / pourcentage	B2a2	B3a2	B2a2+b3a2
Melo JV (17) 40	40	55	5
Notre série	45	53	1

La répartition de nos pts selon le score de Sokal est significativement différente pour les 3 catégories par rapport à l'étude IRIS ($P < 0,0001$) [8]. (Tableau 5).

Tableau 5 : comparaison des pts selon le score de Sokal.

Série / score Sokal	Faible (%)	Intermédiaire (%)	Haut (%)
IRIS N = 553	52 N = 290	29 N = 163	18 N = 100
Notre série N = 222	16 N = 36	58 N = 129	26 N = 57

Les résultats thérapeutiques de notre étude ont été comparés sur le pourcentage de progression, le pourcentage de décès et sur les SG avec ceux de l'étude

IRIS(17), l'étude Allemande (German CML IV) [18] et l'étude GIMEMA [19]. (Tableau 6).

Tous nos pts ont obtenus une RHC à 3 mois versus 96,6% dans l'IRIS. Le pourcentage de progression est similaire aux autres études, à noter que le risque est nul au-delà de 6 ans.

Tableau 6 : comparaison des résultats de notre étude avec la littérature.

Etude	IRIS [17]	German CML IV [18]	GIMEMA [19]	Notre étude
Nb pts	553	1536	559	22
Age médian (années)	50	53	52	44
Progression %	6,5	6,7	5,7	6
Décès %	16,1	12	11,6	8
SG à 10 ans %	83	84	-	88,6

L'augmentation des doses d'Imatib à 600mg est efficace en cas d'absence de RMM au moins à 12 mois et en cas de perte de RMM déjà obtenue mais pas en cas de rechute hématologique. Le pourcentage de nos pts traités par 400mg d'Imatib au-delà de 8 ans est significativement plus élevé dans notre série : 68% versus 55% dans l'IRIS (P < 0,0001).

CONCLUSION

L'Imatib Indien à 400mg est un traitement de la LMC en 1ère phase chronique qui a confirmé avec le temps son efficacité, avec des résultats thérapeutiques satisfaisants et des SG et SSE équivalentes à celles de l'IRIS avec un coût dix fois moindre que la molécule princeps (Glivec).

RÉFÉRENCES

- Djouadi K, Approche épidémiologique de la LMC : étude Algéro-Tunisienne. A propos de 1195 cas sur 5 ans (2010 à 2014). XIIIème congrès maghrébin d'hématologie ; du 26 au 28 Mai 2016 : Hôtel SHERATON-ALGER.
- Nowell PC, Hungerford DA, A minute chromosome in human granulocytic leukemia. *Science* 1960; 132: 1497.
- Rowley TD, A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukemia (CML) identified by quinacrine fluorescence and giemsa staining. *Nature* 1973; 243: 290-3.
- Dellein A, Van Kessel AC et al, A cellular oncogene in translocated to the Philadelphia chromosome in CML.

Nature 1982; 300: 765-767.

- Shtivelman E, Lifshitz B, Gale RP, Canaani E, Fused transcript of abl and bcr genes in CML. *Nature* 1985; 315 (6020): 550-4.
- 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.
- Druker BJ, Talpaz M, Resta DJ et al, Efficacy and safety of a specific inhibitor of the Bcr/Abl tyrosine kinase in CML. *N.EngJMed* 2001; 344 (14): 1031-7.
- O'Brien SG, Guillot F, Larson RA et al, Imatinib compared with Interferon and low dose cytarabine for newly diagnosed chronic phase CML. *N.EngJMed* 2003; 348 (11): 994-1004.
- Hughes TP, Kaeda J, Branford S et al, Frequency of major molecular responses to Imatinib or Interferon alpha plus cytarabine in newly diagnosed CML. *N.EngJMed* 2003; 349 (15): 1423-32.
- Druker BJ, Guillot F, O'Brien SG et al, Five year follow up of patients receiving Imatinib for CML. *N.EngJMed* 2006; 355 (23): 2408-17.
- Deninger M et al, International randomized study of Interferon vs STI 571 (IRIS): 8 year follow up. *ASH 2009 ; Blood* 114: Abst 1126.
- Baccarani M et al, Chronic myeloid leukemia : an update of concepts and management recommendations of European Leukemia Net. *J.ClinOncol* 2009 december 10; 27 (35): 6041-51.
- Baccarani M et al, European Leukemia Net recommendations for the management of CML 2013 *Blood* 2013; 122 (6): 872-84.
- Abdennebi N Le traitement de la LMC en 1ère phase chronique par l'Imatinib chez les patients n'ayant pas de donneur HLA compatible. Thèse de doctorat en sciences médicales soutenue le 30/11/2010, Alger.
- Rousselot P, Diagnostic et traitement de la LMC *Revue du praticien* 2005 ; 55 : 1647-1657.
- Melo JV, The diversity of bcr/abl fusion proteins and their relation ship to leukemia phenotype. *Blood* 1996; 88: 2375-2383 (Editorial).
- Hochhaus A, Larson RA, Guillot F et al IRIS final analysis long term outcomes with imatinib treatment for CML. *N.Eng.J.Med* 2017, submitted.
- Kalmanti I, Sausselle S, Lausker M et al Safety and efficacy of imatinib in CML over a period of 10 years data from the randomized CML study IV. *Leukemia*, 2015; 29(5): 1123-1132.

19. Castagnetti F, Gugliotta G, Breccia M et al Long-term outcome of CML patients treated frontline with imatinib. *Leukemia*, 2015; 29: 1823-183.

SUMMARY

TWELVE YEAR RESULTS OF FIRST-PHASE CHRONIC MYELOID LEUKEMIA (CML) TREATMENT WITH IMATINIB 400 MG (IMATIB *) IN 222 PATIENTS.

The classic evolution of 3-phase CML (chronic, accelerated and blast) has been revolutionized by the advent of the tyrosine kinase inhibitors leading the way to Imatinib: we are now talking about a chronic disease. From April 2005 to October 2017, 222 patients (pts) with CML in the first phase were treated with Indian Imatinib: Imatib *. There are 115 men and 107 women (sex ratio: 1.07) with a median age of 44 years (13 - 77). The molecular study by qualitative RT-PCR specified the type of transcript in 219 pts (98.6%): b2a2 at 98 pts (45%), b3a2 at 117 pts (53%), a double transcript b2a2-b3a2 at 2 pts and variant BCR-ABL at 2 pts (c3a2 and e1a2). According to Sokal classification, 129 pts (58%) are at intermediate score, 57 pts (26%) at high risk and 36 pts (16%) at low risk. According to the Eutos score, 170 pts are at low risk (77%) and 52 pts at high risk (23%). All patients were treated with Imatib * 400mg after treatment with Hydroxy-Urea in 210 pts (94.5%) and de novo in 9 pts. It should be noted that 3 pts received pegylated interferon because of pregnancy diagnosis in the first trimester.

In October 2017, 204 pts are evaluable with a median follow-up of 76 months (3-163). The response is complete hematologic in all pts and major molecular (residual disease <0.1% by quantitative RT-PCR) at 6, 12 and 24 months respectively in 80/172 pts (46.5%), 101/155 pts (65%) and 99/124 pts (80%). Primary or secondary resistance is observed in 53 pts / 204 (26%) with no RMM at least at 12 months in 26 pts, loss of RMM already obtained in 8 pts, ratio > 10% at 6 months in 5 pts and hematologic relapse in 14 pts. A progression to acute leukemia is observed in 12 pts (6%) but in no pt beyond 6 years. Sixteen pts / 204 (8%) died: 11 of acutization, 4 of a probable Imatib complication and one of a non-CML cause. At 12 years old, 142pts (69.5%) are still treated with Imatib * 400 mg including 72 in RMM4 and 7 in RMM3 more than 3 years of treatment. The actuarial overall survival (OS) and event free survival (EFS) are respectively 88.6% and 77% comparable to those of the IRIS study. According to Sokascore, the OS are 100, 88 and 84.3% and the EFS are 92.8; 76.3 and 71.6% respectively for low, intermediate and high risk with only a significant difference between low and high risk. According to Eutos, the OS and EFS are not significantly different for low and high risk, they are 91 and 85.3% for OS and 78.7 and 72.6% for EFS. With a 12-years decline in use, we were able to confirm that the efficacy of Imatib is comparable to that of the originator molecule with a cost ten times lower, which made it possible to treat all the pts of the Algerian territory.

Key words : CML, Imatib *, CHR, MMR.

Allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) chez 23 patients atteints de Leucémie Myeloïde Chronique (LMC) en phase avancée ou résistants / intolérants aux inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK)

S. Zerkout, M.Benakli, F.Mehdid, M.Baazizi, N.Rahmoune, R.Belhadj, D.Ait ouali, H.Bouarab, RM.Hamladji, R.Ahmed Nacer

Service d'hématologie – greffe de moelle osseuse – Centre de Pierre et Marie Curie.

RESUME

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est un syndrome myéloprolifératif prédominant sur la lignée granuleuse associée à une anomalie cytogénétique spécifique connue sous le nom du chromosome de Philadelphie. Devant les résultats excellents à long terme avec le traitement par les ITKs en phase chronique, l'allo-greffe de CSH est actuellement limitée pour les patients résistants / intolérants aux ITKs, ou en phase avancée de la maladie (phase accélérée, phase blastique). Sur une période de 80 mois (de Mars 2008 à Novembre 2014), 23 patients atteints de LMC en phase avancée ou résistants /intolérants ont bénéficié d'une allogreffe géno-identique à partir de cellules souches périphériques. Au diagnostic, 06 patients (26%) étaient en phase myélocytaire dont 04 (17%) sont résistants aux ITK et 02 (9%) intolérants aux ITKs et 17 patients (74%) étaient en phase avancée de la maladie dont 02 (9%) en phase accélérée et 15 (65%) en phase blastique dont 3 acutisations d'emblée. Vingt et un (91%) patients ont reçu un conditionnement myéloablatif et 2 (09%) patients un conditionnement atténué. Douze patients ont été mis sous ITK post-greffe. Trois (13%) patients ont présenté des complications infectieuses sévères à type de pneumopathie dont 02 sont tardives responsables de décès respectivement à 6 et 10 mois post greffe. La maladie du greffon contre l'hôte (GVH) dans sa forme aiguë est observée chez 08 (35%) patients dont 05 (22%) de grade III-IV. La GVH chronique est survenue chez 05 (29%) patients dont 03 (15%) de forme extensive. La rechute est constatée chez 05 (22%) patients au cours de la première année après un délai moyen de 5,4 mois (1-11), dont 03 patient sous ITK post-greffe. Treize (56%) patients sont vivants avec un suivi médian est de 41 mois dont 11 (48%) sont en rémission moléculaire majeure RMM (parmi eux 8 pts sous ITK post greffe), et 02 (8%) en réponse hématologique après traitement de la rechute. Dix (43%) patients sont décédés dont 07 (30%) patients suite à des complications liées à la procédure (TRM) : 04 (17%) et trois (13%) patients sont décédés suite à une rechute de la maladie dont une précoce à 1 mois. Les survies actuarielles globale et sans évènement à 96 mois sont respectivement de 56% et 48%. L'allogreffe de CSH reste le seul moyen curateur indiquée dans les formes intolérantes et résistantes aux ITK, les résultats peuvent être optimisés par l'utilisation rationnelle des ITKs avant la greffe, le régime de conditionnement, le monitoring BCR-ABL et la gestion des rechutes. L'utilisation des ITKs en post-greffe permet de maintenir la rémission moléculaire dans les formes avancées de la maladie.

INTRODUCTION

LA LEUCÉMIE MYÉLOÏDE CHRONIQUE(LMC) est un syndrome myéloprolifératif prédominant sur la lignée granuleuse associée à une anomalie cytogénétique spécifique connue sous le nom du chromosome de Philadelphie, qui consiste en une translocation réciproque entre les chromosomes 9 et 22. Il en résulte la fusion de l'oncogène Abelson (ABL) du chromosome 9 et le gène Breakpoint cluster region (BCR) du chromosome 22, créant un gène de fusion BCR-ABL qui code pour une protéine à forte activité tyrosine kinase responsable de la phosphorylation des protéines de la transduction du signal de la multiplication leucémique. Autrefois la LMC était mortelle à cause de sa progression vers une leucémie

aiguë (acutisation). Cette évolution est différée voire éradiquée grâce à l'avènement de la thérapie ciblée, qui permet des réponses moléculaires, introduite à partir de 2003 : inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK) dont la première molécule est l'Imatinib mésylate qui a permis d'obtenir une survie globale et sans progression à 6 ans de 88% et 93% respectivement [1]. Cependant 15 - 20% des patients développent une résistance ou une intolérance à l'Imatinib amenant à introduire un ITK de 2^{ème} génération avec une réponse estimée à 50% [2]. Devant les résultats excellents à long terme avec le traitement par les ITKs en phase chronique, l'allogreffe de CSH est actuellement limitée pour les patients résistants / intolérants aux ITKs, ou en phase avancée de la maladie (phase accélérée, phase blastique) [3]. En Algérie, l'indication de l'allogreffe de CSH dans la LMC

Tableau 1 : caractéristiques des patients.

Paramètres	Patients (n = 23)
Age médian (ans)	29 (11- 50)
<18	02 pts (08,7%)
≥18	21 pts (91,3%)
Sex -ratio (H/ F)	1,8 (15/08)
Délai moyen diagnostic-greffe (mois)	25 (5- 60)
Statut de la maladie au diagnostic	
Myélocytaire :	06 (26%) pts
Patients résistants aux ITK	04 (17%)
Patients intolérants aux ITK	02 (09%)
Accélérée	02 (09%) pts
Acutisée	15 (65%) pts dont 03 d'emblée
Traitement reçu avant la greffe	
Imatinib	10 (43%): 2 résistants, un intolérant et 7 acutisations
Imatinib puis Dasatinib	05 (22%): 2 résistants, un intolérant, une accélérée et une acutisation
Hydrée	6 (26%): 5 acutisations et une accélérée
Induction (acutisation d'emblée)	02 (09%) rapidement greffés
Statut de la maladie à la greffe	
Rémission hématologique	13 (56,5%) pts dont 7 traités par ITK (3 RMM)
Myélocytaire	03 (13%) pts résistants aux ITK
Accélérée	05 (21,7%) pts dont 3 traités par ITK
Blastique	02 (8,7%) pts dont 01 traité par ITK
Score EBMT	
02	04
03	09
04	08
05	02

en phase chronique a été maintenue jusqu'en décembre 2007. A partir de Janvier 2008, en raison de sa disponibilité, l'utilisation de l'Imatinib (Imatib®) a remplacé l'indication de l'allogreffe, qui cependant a été maintenue en première intention pour les patients en phase avancée et pour les patients intolérants /résistants aux ITK [4] dont les résultats font l'objet de ce travail.

METHODES ET PATIENTS

Sur une période de 80 mois (de Mars 2008 à Novembre 2014), 23 patients atteints de LMC en phase avancée ou résistants /intolérants ont bénéficié d'une allogreffe géno-identique. Les caractéristiques des patients sont détaillées dans le Tableau 1. L'allogreffe a été réalisée à partir d'un donneur HLA géno-identique chez tous les patients. L'âge médian des donneurs est de 28 ans (7-52) et le sex-ratio (M/F) de 2,2. Parmi les donneurs, 7 étaient de sexe féminin et 04 couples D/R sont M/F.

Le statut sérologique donneur /receveur (Tableau 2) : un seul couple receveur/donneur (R/D) est complètement négatif pour le cytomégalovirus (CMV). En ce qui concerne la toxoplasmose, 6 couples où les receveurs ont une sérologie positive et le donneur une sérologie négative, les 6 patients ont reçu des mesures prophylactiques post greffe avec du Bactrim. Deux patients sont porteurs de l'hépatite B, ils ont bénéficié d'une prophylaxie par des immunoglobulines anti HbS en post greffe et les 2 donneurs ont été vaccinés contre l'hépatite B en pré greffe. Tous les couples D/R sont négatifs pour l'hépatite C et la sérologie HIV (Tableau 2).

Tableau 2 : statut sérologique des couples receveur /donneur.

Couples D/R	R+/D+	R+/D-	R-/D+	R-/D-
CMV	19	01	02	01
TOXO	09	06	02	06
HCV	-	-	-	23
HBV	-	02	-	21
HIV	-	-	-	23

Le conditionnement a comporté une chimiothérapie seule. Vingt et un (91%) patients ont reçu un conditionnement myéloablatif selon plusieurs protocoles (Tutshka avec ou sans VP16, BAM12) chez l'adulte et Santos chez l'enfant, et 2 (09%) patients un conditionnement atténué associant Fludarabine et Busilvex (Tableau 3). La prévention de la maladie du greffon contre l'hôte (GVHD) a consisté à l'association de ciclosporine

et méthotrexate, selon le protocole Seattle, pour le conditionnement myéloablatif et de la ciclosporine et mycophénolate mofétil (Cell cept) pour le conditionnement atténué. Tous les patients ont reçu un greffon de cellules souches périphériques (CSP), obtenu par cytophérèse (Optia, TerumoBCT) à J5 et J6 après mobilisation des cellules chez le donneur par G-CSF seul à la dose de 10 g/Kg/j de J1 à J5. La qualité des greffons est analysée par la quantification du taux de cellules CD34+ sur cytométrie en flux. Le taux moyen de cellules CD34+ transfusé est de $10,31 \times 10^6$ /Kg poids receveur (2,9 à 24).

Durant la période d'aplasie, tous les patients ont reçu des produits sanguins irradiés dans le but de maintenir un taux d'hémoglobine supérieur à 6,5 g/l et un taux de plaquettes supérieur à $10\ 000/\text{mm}^3$ chez un sujet apyrétique et sans syndrome hémorragique menaçant.

Tableau 3 : Différents conditionnements et prévention de la GVHD.

Conditionnements	Nombre patients
Myéloablatif :	
Tutshka (Busilvex 12,8 mg/kg + Endoxan 120 mg/kg)	16
BAM 12 (Busilvex 12,8 mg/kg + Aracytine 12 g/m ² + Melphalan 140 mg/m ²)	02
Tutshka-VP16 (Busilvex 12,8 mg/kg + Etoposide 30 mg/kg + Endoxan 120 mg/kg)	02
Santos (Busilvex selon le poids de l'enfant + Endoxan 200 mg/kg)	01
Atténué :	
FLU-BU (Fludarabine 200 mg/m ² + Busilvex 12,8 mg/kg)	02

La prophylaxie anti infectieuse a comporté les mesures d'hygiène usuelles, une décontamination digestive par voie orale (sirop Cachouga et Fluconazole 200 mg/j pour les 21 patients sous flux lumineuse ; Ciflox 1g/j associé à Ercefuryl 800 mg/j et Fungizone buvable pour 2 autres patients), une alimentation stérile, des bains de bouche par du sérum bicarbonaté et Fungizone et la mise en route par voie parentérale de Fluconazole 400 mg/j, de Acyclovir 15 mg/kg/j et d'une alimentation parentérale dès l'installation d'une mucite. La recherche de l'antigénémie CMV (pp60), par immuno fluorescence, est réalisée dès la sortie d'aplasie toutes les semaines jusqu'à J100 afin de détecter une réactivation virale amenant à un traitement préemptif (Ganciclovir, Foscavir).

La date de la prise du greffon est définie à partir du premier jour où le taux de polynucléaires neutrophiles (PNN) est $\geq 500/\text{mm}^3$. La sévérité de la GVHD, aiguë et chronique, est établie selon les critères décrits antérieurement [5, 6]. La réponse moléculaire est analysée par biologie moléculaire, par RT-PCR quantitative en temps réel, réalisée en pré greffe pour les patients en rémission hématologique, et durant le suivi post-greffe de façon trimestrielle pour tous les patients. La rémission moléculaire majeure est définie par un transcrit bcr-abl $< 0,1\%$. Douze patients ont été mis sous ITK post-greffe (Imatinib : 400 mg/J ; Dasatinib : 100 mg/j). Le choix de l'ITK en post-greffe est porté en fonction du statut de la maladie avant la greffe : les formes résistantes à l'Imatinib avant greffe ont été mises sous Dasatinib, les formes traitées par Hydrea ont été mises sous Imatinib, et les formes intolérantes ont été remises sous Imatinib. Onze patients n'ont pas reçu d'ITK post greffe : 4 patients résistants, en pré greffe, à l'Imatinib et au Dasatinib et 7 patients ayant présenté des complications post greffe. Au 31 Décembre 2015, le suivi médian est de 41 mois (13 à 93). Les courbes de survie globale et sans événement sont calculées par la méthode de Kaplan Meier.

RESULTATS

Tous les patients ont présenté une aplasie, attendue, post conditionnement avec une durée moyenne de 12 jours (02-23). La sortie d'aplasie (PNN $\geq 500/\text{mm}^3$) est observée en moyenne au 15ème jour post greffe (J8 à J23).

Tableau 4 : aplasie et support transfusionnel après le conditionnement.

Aplasia	
Durée moyenne (jours)	12 (02-23)
Prise du greffon (Jour (J) post greffe)	
Taux de PNN $\geq 500/\text{mm}^3$	J15 (8-23)
Taux de Plaquettes $\geq 20\ 000/\text{mm}^3$	J15 (9-22)
Support transfusionnel	
Nombre de patients transfusés :	
En CG	13 (56,5%)
En CUP	21 (91%)
Nombre moyen d'unités transfusées par patient :	
CG	1,5 (0-6)
CUP	2,91 (0-18)
Durée d'hospitalisation (jours)	27 (24-32)

Durant la période d'aplasie, 13 (56,5%) patients ont nécessité des transfusions en culots globulaires (CG) avec une moyenne de 1,5 CG/patient (0 à 6), et 21 (91%) en concentrés unitaires plaquettaires (CUP) avec une moyenne de 2,91 CUP/patient (0 à 18) (Tableau 4).

Les complications

Trois (13%) patients ont présenté des complications infectieuses sévères à type de pneumopathie dont 02 sont tardives responsables de décès respectivement à 6 et 10 mois post greffe.

La maladie du greffon contre l'hôte (GVH) dans sa forme aiguë est observée chez 08 (35%) patients dont 05 (22%) de grade III-IV. La GVH chronique est survenue chez 05 (29%) patients dont 03 (15%) de forme extensive. Quatre patients (17%) ont présenté une réactivation virale au CMV après un délai moyen de 52 jours post greffe (40 à 60), et 03 (13%) une cystite hémorragique tardive après un délai moyen 62 jours post greffe (40 à 90). La maladie veino-occlusive (MVO) n'a été observée chez aucun patient. La rechute est constatée chez 05 (22%) patients au cours de la première année après un délai moyen de 5,4 mois (1-11), dont 03 patient sous ITK post-greffe (Tableau 5).

Tableau 5 : complications principales de la procédure greffe.

Complications Principales	Nombre Patients
Pneumopathie infectieuse sévère	03 (13%)
Précoce	1
Tardive	2 (décédés)
GVH aiguë	08 (35%)
Grade I -II	03 (13%)
Grade III- IV	05 (22%)
GVH chronique	05 (29%)
Limitée	02 (12%)
Extensive	03 (18%)
Réactivation CMV	04 (17%)
Cystite hémorragique tardive	03 (13%)
MVO	0
Rechute	05 (22%) (03 sous ITK post-greffe)

Le devenir des patients

Treize (56%) patients sont vivants avec un suivi médian est de 41 mois dont 11 (48%) sont en rémission moléculaire majeure RMM (parmi eux 8 pts sous ITK

post greffe), et 02 (8%) en réponse hématologique après traitement de la rechute dont un patient ayant rechuté en phase myélocytaire traité par Dasatinib après échec aux injections de lymphocytes du donneur (DLI) et l'autre rechute en phase blastique mis en rémission grâce à un traitement de rattrapage par polychimiothérapie. Dix patients (43%) sont décédés dont 07 patients (30%) suite à des complications liées à la procédure (TRM) : 04 (17%) par GVH aiguë sévère, 02 par une infection sévère tardive à type de pneumopathie bilatérale, 01 par une occlusion intestinale à 1 mois. Trois (13%) patients sont décédés suite à une rechute de la maladie dont une précoce à 1 mois (Tableau 6).

Tableau 6 : devenir des patients et causes de décès.

Vivants	13 (56,5%)
Rémission moléculaire	11 (48,8%)
Rémission hématologique post rechute	02 (8,7%)
Décédés	10 (43,5%)
TRM	07 (30%)
GVHA sévère	04 (17,4%)
Infection	02 (8,6%)
Autre	01 (4%)
Rechute	03 (13%)

Onze patients n'ont pas reçu d'ITK post greffe pour divers raisons : 6 décès précoces (GVHA : 4, occlusion intestinale : 1, rechute précoce : 1), 4 patients greffés pour résistance aux ITK de 1^{ère} et 2^{ème} génération, un patient greffé en 2008 traité seulement par hydréa en pré greffe (époque où seuls les patients ne disposant pas de donneurs compatibles étaient mis sous ITK). Douze patients ont reçu un ITK après un délai moyen post greffe de 2,5 mois (1-6). Le traitement a dû être arrêté chez deux patients à cause d'une mal tolérance (digestive,

hépatique) et retardé chez un patient pour une leuco-neutropénie (Tableau 7). Les survies actuarielles globale et sans évènement à 96 mois sont respectivement de 56% et 48% (Figure 1).

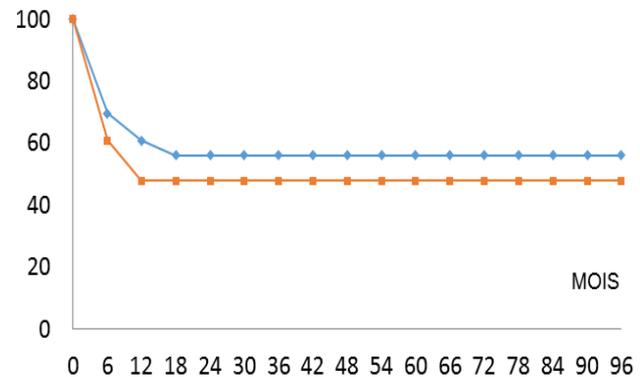


Figure 1 : courbes de survie (SG et SSE).

DISCUSSION

L'allogreffe de CSH, procédure curatrice mais non dénuée de morbidités et de mortalité (TRM), était le traitement de référence dans la LMC en phase chronique avant l'ère des ITK avec une survie globale à 10 ans estimée à 58% et sans évènement à 50% (7). L'avènement des ITKs (Imatinib et ITK 2^{ème} génération) a bouleversé la prise en charge de la LMC. En effet, les ITK ont permis des rémissions cytogénétiques complètes estimée à 87% à 60 mois selon l'étude IRIS groupe Imatinib en première ligne [8] avec de longue survie estimée à 93% à 8 ans pour la survie globale et à 92% pour la survie sans progression [9]. Les ITK permettent également des réponses plus profondes avec des rémissions moléculaires majeures [8, 10] faisant discuter l'arrêt du traitement. L'efficacité des ITK dans la LMC en phase myélocytaire a fait reléguer l'indication de l'allogreffe de CSH en 3^{ème} ligne : en cas

Tableau 7 : Le devenir des patients selon le statut de la maladie au diagnostic.

Statut Maladie au diagnostic	Nombre	ITK post greffe	Pts vivants en RC avec RMM	Rechute	Vivants	Décédés
Phase myélocytaire	06	02	03 (2 sont sous ITK)	01	04	02 (TRM : 2)
Phase accélérée	02	01	01 sous ITK	00	01	01 (TRM : 1)
Phase acutisée	15	09	07 (5 sont sous ITK)	04 (3 sous ITK)	08	07 (TRM : 4) (Rechute : 3)
Total	23	12	11 pts Vivants (8 sont sous ITK)	05 (3 sous ITK)	13	10

de résistance ou d'intolérance aux ITK de 1ère puis de 2ème génération [11]. Cependant elle peut être discutée d'emblée, en première ligne dans les phases avancées de la maladie (phase accélérée, phase d'acutisation) en raison de l'efficacité moindre des ITK. Les résultats de l'allogreffe sont meilleurs dans le cas d'une allogreffe indiquée en phase myélocytaire pour échec d'ITK que dans les formes avancées de la maladie en première ligne [12], la survie globale à 3 ans est de 94% versus 59% [13]. Notre étude a porté sur l'allogreffe géno-identique de CSH chez 23 patients atteints de LMC dont 17 patients (74%) en phase avancée de la maladie (15 en acutisation et 2 en phase accélérée) et 6 patients (26%) en phase myélocytaire résistants ou intolérants aux ITK. Il s'agit de sujets jeunes dont la moyenne d'âge est de 29 ans (11-50) avec un délai moyen diagnostic-greffe supérieur à 1 an soit 25 mois (5-60). Quinze patients ont reçu des ITK en post greffe dont 5 pts des ITK de 2ème génération en deuxième ligne. Dix-neuf patients (82,6%) avaient un score EBMT [14] supérieur ou égal à 3. Le statut de la maladie à la greffe est une rémission hématologique chez 13 pts (56,5%), une phase myélocytaire chez des patients résistants ou intolérants aux ITK chez 3 (13%) patients et en phase avancée persistante chez 7 (30,4%) patients (accélération : 5 ; blastique : 2). Parmi les complications principales de la procédure les taux de survenue de la GVH aiguë : 35% dont 22% de grade III-IV et de la GVH chronique : 29% dont 18% extensives sont similaires qu'à ceux de la littérature [13, 15] aussi bien avec un conditionnement myéloablatif qu'un conditionnement non myéloablatif [16]. La TRM est de 30% dans notre série, en relation essentiellement avec une GVH aiguë et infection, également ne diffère pas avec ceux de la littérature Algérienne 27-28% [15, 16] mais plus élevée que l'étude Allemande : 8%, German CML study group, qui ne concerne aucun patient en phase blastique [13] où la majorité des patients étaient en phase myélocytaire 56/84 (66,6%) en pré greffe par rapport à notre série où 17/23 pts (74%) étaient en phases avancées dont 15 pts en acutisation. Le taux de rechute post greffe estimé entre 12 et 22,8% dans la littérature (16) est à 22%, soit 5 patients dont 3 sous ITK post greffe, dans notre série. Dans notre série, 13 (56,5%) patients sont vivants dont 11 patients en rémission moléculaire et les survies actuarielles globale et sans événement à 96 mois sont respectivement de 56% et 48%. En terme de survie globale et de survie sans événement (les événements sont les décès et les rechutes) les résultats de notre série rejoignent ceux de la littérature [13, 17, 18] alors qu'elle englobe relativement plus de phases avancées essentiellement phase blastique.

En effet, le groupe EBMT a rapporté une étude sur 187 patients (âge médian : 50 ans) ayant bénéficié d'un conditionnement atténué : la survie globale à 3 ans est de 58% et la survie sans progression est de 37% (17). Une autre étude a porté sur 51 patients, 68,6% sont vivants avec une survie globale à 8 ans de 68% et une survie sans événement à 46% (18). Une étude prospective conduite par German CML study group a rapporté 84 patients (âge médian : 37 ans) ayant reçu un conditionnement myéloablatif entre 2003 - 2008, 19 en phase chronique en première intention, 37 en phase chronique après échec à l'Imatinib et 28 en phase avancée. La survie globale à 3 ans est respectivement de 88%, 94%, 59% [13]. De même nos résultats sont similaires à ceux de la littérature Algérienne [15, 16] où dans les 2 séries n'incluant aucun patient en phase blastique : les survies globales sont respectivement de 58,5 à 65% et les survies sans événement de 44,6% à 59%. Les bons résultats obtenus dans notre série dont la majorité des patients (65%) sont en phase blastique ne peuvent être expliqués par la seule utilisation des ITK en pré greffe. Une analyse du CIBMTR a prouvé le rôle des ITKs avant la greffe pour les patients en phase chronique, mais pas pour les phases avancées [19]. Par contre la mise sous ITK des patients en post greffe semble avoir amélioré nos résultats : 8/12 pts mis sous ITK post greffe sont vivants en RMM.

CONCLUSION

La leucémie myéloïde chronique est une maladie chronique avec de longues survies depuis l'avènement des ITKs, qui ont limité le recours à l'allogreffe. L'allogreffe de CSH reste le seul moyen curateur indiquée dans les formes intolérantes et résistantes aux ITK, les résultats peuvent être optimisés par l'utilisation rationnelle des ITKs avant la greffe, le régime de conditionnement, le monitoring BCR-ABL et la gestion des rechutes. L'utilisation des ITKs en post-greffe permet de maintenir la rémission moléculaire dans les formes avancées de la maladie. ■

RÉFÉRENCES

1. Hochhaus A, O'Brien SG, Guhot F et al, Six year follow-up patients receiving imatinib for the first line treatment of chronic myeloid leukemia. *Leukemia* 2009; 23: 1054-1061.
2. Kantarjian HM, Giles FJ, Ballakn et al, Nilotinib is effective in patients with chronic myeloid leukemia in

chronic phase after imatinib resistance or intolerance: 24 months follow-up results. *Blood* 2011; 117: 1141-1145.

3. Baccarani M, Deininger MW, Rostig et al. European leukemia NET recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. *Blood* 2013; 122: 872-884.

4. Benakli M, Ahmed Nacer R, Hamladij RM et al. Allogreffe de cellules souches hématologiques dans la LMC. La revue Algérienne d'hématologie N° 3 Septembre 2010.

5. Glucksberg H, Storb R et al. Clinical manifestations of graft versus host disease in human recipients of marrow from HLA matched sibling donors. *Transplantation* 1974; 18: 295-304

6. Sullivan KM, Agura E et al. Chronic graft versus host disease and other late complications of bone marrow transplantation. *Semin Hematol* 1991; 28: 250-259.

7. Arora M, Weisdorf DJ, Spellman SR. HLA identical sibling compared with 8/8 matched and mismatched unrelated donor bone marrow transplant for chronic phase chronic myeloid leukemia. *Journal of Clinical Oncology* 2009; 27: 1644-1652.

8. Druker BJ et al. Five year follow-up of patients receiving imatinib for CML. IRIS study. *New Engl Journal of medicine* 2006; 355: 2408-2418.

9. Deininger M et al. IRIS Study - Long Term Follow-Up. *Blood* 2009; 114: (abstract 1126).

10. Abdennebi N. Le traitement de la leucémie myéloïde chronique en première phase chronique par l'Imatinib chez les patients n'ayant pas de donneur HLA compatible. Thèse DESM 2010.

11. Courtoisie Olavaria E. Mécanisme de résistance de la leucémie myéloïde chronique à l'Imatinib et traitement de deuxième ligne. CMWP EBMT 2015.

12. Clift RA, Buckner CD et al. Marrow transplantation for patients in acceleration phase of chronic myeloid leukemia. *Blood* 1994; 84: 4368-4373.

13. Saussele S, Lauskel M et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for chronic myeloid leukemia in the imatinib era: evaluation of its impact within a subgroup of the randomized German CML study IV. *Blood* 2010; 115: 1880-1885.

14. Gratwohl A, Hermans J et al. Risk assessment for patients with chronic CML before allogeneic blood or marrow transplantation. *The Lancet* 1998; 352 : 1087.

15. Ramaoun M. Allogreffe de cellules souches hématopoïétiques géno-identiques dans la leucémie myéloïde chronique. Thèse DESM 2006.

16. Benakli M. Greffe allogénique non myéloablative.

Thèse DESM 2005.

17. Crawley C et al. Outcomes of reduced-intensity transplantation for chronic myeloid leukemia: an analysis of prognostic factors from the chronic working party of the EBMT. *Blood* 2005; 106: 2969-2976.

18. Anishp N, Michael J Barnett et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation is an effective salvage therapy for patients with advanced disease or failing treatment with tyrosine kinase inhibitors. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015; 21: 1437-1444.

19. John Barrett A and Sawa Ito. The role of stem cell transplantation for chronic myelogenous leukemia in the 21st century. *Blood* 2015; 125: 3230-3235.

SUMMARY

HEMATOPOIETIC STEM CELL (HSC) ALLOGRAFT IN 23 PATIENTS WITH ADVANCED PHASE CHRONIC MYELOID LEUKEMIA (CML) OR RESISTANT / INTOLERANT TO TYROSINE KINASE INHIBITORS (TKI).

Chronic myeloid leukemia (CML) is a predominant myeloproliferative disorder in the granular lineage associated with a specific cytogenetic abnormality known as the Philadelphia chromosome. Given the excellent long-term results with treatment with chronic phase ITKs, CSH allograft is currently limited for patients who are resistant / intolerant to ITKs, or in the advanced phase of the disease (accelerated phase, blast phase). Over a period of 80 months (from March 2008 to November 2014), 23 patients with advanced phase CML or resistant / intolerant benefited from a geno-identical allograft from peripheral stem cells. At diagnosis, 06 patients (26%) were in the myelocyte phase, of which 04 (17%) were resistant to ITK and 02 (9%) intolerant to ITKs and 17 patients (74%) were in the advanced phase of the disease, including 02 (9%) in the accelerated phase and 15 (65%) in the blast phase of which 3 acutisation from the outset. Twenty-one (91%) patients received myeloablative conditioning and 2 (09%) patients received attenuated conditioning. Twelve patients were put under ITK post-transplant. Three (13%) patients had severe infectious complications such as pneumonia, of which 02 are late responsible for death respectively at 6 and 10 months post transplantation. Graft-versus-host disease (GVHD) in its acute form is observed in 08 (35%) patients including 05 (22%) grade III-IV. Chronic GVHD occurred in 05 (29%) patients including 03 (15%) of extensive form. Relapse was observed in 05 (22%) patients in the first year after a mean delay

05 (22%) patients in the first year after a mean delay of 5.4 months (1-11), including 03 patients under ITK post-transplant. Thirteen (56%) patients are alive with a median follow-up of 41 months of which 11 (48%) are in major molecular remission RMM (among them 8 pts under ITK post transplant), and 02 (8%) in hematologic response after treatment relapse. Ten (43%) patients died, of which 07 (30%) patients with procedural complications (MRTs): 04 (17%) and three (13%) patients died following a rela-

pse of the disease, one of which early to 1 month. The 96-month total and event-free actuarial survivals are respectively 56% and 48%. CSH allograft remains the only curative method indicated in the advanced and intolerant / resistant forms of ITK, the results can be optimized by the rational use of ITKs before the transplant, the conditioning regime, the BCR-ABL monitoring and the relapse management. The use of post-transplant ITKs maintains molecular remission in advanced forms of the disease.

La Leucémie Myéloïde Chronique en 2017

Modèle de la thérapie ciblée en Onco-Hématologie par les inhibiteurs de tyrosine kinase

Mauricette Michallet et Mohamad Sobh

Centre Anti-Cancéreux Léon Bérard, Lyon – France

INTRODUCTION

LA LEUCÉMIE MYÉLOÏDE CHRONIQUE (LMC) est une pathologie de la cellule souche hématopoïétique (CSH) caractérisée par une prolifération de la lignée myéloïde, elle est une maladie rare qui est classée dans les maladies orphelines. La caractérisation de cette hémopathie maligne a pris de nombreuses années. Nowel et Hungerford en 1960 font la première description de l'anomalie cytogénétique qui caractérise cette maladie au niveau du chromosome 22 appelée chromosome Philadelphie [1]. Mais c'est Janet Rowley qui montre l'existence d'une translocation équilibrée entre les chromosomes 9 et 22 [2] suivie par les travaux de Bartram et Groffen qui montrent que cette translocation t(9;22) équilibrée est responsable de la juxtaposition de deux gènes BCR et ABL au niveau du bras long du chromosome 22 [3, 4] (transcrit anormal BCR-ABL). Georges Daley [5] et son équipe mettent alors en évidence le rôle central de la protéine chimérique p210 Bcr-Abelson et l'augmentation de son activité tyrosine-kinase qui entraîne une inhibition de l'apoptose cellulaire, une activation de la multiplication cellulaire et une atténuation de l'adhérence des cellules leucémiques au stroma médullaire.

LE DIAGNOSTIC ET LES OUTILS DE SURVEILLANCE

Le diagnostic de la LMC est suspecté sur un examen sanguin et il est confirmé par un examen de la moelle osseuse (myélogramme). Ces deux examens vont permettre de suivre l'évolution et l'efficacité d'un traitement. La numé-

ration formule sanguine permet de suspecter la maladie, avec la mise en évidence d'une hyperleucocytose à polynucléaires neutrophiles avec une myélémie équilibrée représentée par la présence de tous les stades de la différenciation granuleuse (myéloblastes, promyélocytes, métamyélocytes et myélocytes). En phase chronique initiale, il n'y a pas, dans la majorité des cas, de cytopénie associée. Sous traitement, la normalisation de l'hémogramme avec régression d'une splénomégalie souvent présente au diagnostic, définit la réponse hématologique complète (RHC). Celle-ci doit être acquise dans les premières semaines de traitement. Elle ne constitue qu'un premier niveau de réponse au traitement. Le myélogramme est indispensable car il permet de déterminer la phase de la maladie (moins de 10 % de cellules très immatures myéloblastiques pour la phase chronique). Il permet de plus la réalisation du caryotype qui met en évidence l'existence de la translocation t(9;22) le chromosome Philadelphie et montre d'éventuelles anomalies cytogénétiques additionnelles. Cet examen est réitéré au cours du suivi pour s'assurer de la disparition complète du chromosome Philadelphie sous traitement : on parle de réponse cytogénétique complète (RCyC). Ceci correspond environ à une décroissance de 2 logarithmes (logs) [6]. En effet, la sensibilité du caryotype est représentée par la détection d'une cellule anormale sur 100. L'obtention de la RCyC est fondamentale car corrélée à un faible risque de transformation aiguë et à une survie prolongée [7]. L'analyse par biologie moléculaire est généralement effectuée sur le sang et permet rapidement d'affirmer le diagnostic avec la mise

en évidence du transcrit anormal de fusion BCR-ABL. Elle sera réitérée tout au long du suivi thérapeutique pour apprécier la décroissance progressive du transcrit et quantifier le niveau de la réponse moléculaire par une méthode spécifique de PCR (Polymerase Chain Reaction). La profondeur de la réponse moléculaire par le nombre de logarithmes (logs) de décroissance du transcrit et/ou le pourcentage de transcrit détectable. La réponse moléculaire majeure (RMM) est définie par une diminution de 3 logs soit un taux < 0,1 % IS (International Scale). Les différents niveaux de réponse moléculaire sont représentés dans la figure 1 avec une bonne corrélation avec la réponse cytogénétique [8]. Il existe par ailleurs des scores pronostiques qui ont été décrits antérieurement mais ont été validés par la suite à l'ère des traitements nouveaux, il s'agit du score de SOKAL [9], du score d'HASFORD [10] et plus récemment du score EUTOS [11]. Il a été mis en évidence un nouveau score qui utilise le score EUTOS mais calcule le score en termes de survie ELTS (Eutos Long-term Survival Score) définissant 3 groupes de patients de bas risque, de risque intermédiaire et de haut risque en rapport avec la probabilité de mourir de LMC [12].

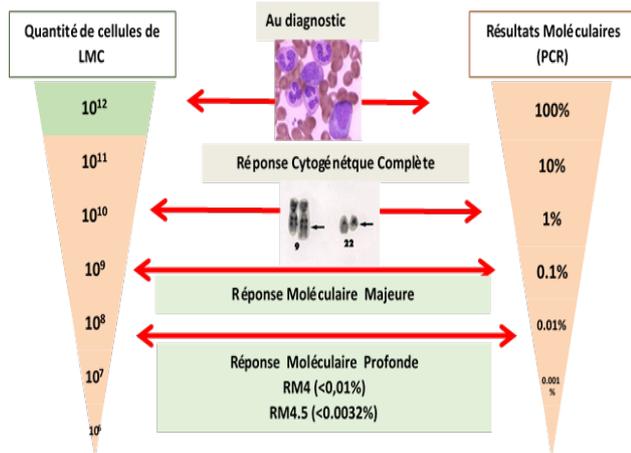


Figure 1: Les différents niveaux de réponse moléculaire et corrélation avec la réponse cytogénétique.

LES TRAITEMENTS

Les traitements initiaux ont été essentiellement palliatifs et le traitement standard par hydroxyurée, permettait d'obtenir une médiane de survie de 58 mois avec à 5 ans 44 % de survie [13]. Chez ces patients, on n'observait pas de réponse cytogénétique et donc pas d'amélioration de la survie. L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH), traitement restreint

aux patients jeunes ayant un donneur HLA compatible, a permis d'espérer une longue survie de l'ordre de 70 % à 10 ans [14] mais au prix de complications dominées par la maladie du greffon contre l'hôte potentiellement mortelle. A partir des années 1990, l'interféron d'abord naturel puis recombinant a constitué un réel progrès : la fraction des patients variant de 15 à 30% qui obtenait une réponse cytogénétique avait une survie prolongée de manière significative [15]. Son association à la cytarabine a été longtemps le traitement standard de cette hémopathie [16]. Depuis 2001, l'arsenal thérapeutique pour cette maladie s'est complètement transformé avec l'avènement d'une thérapie ciblée utilisant un inhibiteur spécifique de tyrosine kinase (ITK) : l'imatinib qui a été le premier inhibiteur (première génération) suivi d'autres molécules de seconde et troisième génération (Figure 2).

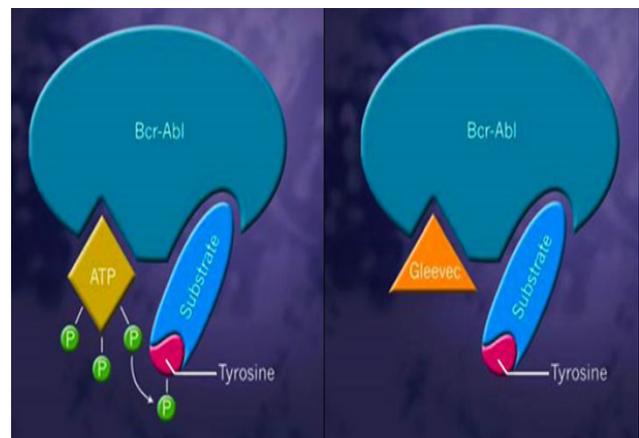


Figure 2 : Mécanisme d'action des inhibiteurs de tyrosine kinase, exemple du Gleevec (Imatinib). D'après le résumé des caractéristiques du produit Novartis.

Un groupe de chercheurs ont lancé un programme portant sur la mise au point d'inhibiteurs de tyrosine-kinases. Brian Drucker dans Nature Medicine en 1996 décrivait bien un effet sélectif sur les cellules leucémiques du nouveau composé STI 571 concluant à ses possibilités thérapeutiques dans la LMC [17]. Après les résultats impressionnants obtenus par des essais de phase I et II utilisant cette molécule [18, 19], la comparaison imatinib versus interféron associé à la cytarabine (protocole « IRIS » pour International Randomized Study of Interferon and STI571 trial) a définitivement établi l'imatinib comme traitement standard de la LMC avec un taux de survie de 93 % à 8 ans [20-22]. Une récente actualisation à 10 ans montre la poursuite de ce taux de survie et de la différence entre les 2 bras de comparaison [23]. Une comparaison entre l'imatinib et l'association interféron-cytarabine a aussi prouvé un effet remarquable sur la survie [24].

Les travaux fondamentaux dans la LMC et le suivi des patients ont mis en évidence l'implication du phénomène de quiescence ou de dormance de cellules souches leucémiques (CSL) dans la résistance au traitement. [25]. Ces cellules résiduelles peuvent entrer en cycle expliquant qu'au cours de l'évolution on puisse observer des périodes de rémission moléculaire complète mais aussi des périodes au cours desquelles l'étude en PCR permet à nouveau de détecter le gène chimérique BCR-Abelson. L'imatinib n'étant actif que sur des cellules en division, il épargne les CSL qui sont hors du cycle cellulaire. Ces dernières peuvent de la sorte être à l'origine de rechute, surtout si le traitement est suspendu [26]. Pour essayer encore d'améliorer les résultats et d'éradiquer ces CSL quiescentes, certains programmes ont été proposés comme les associations entre interféron et ITK. L'association interféron- imatinib a été testée sur des modèles cellulaires [27] et certains groupes dont le groupe français sur la LMC a donc proposé un vaste essai thérapeutique prospectif de phase III explorant des doses plus fortes d'imatinib et l'intérêt de l'association imatinib-forme pégylée de l'interféron. L'analyse moléculaire planifiée a démontré la supériorité significative de l'association imatinib 400mg-Peg-Interféron $\alpha 2a$ en termes de réponse moléculaire [28, 29]. A la fin du recrutement dans l'essai et après une observation médiane de 60 mois, la survie globale à 5 ans est de 94 % et la survie sans progression de 93 % [30]. Les études de dosage d'imatinib ont indiqué que la réponse moléculaire à l'imatinib était corrélée au taux résiduels d'imatinib avec un seuil optimal de concentration résiduelle d'imatinib autour de 1000 ng/ml [31]. Il a été aussi conclu dans cet essai que les patients non ou moyennement répondeurs bénéficiaient de l'augmentation de dose à 600 mg [32]. Un important essai allemand a aussi testé les associations imatinib-interféron (forme standard d'interféron utilisée) et imatinib-cytarabine [33] comparée à une dose de 800 mg d'imatinib. Il n'a pas été démontré de supériorité des associations mais par contre que la survie globale était liée à la rapidité d'obtention d'une réponse moléculaire et après un temps d'observation médian de 67,5 mois, il a été observé une survie à 5 ans de 90 % et à 8 ans de 86 % (92 % en cas de réponse moléculaire précoce) [34]. A l'inverse, l'essai industriel « TOPS » comparant 400 mg versus 800 mg d'imatinib seul n'a pas montré de différence à 12 mois en ce qui concerne les réponses cytogénétiques et moléculaires [35]. Enfin, en ce qui concerne les associations avec l'interféron, trois autres essais, deux du groupe français et un autre du groupe

nordique ont été effectués associant la forme pégylée d'interféron et un ITK de deuxième génération le dasatinib et le nilotinib avec un débulking par le dasatinib ou un priming par l'interféron précédant l'association. Ces essais ont confirmé la performance de ces associations en termes de rapidité et profondeur des réponses moléculaires [36-38]. Enfin dans ce même domaine, une étude randomisée actuelle de première ligne en France compare l'association ITK de deuxième génération et interféron pégylé à l'ITK de deuxième génération seul. Compte tenu des résultats observés en termes de survie, il devient difficile d'améliorer encore tellement le gain sur la survie (Figure 3).

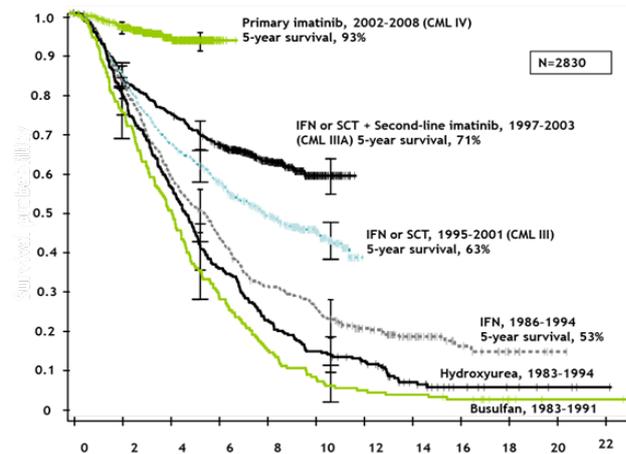


Figure 3: Evolution de la Survie en fonction du Temps et des Traitements. D'après Hehlmann et al. Pour le groupe Allemand de LMC.

Les travaux ont alors porté sur la profondeur de la réponse moléculaire et la rapidité de cette réponse. Les inhibiteurs de deuxième génération, tels le nilotinib, le dasatinib et plus récemment le bosutinib, ont démontré leur efficacité et comparativement à l'imatinib et ont une activité anti-leucémique plus puissante en termes de réponse moléculaire quant à la rapidité de réponse et à sa profondeur avec moins de patients ayant progressé vers les formes évoluées de la maladie [39]. Leur toxicité, particulièrement des complications cardiovasculaires, expliquent l'absence d'effet sur la survie [40-45]. Une étude plus récente a analysé l'évolution à 5 ans de patients traités en première ligne dans le même centre par imatinib 400 ou 800 mg ou dasatinib 100 mg ou nilotinib 400mg. Il n'y a pas eu de différence entre les différents groupes de patients pour ce qui concerne la survie sans rechute, la survie sans progression et la survie globale. Pour le groupe des patients ayant obtenu une rémission cytogénétique, l'obtention d'une réponse moléculaire

profonde n'apporte pas de bénéfice [46, 47]. Il faut ajouter que certaines études complémentaires ont été effectuées pour essayer de potentialiser la performance en termes de réponse en minimisant la toxicité : objectifs de deux études d'optimisation basées sur le dosage des molécules et l'adaptation éventuelle des doses en fonction, répondant à des études randomisées concernant l'imatinib et le dasatinib montrant qu'en adaptant les doses, il y avait toujours un gain en efficacité avec une diminution parallèle de la toxicité [48, 49]. Au cours de ces différents essais et surtout dans le contexte de l'essai SPIRIT, les résultats étaient particulièrement impressionnants chez les bons répondeurs avec un niveau de réponse moléculaire tellement profond qu'il devenait tentant de proposer l'arrêt du traitement (Figure 4). Le Groupe Français d'étude sur

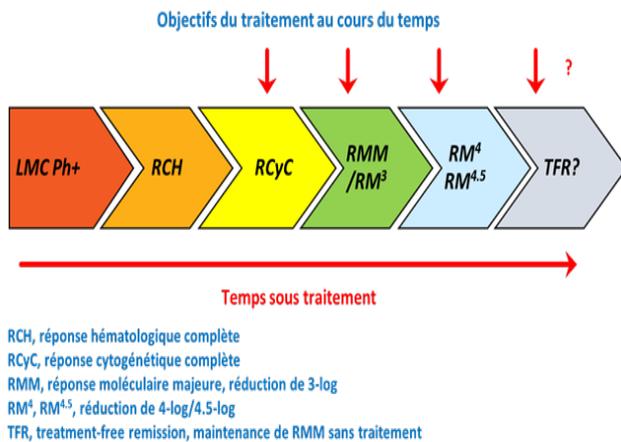


Figure 4: Evolution des objectifs du traitement au cours du temps. D'après Baccarani M et al. JCO 2013.

la LMC a été le premier à proposer un travail de recherche sur l'arrêt du traitement, l'essai « STIM » rapidement suivi par d'autres travaux [50, 51]. Les patients dans ces études ont eu en général une période de réponse moléculaire profonde et stable de l'ordre de 24 mois avant l'arrêt du traitement. Après un suivi médian de 50 mois pour l'étude STIM, 61 % des patients ont eu une rechute. Les patients ayant rechuté ont repris avec succès le traitement. Il est assez encourageant de constater que, passé 2 ans la probabilité de rechute est quasi nulle et il y a maintenant des patients 8 ans après l'arrêt, sans séquelles et menant une vie normale. Les patients qui rechutent sont à nouveau sensibles au traitement et un second arrêt de traitement est possible. Le relai au moment de la rechute par un inhibiteur plus puissant a été proposé. De même, des études d'éradication des CSL quiescentes ont été effectuées en utilisant de nouvelles molécules comme l'ABL001 et un anti diabétique oral la

la pioglitazone [52, 53]. La première ligne de traitement de la LMC doit tenir compte d'un certain nombre de paramètres que sont l'âge, l'existence de comorbidités et les scores pronostiques. Progressivement le critère de jugement qui était la réponse cytogénétique à 12 mois va faire place à une évaluation moléculaire avec l'obtention d'une RMM à 12 ou 18 mois [54-56] et une prédiction de la survie sans progression en fonction de la cinétique de décroissance du transcrit [57]. De même une prédiction de la survie sans progression et de la survie globale peut être effectuée en fonction de la réponse moléculaire à 3 mois voire en tenant compte de l'évolution entre 3 et 6 mois [58, 59]. De plus une réponse moléculaire précoce permet de prédire une réponse moléculaire profonde avec secondairement un impact pronostique de celle-ci [60] et l'arrêt potentiel du traitement.

Au cours du temps l'évaluation va porter sur l'obtention de la réponse hématologique, cytogénétique et moléculaire en tenant compte de la réponse moléculaire précoce à 3 ou 6 mois, de l'existence d'effets secondaires et de la mise en évidence éventuelle d'une mutation. Ces critères de réponse permettent soit de maintenir la première ligne de traitement soit d'envisager une deuxième ligne de traitement. Comme il a été dit précédemment, l'indication thérapeutique doit tenir compte des effets secondaires qui sont éventuellement (1) communs aux différents ITK comme les troubles hématologiques (anémie, neutropénie et thrombopénie), l'asthénie, les céphalées et l'hypophosphatémie et (2) des effets secondaires spécifique à chaque ITK comme :

- des troubles digestifs, des hémorragies conjonctivales, des œdèmes et des troubles musculaires (crampes, myalgies, inflammations) pour l'Imatinib,
- des troubles métaboliques (hypokaliémie, hypocalcémie, hyperglycémie, hypercholestérolémie et l'hyperlipasémie), des perturbations du bilan hépatique, des troubles cutanés et des risques vasculaires (accidents artériels) pour le nilotinib,
- des épanchements de la plèvre et une hypertension artérielle pulmonaire pour le dasatinib
- des troubles digestifs et des perturbations du bilan hépatique pour le bosutinib.

Les stratégies de traitement de l'ELN de première, deuxième et troisième ligne sont décrites dans la table 1. Enfin des résultats tout à fait impressionnants ont été obtenus chez des patients résistants ou intolérants à 2 ou 3 ITK en phase chronique, accélérée voire blastique et pour certains d'entre eux porteurs de la mutation T315I

Table 1: Les stratégies de traitement de l'ELN de première, deuxième et troisième ligne. D'après Baccarani M et al. JCO 2013.

1 ^{ère} ligne	Imatinib (IM) , dasatinib (DAS) , nilotinib (NIL)
2 ^{ème} ligne	<ul style="list-style-type: none"> • Intolérance • Echec
3 ^{ème} ligne	<ul style="list-style-type: none"> • Switch pour un autre ITK (IM, DAS, NIL), en prenant en considération les comorbidités et les effets indésirables • Switch Imatinib pour un autre ITK, en prenant en considération les mutations, les comorbidités et les effets indésirables <ul style="list-style-type: none"> - NIL, DAS, BOS, PON - DAS, NIL, BOS, PON • Switch pour un autre ITK • Allogreffe • Traitement expérimental

grâce à l'utilisation du ponatinib dans l'essai PACE [61]. La molécule semblait bien supportée avec une certaine toxicité hématologique mais il a été mis en évidence une cardio-toxicité qui est à prendre en haute considération lors de l'utilisation de cette molécule dont les doses ont été adaptées en fonction de ces événements apparus lors des premiers essais cliniques. Il faut terminer ce chapitre thérapeutique par l'avènement des génériques avec des résultats tout à fait satisfaisants et superposables aux molécules princeps [62, 63]. L'introduction de ces molécules doit être faite avec la même rigueur de surveillance et d'évaluation (suivi moléculaire) au cours du traitement compte-tenu d'une liberté de prescription du médecin, de l'importance de la galénique et du changement de produit fréquent par le pharmacien, ce qui peut perturber le patient. Il faut souligner néanmoins le prix faible du produit avec dans de nombreux pays une base du remboursement qui est le prix du générique avec un enjeu économique énorme: 10 milliard d'euros en 10 ans. On peut espérer pour finir que l'arrivée du générique fasse aussi baisser le prix du princeps. ■

RÉFÉRENCES

1. Nowell PC, Hungerford DA. Chromosome studies on normal and leukemic human leukocytes. *J Natl Cancer Inst.* 1960; 25:85-109.
2. Rowley JD. A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukemia identified by quinacrine, fluorescence and Giemsa staining. *Nature.* 1973; 243:290-3.
3. Bartram CR, Deklein A, Hagemeijer A, et al. Translocation of c-abl oncogene correlates with the presence of a Philadelphia chromosome in chronic myelocytic leukaemia. *Nature.* 1983; 306:277-80.
4. Groffen J, Stephenson JR, Heisterkamp N, et al. Philadelphia chromosomal breakpoints are clustered

within a limited region, bcr, on chromosome 22. *Cell.* 1984; 36:93-9.

5. Daley G, Baltimore D. Transformation of an interleukin 3-dependent hematopoietic cell line by the chronic myelogenous leukemia-specific P210 bcr/abl protein. *Proc Natl Acad Sci.* 1988;85:9312-16.
6. Baccarani M, Castagnetti F, Gugliotta G, et al. Response definitions and European Leukemianet Management recommendations. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2009 Sep;22(3):331-41.
7. Jabbour E, Kantarjian HM, 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.* 2014 Jan 23;123(4):494-500.
8. Baccarani M, Cortes J, Pane F, et al. Chronic myeloid leukemia: an update of concepts and management recommendations of European LeukemiaNet. *J Clin Oncol.* 2009 Dec 10;27(35):6041-51.
9. Sokal JE, Cox EB, Baccarani M, et al. Prognostic discrimination in «good-risk» chronic granulocytic leukemia. *Blood* 63:789-99, 1984.
10. Hasford J, Pffirmann M, Hehlmann R, et al. A new prognostic score for survival of patients with chronic myeloid leukemia treated with interferon alfa. Writing Committee for the Collaborative CML Prognostic Factors Project Group. *J Natl Cancer Inst* 90:850-8, 1998.
11. Hasford J, Baccarani M, Hoffmann V, et al. Predicting complete cytogenetic response and subsequent progression-free survival in 2060 patients with CML on imatinib treatment: the EUTOS score. *Blood* 118:686-92, 2011.
12. Silver RT, Woolf SH, Hehlmann R et al. An Evidence-Based Analysis of the Effect of Busulfan, Hydroxyurea, Interferon, and Allogeneic Bone Marrow Transplantation in Treating the Chronic Phase of Chronic Myeloid Leukemia: Developed for the American Society of Hematology. *Blood.* 1999; 94:1517-1536.
13. Gratwohl A, Pffirmann M, Zander A et al. Long term outcome of patients with newly diagnosed chronic myeloid leukemia: a randomized comparison of stem cell transplantation with drug treatment. *Leukemia* 2016 30: 562-569.
14. Bonifazi F., De Vivo A., Rosti G, et al. European study group on Interferon in Chronic Myeloid Leukemia. Chronic myeloid leukemia and α Interferon: a study of complete cytogenetic responders. *Blood.* 2001; 98:3074-3081.
15. Guilhot F, Chastang C, Michallet M, et al. Interferon alfa-2b combined with cytarabine versus interferon alone in chronic

- c myelogenous leukemia. French Chronic Myeloid Leukemia Study Group. *N Engl J Med.* 1997; 337:223-9.
- 17.** 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; 2:561-6.
- 18.** Druker BJ, Talpaz M, Resta 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; 344:1031-7.
- 20.** O'Brien SG, Guilhot F, Larson RA, et al. Imatinib compared with interferon and low-dose cytarabine for newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med.* 2003; 348:994-1004.
- 21.** Druker B, Guilhot F, O'Brien SG, et al. Five-year follow-up of imatinib therapy for newly diagnosed chronic myeloid leukaemia in chronic-phase shows sustained responses and high overall survival. *N Engl J Med.* 2006; 355:2408-17.
- 22.** Deininger M, O'Brien SG, Guilhot F, et al. International Randomized Study of Interferon Vs STI571 (IRIS) 8-Year Follow up: Sustained Survival and Low Risk for Progression or Events in Patients with Newly Diagnosed Chronic Myeloid Leukemia in Chronic Phase (CML-CP) Treated with Imatinib. *ASH Annual Meeting Abstracts.* 2009; 114(22):1126.
- 23.** Roy L, Guilhot J, Krahnke T, et al. Survival advantage with imatinib compared to the combination interferon- α plus cytarabine in chronic phase CML: historical comparison between two phase III trials. *Blood.* 2006; 108:1478-84.
- 24.** Hochhaus A, Larson RA, Guilhot F, et al. Long-Term Outcomes of Imatinib Treatment for Chronic Myeloid Leukemia. *N Engl J Med.* 2017 Mar 9; 376(10):917-927.
- 25.** Chomel JC, Brizard F, Veinstein A, et al. Persistence of BCR-ABL genomic rearrangement in chronic myeloid leukemia patients in complete and sustained cytogenetic remission after Interferon- α therapy or allogeneic bone marrow transplantation. *Blood.* 2000; 95:404-409.
- 26.** Mahon FX, Réa D, Guilhot J, et al. Discontinuation of imatinib in patients with chronic myeloid leukaemia who have maintained complete molecular remission for at least 2 years: the prospective, multicentre Stop Imatinib (STIM) trial. *Lancet Oncol.* 2010; 11:1029-35.
- 27.** Bhattacharya S, Zheng H, Tzimas C, et al. Bcr-abl signals to desensitize chronic myeloid leukemia cells to IFN α via accelerating the degradation of its receptor. *Blood.* 2011; 118(15):4179-4187.
- 28.** Preudhomme C, Guilhot J, Nicolini FE, et al. Imatinib plus peginterferon alfa-2a in chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med.* 2010; 363(26):2511-21.
- 29.** Johnson-Ansah H, Guilhot J, Rousselot P, et al. Tolerability and efficacy of pegylated interferon- α -2a in combination with imatinib for patients with chronic-phase chronic myeloid leukemia. *Cancer.* 2013; 119 4284-9.
- 30.** Guilhot F, Rigal-Huguet F, Guilhot J, et al Long Term Outcome of Chronic Phase Chronic Myeloid Leukemia (CP CML) Patients (pts) from the French Spirit Study Comparing Imatinib (IM) 400 Mg to Higher Dose Imatinib or Combination with Peg-interferon α 2a (PegIFN) or Cytarabine (Ara-C) : A Trial of the FI LMC (France intergroupe de la leucemie myéloïde chronique) *Blood.* 2014; 124:1793.
- 31.** Guilhot F, Hughes T, Cortes J, et al. Plasma exposure of imatinib and its correlation with clinical response in the Tyrosine Kinase Inhibitor Optimization and Selectivity Trial. *Haematologica.* 2012; 97:731-8.
- 32.** Delord M, Rousselot P, Cayuela JM et al . The impact of a drug transporter ABCG2 haplotype in molecular response of chronic myelogenous leukemia patients is modulated by imatinib dose. *Oncotarget.* 2013; 4:1582-91.
- 33.** Hehlmann R, Lauseker M, Jung-Munkwitz S, et al. Tolerability-adapted imatinib 800mg/d versus 400mg/d versus 400mg/d plus interferon- α in newly diagnosed chronic myeloid leukemia. *J Clin Oncol.* 2011; 29:1634-1642
- 34.** Hehlmann R, Muller MC, Lauseker M, et al. Deep molecular response is reached by the majority of patients treated with imatinib, predicts survival, and is achieved more quickly by optimized high-dose imatinib: Results from the randomized CML-study IV. *J Clin Oncol.* 2014; 32:415-423.
- 35.** Cortes JE, Baccarani M, Guilhot F, et al. Phase III, randomized, open-label study of daily imatinib mesylate 400 mg versus 800 mg in patients with newly diagnosed, previously untreated chronic myeloid leukemia in chronic phase using molecular end points: Tyrosine kinase inhibitor optimization and selectivity study. *J Clin Oncol.* 2010; 28:424-430.
- 36.** Hjorth-Hansen H, Stentoft J, Richter J, et al. Safety and Efficacy of Addition of Pegylated Interferon α 2b to Standard Dose Dasatinib in Newly Diagnosed Chronic Phase CML Patients. *Blood* 2015 126: Abstract 477.
- 37.** Nicolini FE, Etienne G, Dubruille V, et al. Pegylated Interferon-Alpha 2a in Combination with Nilotinib As First-Line Therapy in Newly Diagnosed Chronic Phase Chronic Myelogenous Leukemia (Nilopeg trial). Four-Year Follow-up Results. *Blood* 2015 126: Abstract 1578.

- 38.** Roy L, Chomel JC, Guilhot J, et al. Combination of Dasatinib and Peg-Interferon Alpha 2b in Chronic Phase Chronic Myeloid Leukemia (CP-CML) First Line: Preliminary Results of a Phase II Trial, from the French Intergroup of CML (Fi-LMC). *Blood* 2015 126: Abstract 134
- 39.** Jabbour E, Kantarjian H, Cortes J. Use of second- and third-generation tyrosine kinase inhibitors in the treatment of chronic myeloid leukemia: an evolving treatment paradigm. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2015 Jun; 15(6):323-34
- 40.** Saglio G, Kim DW, Issaragrisil S, et al. Nilotinib versus imatinib for newly diagnosed chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med.* 2010; 362:2251–2259.
- 41.** Kantarjian HM, Hochhaus A, Saglio G, et al. Nilotinib versus imatinib for the treatment of patients with newly diagnosed chronic phase, Philadelphia chromosome-positive, chronic myeloid leukaemia: 24-month minimum follow-up of the phase 3 randomised ENESTnd trial. *Lancet Oncol.* 2011; 12:841–851.
- 42.** Kantarjian H, Shah NP, Hochhaus A, et al. Dasatinib versus imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med.* 2010; 362:2260–2270.
- 43.** Larson RA, Hochhaus A, Hughes TP, et al. Nilotinib vs imatinib in patients with newly diagnosed Philadelphia chromosome-positive chronic myeloid leukemia in chronic phase: ENESTnd3-year follow-up. *Leukemia.* 2012;26:2197–2203.
- 44.** Hochhaus A, Saglio G, Hughes TP, et al. Long-term benefits and risks of frontline nilotinib vs imatinib for chronic myeloid leukemia in chronic phase: 5-year update of the randomized ENESTnd trial. *Leukemia.* 2016. doi: 10.1038/leu.2016.5.
- 45.** Kantarjian HM, Shah NP, Cortes JE, et al. Dasatinib or imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia: 2-year follow-up from a randomized phase 3 trial (DASISION). *Blood.* 2012; 119:1123–9.
- 46.** Jabbour E, Kantarjian H. Chronic myeloid leukemia: 2016 update on diagnosis, therapy, and monitoring. *Am.J.Hematol* 2016; 91:253-65.
- 47.** Jain P, Kantarjian H, Alattar ML, et al. Long term molecular and cytogenetic response and survival outcomes with imatinib 400 mg, imatinib 800mg, dasatinib, and nilotinib in patients with chronic myeloid leukaemia: retrospective analysis of patients data from five clinical trials. *Lancet Haematol.* 2015; 2:e 118-28.
- 48.** Rousselot P, Mollica L, Guerci-Bresler A, et al. Dasatinib daily dose optimization based on residual drug levels resulted in reduced risk of pleural effusions and high molecular response rates: final results of the randomized OPTIM dasatinib trial. Abstract S678 EHA. 2014.
- 49.** Rousselot P, Johnson-Ansah H, Huguet F, et al. Personalized Daily Doses of Imatinib By Therapeutic Drug Monitoring Increase the Rates of Molecular Responses in Patients with Chronic Myeloid Leukemia. Final Results of the Randomized OPTIM Imatinib Study. *Blood* 2015 126: Abstract 133.
- 50.** Mahon FX, Rea D, Guilhot J, et al. Discontinuation of imatinib in patients with chronic myeloid leukaemia who have maintained complete molecular remission for at least 2 years: The Prospective, multicenter Stop Imatinib (STIM) trial. *Lancet Oncol.* 2010;11:1029–35.
- 51.** Mahon FX, Rea D, Guilhot J, et al. Long term follow-up after imatinib cessation for patients in deep molecular response: The updated results of the STIM1 study. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts).* 2013; 122:255.
- 52.** Ottmann O, Alimena G, DeAngelo D, et al. ABL001, a Potent, Allosteric Inhibitor of BCR-ABL, Exhibits Safety and Promising Single-Agent Activity in a Phase I Study of Patients with CML with Failure of Prior TKI Therapy. *Blood* 2015 ASH abstract 138
- 53.** Prost S, Relouzat F, Spentchian M, et al. Erosion of the chronic myeloid leukaemia stem cell pool by PPAR α agonists. *Nature.* 2015 Sep 17;525(7569):380-3.
- 54.** De Lavallade H, Apperley JF, Khorashad JS, et al. Imatinib for newly diagnosed patients with chronic myeloid leukemia: incidence of sustained responses in an intention-to-treat analysis. *J Clin Oncol.* 2008 Jul 10;26(20):3358-63.
- 55.** Hughes TP, Hochhaus A, Branford S, et al. Long-term prognostic significance of early molecular response to imatinib in newly diagnosed chronic myeloid leukemia: an analysis from the International Randomized Study of Interferon and STI571 (IRIS). *Blood.* 2010 Nov 11;116(19):3758-65.
- 56.** Marin D, Milojkovic D, Olavarria E, et al. European LeukemiaNet criteria for failure or suboptimal response reliably identify patients with CML in early chronic phase treated with imatinib whose eventual outcome is poor. *Blood.* 2008 Dec 1; 112(12):4437-44.
- 57.** Press RD, Love Z, Tronnes AA, et al. BCR-ABL mRNA levels at and after the time of a complete cytogenetic response (CCR) predict the duration of CCR in imatinib mesylate-treated patients with CML. *Blood.* 2006 Jun 1;107(11):4250-6.
- 58.** Hughes TP, et al. Early molecular response predicts outcomes in patients with chronic myeloid leukemia in

chronic phase treated with frontline nilotinib or imatinib. *Blood*. 2014; 123(9):1353-1360.

59. Jabbour E, et al. Early response with dasatinib or imatinib in chronic myeloid leukemia: 3-year follow-up from a randomized phase 3 trial (DASISION). *Blood*. 2014; 123(4):494-500.

60. Branford S, Yeung DT, Ross DM, et al. Early molecular response and female sex strongly predict stable undetectable BCR-ABL1, the criteria for imatinib discontinuation in patients with CML. *Blood* 2013; 121:3818-3824.

61. Cortes J, Kim D, Pinilla-Ibarz J, et al. PACE: A pivotal

phase II trial of ponatinib in patients with CML and Ph+ALL resistant or intolerant to dasatinib or nilotinib, or with the T315I mutation. ASCO 2012. Abstract 6503.

62. Eskazan AE, Sadri S, Keskin D, et al. Outcomes of Chronic Myeloid Leukemia Patients With Early Molecular Response at 3 and 6 Months: A Comparative Analysis of Generic Imatinib and Glivec. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2017 Aug 4. pii: S2152-2650(17)30961-8.

63. Islamagic E, Hasic A, Kurtovic S, et al. The Efficacy of Generic Imatinib as First- and Second-line Therapy: 3-Year Follow-up of Patients With Chronic Myeloid Leukemia. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2017 Apr;17(4):238-240.

Mécanismes moléculaires de la résistance à l'Imatinib dans la LMC

Menif Samia

Laboratoire Hématologie
Institut Pasteur de Tunis
Faculté de médecine de Tunis
Université de Tunis El Manar

RESUME

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est un syndrome myéloprolifératif caractérisé par une prolifération des cellules myéloïdes dans le sang, la moelle osseuse et la rate.

La LMC est caractérisée par un gène de fusion bcr-abl issu d'une translocation réciproque t(9 ;22)(q34 ;q11) . bcr-abl est traduit en une protéine oncogénique à activité tyrosine kinase constitutive responsable du phénotype de la maladie.

L'Imatinib, inhibiteur de tyrosine kinase a transformé le pronostic et l'évolution de la LMC, toutefois des résistances à cette thérapie ont été constatées et nécessitent le recours à d'autres alternatives thérapeutiques. Ces résistances peuvent être secondaires à une surexpression de bcr-abl, une modification de la concentration intracellulaire d'Imatinib par anomalies des pompes membranaires d'efflux ou d'influx, une activation d'autres voies de signalisation ou l'acquisition de mutations.

Une meilleure compréhension de ces mécanismes qui sous-tendent la résistance aux ITK est essentielle pour développer des stratégies curatives pour les patients atteints de LMC.

Mots clés : LMC -bcr-abl - résistance Imatinib

INTRODUCTION

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est une hémopathie maligne appartenant au groupe des syndromes myéloprolifératifs et constitue de nos jours un modèle en onco-hématologie. En effet cette hémopathie fût le premier processus néoplasique associé à une anomalie génétique acquise : le gène hybride bcr-abl issu de la translocation réciproque t(9 ;22)(q34 ;q11) [1]. Ce gène hybride est traduit en une protéine oncogénique à activité tyrosine kinase dérégulée responsable du phénotype de la maladie. Cette anomalie moléculaire a permis de faire bénéficier la LMC d'une thérapie ciblée : les inhibiteurs de tyrosine kinase dont le chef de file est l'Imatinib.

L'Imatinib a engendré des progrès thérapeutiques fulgurants [2]. L'amélioration des résultats en terme de réponse et en terme de survie sous Imatinib a été spectaculaire, mais l'enthousiasme a été quelque peu tempéré par l'apparition de résistances [3]. La résistance peut être définie au niveau hématologique, cytogénétique ou moléculaire et peut être qualifiée de primaire ou secondaire [4].

Un patient est considéré en résistance primaire lorsque les réponses espérées ne sont pas obtenues d'emblée, et en résistance secondaire lorsqu'il répond initialement de manière optimale puis perd sa réponse ou progresse [5]. Plusieurs mécanismes de résistance ont été identifiés, tous ces mécanismes concourent à 3 phénomènes responsables du phénotype de résistance :

1. Augmentation de la concentration intracellulaire de bcr-abl,
2. Diminution de la concentration intracellulaire d'Imatinib,
3. Activation d'autres voies de leucémogénèse.

MECANISMES DE RESISTANCE A L'IMATINIB

On distingue deux grands mécanismes de résistances selon qu'elles soient dépendantes ou indépendantes de bcr-abl.

Résistances bcr-abl dépendantes

Amplifications de bcr-abl : La résistance à l'Imatinib peut être secondaire à l'augmentation de la concentration intracellulaire de bcr-abl ceci peut se voir en cas de duplication du chromosome Philadelphie [6] ou dans de rares cas une amplification du gène bcr-abl détectable uniquement par hybridation fluorescente in situ (FISH), il en résulte une hyperproduction de la protéine bcr-

abl, source de perte de sensibilité au traitement.
Mutations du domaine kinase d'ABL : Ces mutations correspondent à une modification acquise de la séquence du gène abl qui se traduit par une modification de la séquence des acides aminés du domaine kinasique abl, et compromet l'interaction de l'Imatinib avec sa cible [7]. Quatre domaines fonctionnels sont identifiés au sein de la kinase ABL (figure 1), Les mutations peuvent apparaître

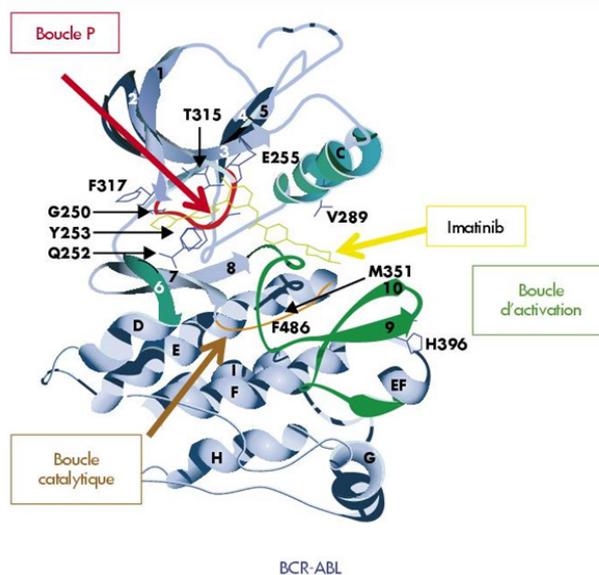


Figure 1 : Domaines fonctionnels de la kinase abl adapté d'après [7]

dans des régions différentes de la séquence codant pour abl, pas moins de 100 mutations sont identifiées à ce jour [8], néanmoins 7 sites sont responsables de 64% des mutations rapportées (G250, Y253, E255, T315, M351, F359, H396)(figure 2).

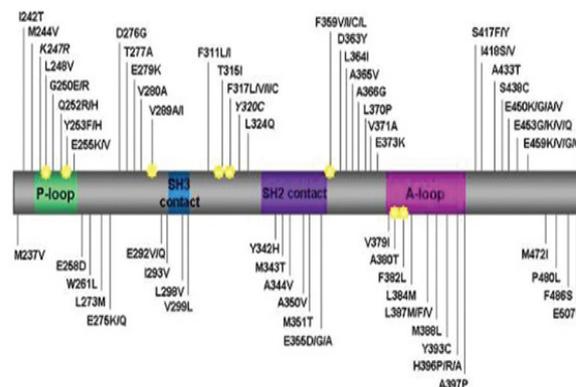


Figure 2 : Répartition des mutations adaptées d'après [8].

Résistances bcr-abl indépendantes

Biodisponibilité de l'Imatinib : L'Imatinib est facilement hydrosoluble après administration orale, il est absorbé par

le tractus gastro-intestinal avec un pic de concentration maximale entre 1 et 3 heures. L'Imatinib est métabolisé par les cytochromes hépatiques CYP314 et CYP315, il existe une variabilité interindividuelle d'absorption intestinale et de métabolisme de l'Imatinib, des interférences médicamenteuses peuvent modifier ce métabolisme. D'autre part la concentration intracellulaire de l'Imatinib est modifiée sous l'effet de pompes membranaires d'influx ou d'efflux de l'Imatinib. Oct 1 est une pompe membranaire d'influx de l'Imatinib, des polymorphismes du gène ABCB1 a été impliqué dans la modification du niveau d'expression de cette pompe [9]. MDR1 est une pompe membranaire responsable de l'efflux de l'Imatinib, des anomalies génétiques ont été incriminées dans la modification de son niveau d'expression [10], il en résulte une modification de la concentration intracellulaire d'Imatinib.

Evolution clonale : Des anomalies cytogénétiques additionnelles ont été répertoriées et impliquées dans la résistance au traitement [11]. Ces anomalies peuvent activer d'autres oncogènes que bcr-abl et activer d'autres kinases (src, Ras ...) à l'origine de la progression de la maladie. Parmi les anomalies reconnues responsables d'une évolution clonale, on cite la duplication du Ph, la trisomie 8 (gène myc) et l'iso 17q (gène P53).

Altérations épigénétiques : En plus des altérations génétiques et génomiques discutées ci-dessus, des altérations épigénétiques touchant l'ADN et la chromatine sont capables de modifier l'expression des gènes et la stabilité du génome [12]. Les anomalies de la méthylation de l'ADN est le premier mécanisme décrit dans la LMC. La méthylation de l'ADN se produit dans les îlots CpG, ces îlots sont fréquents dans la région promotrice des gènes et leurs hyperméthylation réprime l'expression du gène en question. La méthylation de l'ADN est catalysée par des enzymes DNA méthyltransférases (DNMTs) [13]. La progression de la LMC vers les phases blastiques s'accompagne d'une augmentation significative du niveau d'expression des DNMTs [14]. Les micro ARN sont des acides ribonucléiques non codants qui régulent l'expression d'un grand nombre de gènes différents. Une modification du niveau d'expression de certains micro-ARN a été rapportée dans certaines formes de résistances à l'Imatinib [15]. L'identification de mécanismes de résistance à l'Imatinib a ouvert une course contre le temps pour vaincre la résistance et éradiquer le clone résiduel. L'augmentation de dose d'Imatinib fut la première stratégie adoptée

pour surmonter les résistances liées à l'augmentation de bcr-abl puis les ITK de deuxième génération et de 3ème génération ont permis de rattraper une autre catégorie de patients. Il importe de rappeler que l'augmentation de dose ou la simple poursuite de traitement en cas de mutation T315I peut être responsable de la sélection de cellules résistantes et d'une progression de la maladie, c'est pourquoi la stratégie thérapeutique doit être adaptée à chaque type de résistance.

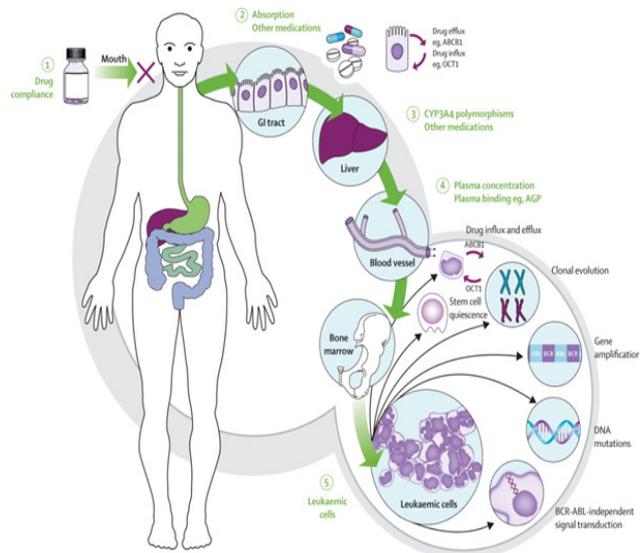


Figure 3 : La résistance à l'Imatinib est multifactorielle [8].

CONCLUSION

L'Imatinib a transformé le pronostic et l'évolution de la LMC, La résistance à l'Imatinib quoique rare est un problème préoccupant et peut être expliquée par plusieurs mécanismes imparfaitement connus et souvent intriqués. L'avènement des inhibiteurs de tyrosine kinase de 2^{ème} et 3^{ème} génération, a permis de rattraper plusieurs patients, quoique, nous demeurons démunis dans certaines situations heureusement devenues rares. ■

RÉFÉRENCES

1. Verschraege CF, Kantarjian HM, Hirsh-Ginsberg C, Lee MS, O'Brien, et al. The breakpoint cluster region site in patients with Philadelphia chromosome positive chronic myeloid leukemia. Clinical laboratory, and prognostic correlations. *Cancer* 1995;76(6):992-997.
2. Kantarjian H, O'Brien, Jabbour S, Improved survival in chronic myeloid leukemia since the introduction of imatinib therapy: a single institution historical experience. *Blood* 2012;119:1981-1987.

3. Apperley JF (2007) Part I: mechanisms of resistance to imatinib in chronic myeloid leukaemia. *Lancet Oncol* 8:1018–1029. doi: 10.1016/S1470-2045(07)70342-X.

4. Quintás-Cardama A, Kantarjian HM, Cortes JE (2009) Mechanisms of primary and secondary resistance to Imatinib in chronic myeloid leukemia. *Cancer Control J Moffitt Cancer Cent* 16:122–131.

5. Lewis M; Copland M; soverini S & al :What are the challenges in 2016 regarding resistance to TKI in CML and cancer .*Hematol oncol* 2016:2329.

6. Schmidt M, Rink J.; Schafer V & al :molecular defined clonal evolution in patients with CML independent of the bcr-abl status.*leukemia* :2014;dec (28):12:2292-9.

7. Soverini S ,hochhaus A ,nicolini :bcr abl kinase domain mutations analysis in chronic myeloid patients treated with tyrosine kinase inhibitors. Recommendations from an expert panel on behalf of European leukemia net .*Blood* 2012; 118:1208-15.

8. Soverini S; Hochhaus A., Nicolini FE & al : bcr-abl kinase domain mutation analysis in CML patients treated with TKi :recommendations from an expert panel on behalf of European leukemia net. *Blood* 2011;118: 1208-15.

9. Thomas J (2004) Active transport of imatinib into and out of cells: implications for drug resistance. *Blood* 104:3739–3745. doi: 10.1182/blood-2003-12-4276.

10. Dulucq S, Bouchet S, Turcq B, et al (2008). Multidrug resistance gene (MDR1) polymorphisms are associated with major molecular responses to standard-dose imatinib in chronic myeloid leukemia. *Blood* 112:2024–2027. doi: 10.1182/blood-2008-03-147744.

11. Stoklosa T, paplawski T, koptyra M & al :bcr-abl inhibits mismatch repair to protect from apoptosis and induce point mutations.*cancer Res* 2008;15:68: 2576-80.

12. Qu Y, siggens L; cordeddu L & al : cancer specific changes in DNA methylation reveal aberrant silencing and

activation of enhancers in leukemia .*Blood* 2016 dec (21).

13. Mizuno S; Chijiwa T.; okamura T & al :expression of DNA methyltransferases DNMT1, 3A and 3B in normal hematopoiesis and in acute and chronic myelogenous leukemia. *Blood* 2001 Mar :97:5: 1172-9.

14. Skorski T: genetic mechanisms of chronic myeloid leukemia blastic transformation *Curr hematol malign Rep* 2012;7(2):87-93.

15. Soltani I, Douzi K, Gharbi H, et al (2016) Downregulation of miR-451 in Tunisian chronic myeloid leukemia patients: potential implication in imatinib resistance. *Hematology* 1–7. doi: 10.1080/10245332.2016.1252020.

SUMMARY

MOLECULAR MECHANISMS OF RESISTANCE TO IMATINIB IN CML

Chronic myeloid leukemia (CML) is a myeloproliferative disorder characterized by overproduction of myeloid cells in the peripheral blood, bone marrow and spleen. A hallmark of CML is the presence of t(9;22)(q34;q11) reciprocal translocation which results in the formation of bcr-abl fusion gene which is translated in a constitutively active tyrosine kinase oncoprotein. bcr-abl is oncogenic and leads to leukemia phenotype. The introduction of Imatinib, a bcr-abl targeting tyrosine kinase inhibitor has revolutionized CML therapy however some patients show resistance to treatment which can be due to bcr-abl overexpression, differences in cellular drug influx and efflux, activation of alternative signaling pathways, or emergence of bcr-abl kinase domain mutations. A better understanding of the mechanisms that underlies TKI resistance is essential to develop curative strategies for patients with CML.

Key words : CML – bcr-abl – Imatinib resistance.

Mise à jour de la classification OMS 2016 des syndromes myéloprolifératifs à chromosome philadelphie négatif (Non Leucémie Myéloïde Chronique)

N.Abdennebi, R.Ahmed-Nacer, RM.Hamladji.

Service Hématologie – Greffe de Moelle Osseuse – Centre Pierre et Marie Curie. Alger

INTRODUCTION

L'ÉVOLUTION DES CLASSIFICATIONS DES PATHOLOGIES hématologiques est régulière depuis la 1^{ère} version de la classification établie sous l'égide de l'organisation mondiale de la santé (OMS). Pour les syndromes myéloprolifératifs (SMP) à chromosome Philadelphie négatif (Ph-), une 3^{ème} version a été publiée en 2016 [1] après celles de 2001 et 2008 [2]. L'élément le plus marquant de cette dernière classification est l'introduction d'une nouvelle entité : la myélofibrose primitive (MFP) en phase précoce ou préfibrotique intermédiaire entre la thrombocytémie essentielle (TE) et la MFP avérée, ce qui implique la pratique systématique d'une biopsie ostéo-médullaire (BOM) devant toute suspicion de SMP.

CLASSIFICATION DES SMP EN 2016

- Polyglobulie de Vaquez (PV).
- Thrombocytémie Essentielle (TE).
- MFP ou Splénomégalie Myéloïde Chronique (SMC).
- MFP préfibrotique ou pré-SMC.
- Leucémie chronique à polynucléaires neutrophiles.
- Leucémie chronique à polynucléaires éosinophiles.
- Néoplasmes myéloprolifératifs inclassables.

Cette mise à jour portera uniquement sur les : PV, TE, MFP et MFP préfibrotique en reprenant les critères de 2008 et 2016. Ces classifications ont été améliorées grâce aux connaissances sur la physiopathologie de ces affections qui ont beaucoup progressé au cours de ces dernières années notamment après la description d'anomalies moléculaires quasiment spécifiques. La mutation de l'exon 14 du gène JAK2 V617F (Janus Activated Kinase) a été découverte en 2005 [3, 4]. Elle est présente dans 95%

des PV et dans 50 à 60% des TE et MFP. Dans les années qui ont suivi, découverte de la mutation de l'exon 12 du gène JAK2 qui est présente dans 2% de PV [5] puis description de la mutation du gène MPL (Myéloproliférative Leukemia : récepteur de la thrombopoïétine) en 2006 [6, 7], présente dans 5% de TE et 5 à 10% de MFP [8, 9]. La dernière découverte est la mutation du gène de la calréticuline : CALR [10], présente dans 25% de TE et 30% de MFP. A l'heure actuelle, on dispose d'un marqueur moléculaire dans 90% des cas. Seuls 15% de TE et 10 à 15% de MFP ne présentent aucune des 3 mutations : on parle de triple négatif et il faut rechercher d'autres mutations (ASXL1, EZH2, TET2,...).

La Polyglobulie de Vaquez

Critères OMS 2008

Le diagnostic repose sur l'association des deux critères majeurs et d'un critère mineur, ou du 1^{er} critère majeur et de deux critères mineurs en l'absence de mutation de JAK2.

Critères majeurs

1. Hémoglobine (Hb) > 18,5 g/dl chez l'homme, et > 16,5 g/dl chez la femme ou toute autre preuve de l'augmentation de la masse globulaire érythrocytaire.
2. Présence de JAK2V617F ou d'autre mutation fonctionnellement similaire (exon 12 de JAK2).

Critères mineurs

1. Biopsie ostéomédullaire (BOM) montrant une hyperplasie cellulaire portant sur les lignées érythrocytaires, granulocytaires et mégacaryocytaires.
2. Taux d'érythropoïétine (EPO) sérique au-dessous des valeurs normales.
3. Pousse spontanée des progéniteurs érythrocytaires in vitro.

Critères OMS 2016

Le diagnostic repose sur l'association des 3 critères

majeurs ou des 2 premiers critères majeurs et du critère mineur en l'absence de mutation de JAK2.

Critères majeurs

1. Hb > 16,5 g/dL chez l'homme, > 16 g/dL chez la femme, ou Ht > 49% chez l'homme, > 48% chez la femme ou augmentation de la masse sanguine totale (> 25% de la valeur théorique).
2. Biopsie ostéomédullaire : hypercellularité touchant les trois lignées (panmyélose) avec prolifération mégacaryocytaire polymorphe et mature.
3. Présence de la mutation JAK2 V617F ou de JAK2 exon 12.

Critère mineur

Taux sanguin d'EPO normal ou subnormal.

PS : La BOM n'est pas obligatoire si l'Hb est > 18,5/g/dL (homme) et >16,5 g/dL (femme) et que le critère majeur 3 et le critère mineur sont présents.

Thrombocytémie essentielle

Critères OMS 2008

Le diagnostic repose sur l'association des quatre critères.

1. Augmentation persistante des plaquettes > 450 G/L.
2. Prolifération sur la biopsie ostéomédullaire prédominant sur la lignée mégacaryocytaire et faite d'une majorité d'éléments matures de grande taille. Pas d'augmentation significative de la granulopoïèse, ni de l'érythroïèse et pas d'excès d'éléments immatures dans ces deux lignées.
3. Absence des critères diagnostiques de LMC, PV, MFP, syndrome myélodysplasique (SMD) ou autre néoplasie myéloïde.
4. Mutation JAK2 V617F ou autre marqueur de clonalité, ou en l'absence de marqueurs de clonalité : absence d'arguments en faveur d'une thrombocytose réactionnelle.*

*Carence martiale, splénectomie, intervention chirurgicale récente, infection, inflammation, cancer ou de syndrome lymphoprolifératif et perte sanguine.

Critères OMS 2016

Le diagnostic de TE requiert les 4 critères majeurs ou les 3 premiers critères majeurs et le critère mineur.

Critères majeurs

1. Plaquettes > 450 G/L.
2. Biopsie médullaire avec prolifération surtout de la lignée mégacaryocytaire avec une augmentation du nombre de formes matures de grande taille avec un noyau hyperlobé. Pas d'augmentation significative ou de hiatus dans les lignées granuleuse et érythroblastique et très rarement augmentation minime de la réticuline (grade 1).
3. Absence des critères OMS diagnostiques de LMC Ph+,

PV, MFP, SMD ou autre néoplasie myéloïde.

4. Mutation de JAK2, CALR ou MPL.

Critère mineur

Présence d'un marqueur de clonalité ou absence d'étiologie de thrombocytose réactionnelle *

* carence martiale, splénectomie, intervention chirurgicale récente, infection, inflammation, cancer ou de syndrome lymphoprolifératif et perte sanguine.

La Myélofibrose primitive ou SMC

Critères OMS 2008

Le diagnostic nécessite la présence de trois critères majeurs et de deux critères mineurs

Critères majeurs

1. Présence d'une prolifération mégacaryocytaire et d'atypies morphologiques, accompagnées de fibrose réticulinique ou collagène, ou en l'absence de fibrose réticulinique significative, une augmentation de la cellularité médullaire caractérisée par une prolifération granuleuse et souvent une érythroïèse diminuée (=phase préfibrotique).
2. Absence de critères retenus par l'OMS en faveur du diagnostic de : PV, LMC, SMD, ou autre hémopathie myéloïde.
3. Présence de la mutation JAK2 V617F ou autre marqueur de clonalité (MPLW515L/K), ou démonstration de l'absence d'argument en faveur d'une myélofibrose secondaire*

Critères mineurs

1. Erythromyélie sanguine.
2. Augmentation des taux sériques de lactate déshydrogénase (LDH).
3. Anémie.
4. Splénomégalie palpable.

*Éliminer une fibrose médullaire secondaire [infection HIV, myélofibrose auto-immune, maladie inflammatoire chronique, lupus érythémateux disséminé, Kala Azar, tuberculose, maladie de Paget, déficit en vitamine D, ostéodystrophie rénale, cancer avec métastases, toxicité, maladie de Gaucher, hypo ou hyperparathyroïdie, affections lymphoïdes (leucémie à Tricoleucocytes, lymphomes Hodgkinien et non Hodgkinien, myélome multiple) et affections myéloïdes (LMC, MDS, LMMC, leucémie chronique à éosinophiles, LANL, LAL et histiocytose maligne).

Critères OMS 2016

Le diagnostic requiert les 3 critères majeurs et au moins 1 critère mineur.

Critères majeurs

1. Présence d'une prolifération mégacaryocytaire avec

- atypies cellulaires, accompagnée d'une fibrose réticulinique et/ou collagène de grade 2 ou 3.
2. Pas de critères OMS de PV, TE, LMC Ph+, SMD ou autre hémopathie myéloïde.
 3. Présence d'une mutation de JAK2, CALR ou MPL ou si absence, présence d'un autre marqueur clonal*, ou absence de cause de fibrose médullaire secondaire**.

Critères mineurs

Présence d'au moins un des trois critères suivants, confirmé par 2 déterminations :

1. Anémie sans autre étiologie.
2. Leucocytose > 11 G/L.
3. Splénomégalie palpable.
4. LDH > normale.
5. Erythro-myélémie.

*En cas de MFP « triple négative », la recherche d'un autre marqueur clonal doit être réalisée (mutations les plus fréquentes: ASXL1, EZH2, TET2, IDH1/IDH2, SRSF2, SF3B1).

**Éliminer une fibrose médullaire secondaire (infection, maladie auto-immune, maladie inflammatoire chronique, une hémopathie lymphoïde, cancer avec métastases, myélopathie toxique chronique, maladie de Gaucher, hypo ou hyperparathyroïdie).

La distinction entre la MFP et la MF secondaire à un SMP déjà diagnostiqué est possible grâce aux critères de l'IWG (International Working Group) (11) :

Critères majeurs (tous les critères)

1. Antécédents de TE ou PV.
2. Fibrose médullaire grade 2-3 (score 0-3) ou grade 3-4 (score 0-4).

Critères mineurs (au moins 2 critères)

1. Débord splénique \geq 5 cm ou apparition d'une splénomégalie.
2. Erythro-myélémie.
3. Un ou plusieurs signes généraux.
3. Elévation des LDH (uniquement pour la MF post TE).
4. Anémie avec diminution \geq 2 g/dl par rapport à la valeur de base (uniquement pour la MF post TE).
5. Anémie ou inefficacité d'un traitement cytoréducteur ou d'une saignée (uniquement pour la MF post PV).

Myélofibrose Primitive pré-fibrotique ou pré-SMC

Critères OMS 2016

Le diagnostic requiert les 3 critères majeurs et au moins 1 critère mineur.

Critères majeurs

1. Prolifération mégacaryocytaire avec atypies, sans fibrose réticulinique > grade 1, avec augmentation de la richesse médullaire, prolifération granuleuse et souvent diminution de l'érythroïèse.
2. Absence des critères diagnostiques de LMC Ph+, de PV, de TE, de SMD ou autre néoplasie myéloïde.
3. Présence de mutation de JAK2, CALR ou MPL ou, en l'absence de ces mutations présence d'un autre marqueur de clonalité (ASXL1, EZH2, TET2, IDH1/IDH2, SRSF2, SF3B1), ou absence de fibrose réticulinique mineure réactionnelle.

Critères mineurs

Présence d'au moins un des trois critères suivants, confirmé par 2 déterminations :

1. Anémie non liée à une comorbidité.
2. Hyperleucocytose > 11 x G/L.
3. Splénomégalie palpable.
4. Augmentation des LDH au-delà de la norme supérieure ou du seuil de référence local.

Des critères de gradation semi-quantitative de la myélofibrose sont proposés aux pathologistes par l'OMS avec des modifications mineures concernant le collagène et l'ostéosclérose.

MF-0 : fibres de réticuline linéaires sans intersection (correspond à une moelle normale).

MF-1 : réseau ténu de réticuline avec nombreuses intersections, spécialement dans les régions périvasculaires.

MF-2 : augmentation diffuse et dense de la trame de réticuline, avec très nombreuses intersections, parfois des faisceaux focalisés de fibres épaisses correspondant à du collagène, et/ou une ostéosclérose focale.**

MF-3 : augmentation dense et diffuse de la trame de réticuline avec très nombreuses intersections et de gros faisceaux de fibres collagènes, habituellement associés à une ostéosclérose.

CONCLUSION

La classification de 2016 insiste sur la nécessité de pratiquer une biopsie osseuse dans toute suspicion syndrome myéloprolifératif Ph- pour éviter de passer à côté du diagnostic, mais surtout pour quantifier la fibrose médullaire (intérêt pronostique). Dans notre pays, la recherche des mutations (JAK2, MPL, CALR, ...) n'étant pas de pratique courante, les diagnostics des PV et TE peuvent être posés grâce au critère mineur mais pas pour la MFP et la MFP pré-fibrotique.

RÉFÉRENCES

1. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016; 127: 2391-2405.
2. Ardiman JW, Thiele J, Arber DA, 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):937-951.
3. James C et al. Detection of JAK2 V617F as a first intention diagnostic test for erythrocytosis. *Leukemia*. 2006 Feb; 20(2):350-3.
4. James C, Ugo V, Le Couëdic JP et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature* 2005; 434: 1144-8.
5. Scott LM, Tong W, Levine RL et al. JAK2 exon 12 mutations in polycythemia vera and idiopathic erythrocytosis. *N Engl J Med* 2007; 356: 459-68.
6. Tefferi A. JAK and MPL mutations in myeloid malignancies. *Leuk Lymphoma* 2008; 49:388-97.
7. Vainchenker W, Delhommeau F, et al. New mutations and pathogenesis of myeloproliferative neoplasms. *Blood* 2011; 118: 1723-35.
8. Beer PA, Campbell PJ, Scott LM et al. MPL mutations in myeloproliferative disorders: analysis of the PT-1 cohort. *Blood* 2008; 112: 141-9.
9. Boyd EM, Bench AJ et al. Clinical utility of routine MPL, exon 10 analysis in the diagnosis of thrombocythaemia and primary myelofibrosis. *Br J Haematol* 2010; 149: 250-7.
10. Klampfl T, Gisslinger H, Harutyunyan AS, et al. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med*. 2013 Dec 19; 369(25):2379-90.
11. Barosi G, Mesa RA, Thiele J et al. Proposed criteria for the diagnosis of post polycythemia vera and post essential thrombocythemia myelofibrosis: a consensus statement from the international working group for myelofibrosis research and treatment. *Leukemia* 2008; 22: 437 - 438.

L'apport de la cytogénétique dans le diagnostic de la Leucémie Myéloïde Chronique au Mali

Oumar Samassekou^{1,3,4}, Yacouba L. Diallo^{2, *}, Mahamadou Traoré¹, Samba Sow³, Sabine Mai⁴

¹Service de Cytogénétique et de Biologie de la Reproduction, Institut National de Recherche en Santé Publique, Bamako, Mali.

²Service de Médecine, Hôpital du Mali, Bamako, Mali.

³Centre pour Développement des Vaccins-Mali, Centre National d'Appui à la lutte contre la Maladie, Bamako, Mali.

⁴Manitoba Institute of Cell Biology, Cancer Care Manitoba, University of Manitoba, Winnipeg, MB, Canada.

* Auteur correspondant :
Dr Yacouba Diallo

Adresse : Service de Médecine, Hôpital du Mali, 03 BP 106 Bamako, Mali
Téléphone : 00223 69 29 30 15.

Courriel : yldialloml@gmail.com

LA LEUCÉMIE MYÉLOÏDE CHRONIQUE (LMC) est une néoplasie myéloproliférative, caractérisée par la translocation t(9:22)(q34.1;q11.2). Son diagnostic se fait, dans un contexte d'hyper leucocytose persistante et inexplicée, par la mise en évidence du chromosome Ph par le marquage en bandes des chromosomes, de la fusion de BCR/ABL1 par la FISH, ou du transcrite de BCR/ABL1 par la réaction en chaîne par polymérase (PCR). Le suivi de la réponse thérapeutique des patients nécessite une quantification régulière des copies du chromosome Ph, du gène de fusion ou du transcrite de BCR/ABL1 [1]. De nos jours, les méthodes cytogénétiques sont indispensables pour établir le diagnostic, évaluer le pronostic et faire le suivi de la réponse thérapeutique de la LMC et des autres cancers. Au Mali, ces méthodes ne font pas partie de la pratique clinique courante parce que le plateau technique et l'expertise sont insuffisants, justifiant les nombreux recours aux compétences extérieures. Il nous est apparu nécessaire de développer, au niveau local, ces méthodes de diagnostic, d'évaluation pronostique et de suivi thérapeutique dans la prise en charge des pathologies cancéreuses. Nous avons réalisé les techniques de culture cellulaire, de marquage des chromosomes en bande-G et d'hybridation in situ en fluorescence étude sur six (06) patients présentant une suspicion clinique et biologique de la LMC. Bien vrai que d'autres études pionnières ont précédé la nôtre pour étudier les anomalies cytogénétiques au Mali [2], cette étude a permis d'établir, pour la première fois, la faisabilité du diagnostic cytogénétique de la LMC au Mali par des compétences locales. L'analyse des caryotypes et de la FISH-BCR/ABL1 a permis de confirmer le diagnostic de la LMC chez deux patients. Pour déterminer la présence d'autres anomalies chromosomiques subtiles ou complexes non identifiables par le caryotype en bande-G, nous avons fait le caryotype spectral par la technique M-FISH. Le caryotype spectral qui permet d'assigner à chaque paire de chromosomes une coloration unique, a été réalisé chez les patients qui avaient bénéficié d'un caryotype en bande-G. Nous avons analysé 20 métaphases et les résultats confirmaient ceux obtenus en bande-G. Nous avons déterminé la présence du gène de fusion BCR/ABL1 dans les noyaux interphasiques chez tous les patients par la technique FISH en utilisant la sonde LSI BCR/ABL Dual Color, Dual Fusion Translocation Probe (FISH-BCR/ABL1). Après analyse de 400 noyaux interphasiques chez chaque patient, nous avons trouvé que les deux patients positifs au chromosome Ph présentaient un profil de BCR/ABL1 fusionné respectivement dans 100% (400/400) chez le patient 1 et 98,5% (395/400) chez le patient 2. En outre, 100% (50/50) de leurs métaphases montraient le profil de fusion BCR/ABL1 sur les chromosomes 9 et 22.

Nous avons fait la surveillance de la réponse thérapeutique chez un patient, qui a bénéficié d'un traitement aux inhibiteurs de la tyrosine kinase. La FISH-BCR/ABL1 faite au quatrième mois du traitement a montré que 10,5% des cellules du sang périphérique présentaient le gène de fusion BCR/ABL contre 100% des cellules au diagnostic. Avec ce résultat, la réponse thérapeutique était considérée comme optimale selon les recommandations du Réseau Européen des Leucémies [1], ce qui est un bon indicateur de la rémission cytogénétique et moléculaire complète respectivement à la première et à la deuxième année du traitement. Ceux-ci constituent des facteurs indéniables de bon pronostic pour les patients [3]. L'apport de la cytogénétique pour faire le diagnostic et le suivi des hémopathies malignes devient une réalité au Mali. ■

RÉFÉRENCES

1. Baccarani M, Deininger MW, Rosti G, Hochhaus A, Soverini S, Apperley JF, et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. *Blood* 2013 Aug 8;122(6):872-884.
2. Traore M, Toure A, Keita MM, Traore MS. Étude cytogénétique chez 13 enfants présentant une polymalformation à Bamako. *Mali Médical* 1997;11:48-49.
3. Abeloff MD. *Abeloff's Clinical Oncology*. Philadelphia, Pa.: Churchill Livingstone Elsevier; 2008. 2013; 2325 p.

Remerciements

Cette étude a été supportée par les fonds de recherche des Instituts de Recherche en Santé du Canada dans le cadre de la Bourse Postdoctorale HOPE en oncologie, attribuée à Dr Oumar Samassekou. Nous remercions le Centre pour le Développement des Vaccins-Mali et the Genomic Center of Manitoba Institute of Cell Biology pour leur support. Nos remerciements vont également à Dr Angie Dawson de nous avoir gracieusement offert la sonde BCR/ABL1, aux médecins qui nous ont référé les patients et aux patients eux-mêmes.

Profil épidémiologique Algéro-Tunisien des LDGCB sur une période de 5 ans

Boudjerra.N¹, Oukid.S², Abad.MT², Louanchi.L¹, Aboura.Ch¹, Ramaoun.M¹, Belhani.M¹, Allouda.M³, Aftisse. H³, Ait. Ali. H³, Ben Lakhal.R⁴, Meddeb.B⁴, Ait. Amer. N⁵, Belhadri.F⁵, Tensaout.F⁵, Ahmed.Nacer.R⁵, Hamladji.RMH⁵, Boughrira.S⁶, Grifi.F⁶, Ghassoul.Y⁷, Djilali. M⁷, Belakehal.SE⁷, Ardjoun. FZ⁷, Bouchama.S⁸, Charef.L⁸, Bekadja. MA⁸, Benhalilou. M⁹, Sidi Mansour.N⁹, Kechichi.A¹⁰, Hamdi.S¹⁰, Bellaj.H¹¹, Berber.B¹², Mesli. N¹², Zatla.L¹³, Touhami. H¹³, Laatiri.M.A¹⁴, Si-Ali. N¹⁵, Zouaoui.Z¹⁵, Hamza.H¹⁶, Ouarlhent.Y¹⁶, Belkasmaoui .N¹⁷, Ghedira.H.¹⁸, Khemiri¹⁹, Mehalhal.M²⁰, Lakhdari.N²¹, Saidi.M²², Behloul.S²³, Lazzazi.A²³, Abrouk.S²³, Ben Othman.T²⁴, Benakli.M²⁵.

¹Beni Messous, ²CAC Blida, ³Tizi Ouzou, ⁴HAO(Tunis), ⁵CPMC, ⁶Annaba, ⁷HCA, ⁸EHU Oran, ⁹Constantine, ¹⁰Sétif, ¹¹Sfax HC, ¹²Tlemcen, ¹³CHU Oran, ¹⁴Monastir, ¹⁵SBA, ¹⁶CHU Batna, ¹⁷HMR d'Oran, ¹⁸HM deTunis, ¹⁹Sfax HB, ²⁰Mascara, ²¹Bejaia, ²²CAC Batna, ²³INSP Alger, ²⁴Président de la STH, ²⁵Président de la SAHTS .

RESUME

Le lymphome diffus à grandes cellules B (LDGCB) est un lymphome agressif, il occupe la première place des lymphomes non hodgkiniens (LNH), en Algérie il représente 50 à 60 % de l'ensemble des lymphomes. De nombreux progrès ont été réalisés ces dernières années dans la prise en charge des LNH et plus particulièrement des LDGCB, grâce au développement de l'immunohistochimie, l'identification des critères pronostiques, la mise en place de consensus thérapeutiques et l'arrivée de la thérapie ciblée. En Algérie et en Tunisie des progrès ont été aussi réalisés grâce à la mise en place de Groupes d'étude des lymphomes, GEAL en Algérie et GELT en Tunisie.

L'étude a porté sur les dossiers de patients pris en charge au niveau de 22 centres d'hématologie dont 17 en Algérie et 5 en Tunisie sur une période de 5 ans (2010-2014).

1432 fiches de LDGCB ont été répertoriées (Algérie 1175 -Tunisie 257).

L'analyse a mis en évidence un âge médian de 54ans : les hommes sont plus fréquemment atteints que les femmes : le sex ratio (M/F) est de 1,4. L'incidence pour l'année 2014 est de 0,65 /100000 habitants pour la Tunisie et 0,85 /100000 habitants pour l'Algérie.

Sur le plan clinique on note une prédominance des stades disséminés.

Ce travail coopératif réalisé avec la participation des deux pays nous a permis d'établir un profil épidémiologique des LDGCB et étudier leurs caractéristiques.

INTRODUCTION

LE LYMPHOME DIFFUS À GRANDES CELLULES B (LDGCB) est la variété la plus fréquente des lymphomes non hodgkiniens (LNH), il représente 30 à 40% des LNH de l'adulte en Europe et aux USA et 50 à 60 % des LNH en Algérie et au moyen Orient [2]. Sur le plan morphologique, le LDGCB est caractérisé par une prolifération diffuse de cellules lymphoïdes de grande taille dont il existe plusieurs variantes cytologiques : centroblastique, immunoblastique, anaplasique ou encore riche en histiocytes et lymphocytes T.

Le diagnostic est établi selon la classification OMS2008 [3]. L'incidence globale des LNH a augmenté de façon importante ces dernières années ; en Algérie, elle est passée de 0,81 en 2003 à 2,2 en 2013 [4] ; en Tunisie l'incidence est passée de 0,52 en 2010 à 0,65 en 2014. L'étiologie reste encore inconnue, certains facteurs sont incriminés dans la survenue des LDGCB comme certains polymorphismes des gènes du TNF (Tumor Necrosis Factor) et de l'interleukine 10 [5] ; le rôle de l'hérédité a été confirmé [6], de même que l'association au virus d'Epstein Barr chez les sujets âgés [7].

Ce travail qui vient compléter plusieurs études épidémiologiques nationales [4, 8], a la particularité d'élargir l'étude à un autre pays maghrébin, la Tunisie. L'étude a porté sur 5 ans 2010-2014 et a concerné la quasi-totalité des services prenant en charge les LDGCB. L'objectif de ce travail est d'établir un profil épidémiologique des LDGCB ganglionnaires de l'adulte au niveau de deux pays maghrébins (Algérie -Tunisie) et préciser les caractéristiques des patients.

PATIENTS ET MÉTHODE

Une étude longitudinale rétrospective, multicentrique a été faite sur 5 ans (2010-2014) au niveau de 2 pays du Maghreb, 22 centres d'hématologie ont participé au

travail représentant l'ensemble des centres de traitement des LNH (17 en Algérie et 5 en Tunisie). La collecte des données s'est faite sur une fiche préalablement établie et adressée à tous les services d'hématologie. La population étudiée est représentée par les patients adultes âgés de plus de 15 ans atteints de LDGCB, avec preuve anatomopathologique et immunohistochimique. Pour l'analyse des résultats, nous avons utilisé les logiciels EPI 6 et SPSS

- 1584 Fiches ont été reçues,
- 1432 fiches répondant aux critères d'étude ont été analysées

RÉSULTATS

Sur les 1432 fiches de LDGCB retenues, la répartition par pays est la suivante: Algérie :1175, Tunisie : 257 .

Etude de l'incidence par pays

Le nombre de nouveaux cas par an et les incidences annuelles pour 100.000 habitants sont illustrés pour chacun des pays sur le tableau1. Les courbes des incidences sont illustrées sur la figure1.

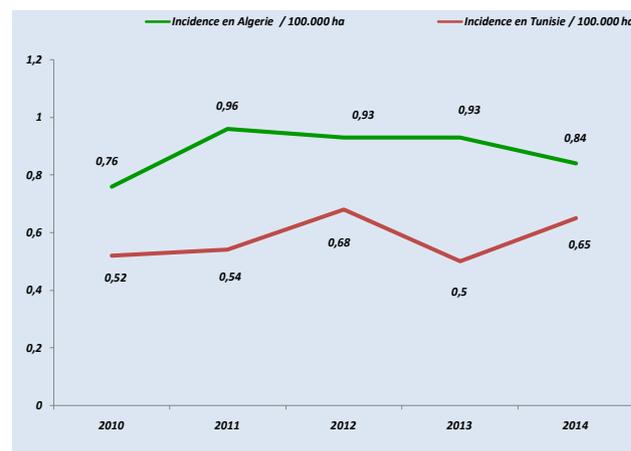


Figure 1 : courbe des incidences des LDGCB en Algérie et en Tunisie

Tableau 1 : répartition des nouveaux cas de LDGCB par an en Algérie et en Tunisie.

Années	ALGERIE			TUNISIE		
	Effectif	Population >15 ans	Incidence	Effectif	Population >15 ans	Incidence
2010	194	25.358.273	0.76	42	8.100.000	0.52
2011	246	25.551.480	0.96	44	8.197.478	0.54
2012	249	26.620.254	0.93	57	8.276.275	0.68
2013	253	27.193.000	0.93	59	8.360.381	0.50
2014	233	27.761.000	0.84	55	8.434.754	0.65
Total	1175	26.496,801	0.88	257	8.273.777	0.58

Répartition des patients selon les tranches d'âge

L'exploitation des fiches concernant l'âge nous montre un âge médian de 55 ans (15-96) pour l'Algérie et de 52 ans (15-92) pour la Tunisie. Le pic de fréquence est observé sur la tranche d'âge « 51 -70 ans» pour l'Algérie et «51 à 60 ans» pour la Tunisie (tableau 2).

Tableau 2 : Répartition des LDGCB selon les tranches d'âge en Algérie et en Tunisie.

Tranches d'âges (ans)	ALGERIE		TUNISIE		Total	%
	Effectif	%	Effectif	%		
15-20	26	2,2	6	2,3	32	4,5
21-30	177	15	36	14,1	213	29,1
31-40	149	12,6	36	14,1	185	26,7
41-50	191	16,2	43	16,8	234	33
51-60	203	17,2	53	20,5	256	37,7
61-70	205	17,4	44	17,2	249	34,6
71-80	159	13,8	31	12,1	190	25,9
81-90	54	4,5	7	2,7	61	7,2
> 90	44	0,9	1	0,3	12	1,2
Total	1175	100	257	100	1432	100

La majorité des patients sont jeunes, 63.5% pour l'Algérie et 67.7% pour la Tunisie (fig 2).

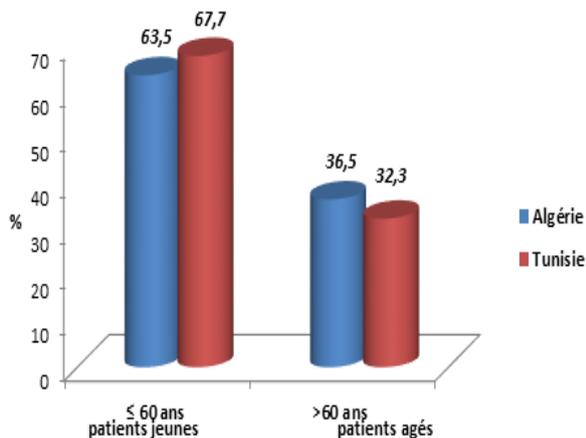


Figure 2 : Répartition des LDGCB selon : patients jeunes / patients âgés pour les 2 pays.

Répartition des LDGCB selon le sexe

En Algérie

Le nombre de patients de sexe masculin est de 682, celui des femmes est de 493 avec un sex ratio (M/F) de 1,38. (fig 3).

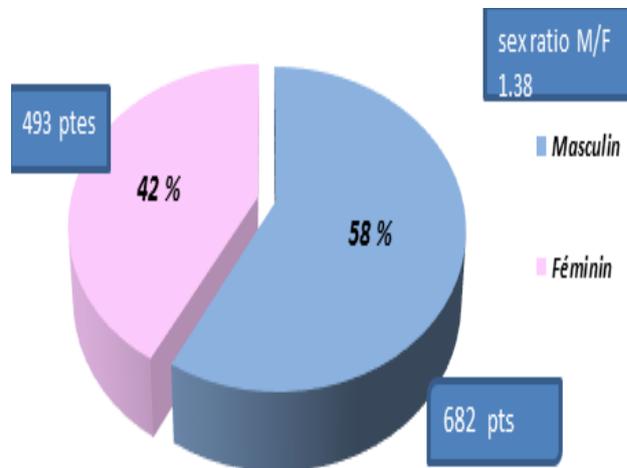


Figure 3 : Répartition des LDGCB selon le sexe en Algérie.

En Tunisie

Le nombre de patients de sexe masculin est de 155, celui des femmes est de 102 avec un sex ratio (M/F) de 1,5. (fig 4).

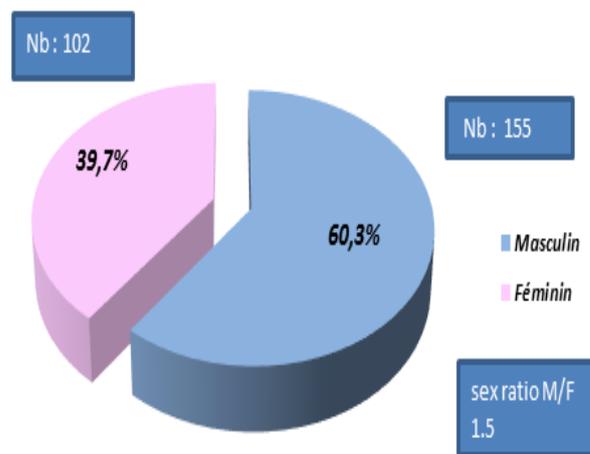


Figure 4 : Répartition des LDGCB en Tunisie selon le sexe

Répartition selon la notion d'un cancer dans la famille

La notion d'un cancer dans la famille a été notée dans 9.8% en Algérie sur 951 fiches exploitables pour cette donnée et 4.7 % en Tunisie sur 254 fiches exploitables (fig 5).

Répartition selon la notion d'un cancer dans la famille

La notion d'un cancer dans la famille a été notée dans 9.8% en Algérie sur 951 fiches exploitables pour cette donnée et 4.7 % en Tunisie sur 254 fiches exploitables (fig5).

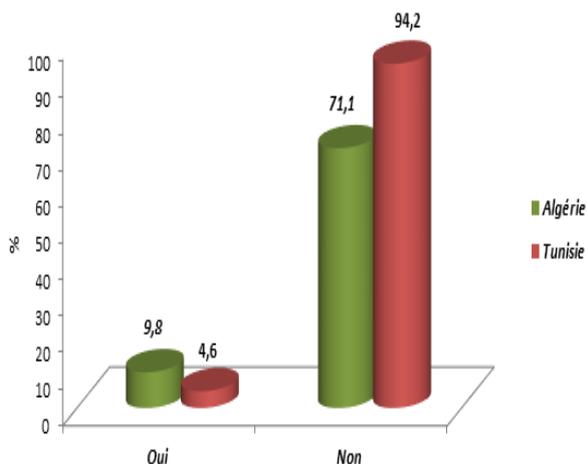


Figure 5 : Notion d'un cancer dans la famille pour l'Algérie et la Tunisie, chez les patients suivis pour LDGCB.

Répartition selon la profession

En Algérie sur les 455 fiches exploitables concernant cette donnée, l'activité professionnelle la plus fréquente est celle d'ouvrier agricole (23.5%). Pour la Tunisie sur les 50 fiches exploitables, les activités professionnelles les plus fréquentes sont celles d'ouvrier non agricole (20%) et cadre supérieur (20%).

Répartition selon les stades cliniques

Le stade clinique a été noté pour l'Algérie sur 1097 fiches et pour la Tunisie sur 256 fiches, on note une prédominance des stades cliniques avancés (tableau 3), les stades cliniques avancés représentent plus de 60 % pour les 2 pays (fig 6).

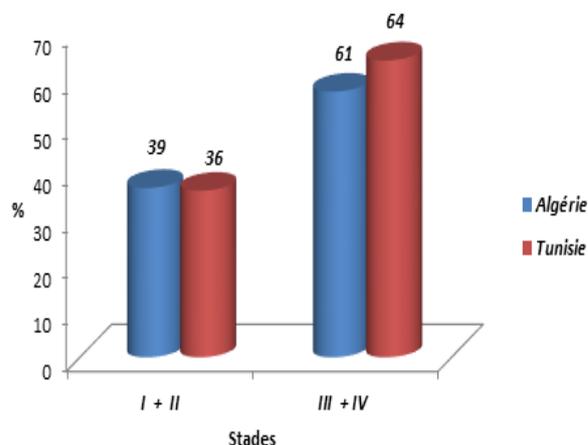


Figure 6 : Répartition des LDGCB selon les stades cliniques localisés ou avancés.

Répartition des LDGCB selon les index pronostiques internationaux

IPI, IPIaa, R-IPI

IPI calculé selon les paramètres suivants :

- Age (≤ 60 , > 60 y)
- Stade Ann Arbor : (I, II vs. III, IV)
- ECOG (0-1 vs 2-3)
- LDH (normal vs augmenté)

Score 0 0,1 facteur = faible risque
 Score 1 2 facteur = risque intermédiaire faible
 Score 2 3 facteur = risque intermédiaire fort
 Score 3 4,5 facteur = High risk

Tableau 3 : Répartition des LDGCB selon le stade clinique pour les 2 pays.

Stades	ALGERIE		TUNISIE		Total	ALGERIE		TUNISIE	
	Effectif	%	Effectif	%		Stades	%	Stades	%
SI	184	17	35	14	219	I + II	39	I + II	36
SII	243	22	57	22	300				
SIII	265	24	58	23	323	III + IV	61	III + IV	64
SIV	405	37	106	41	511				
Indeterminé	78	6,6	1	0,4	79				
Total	1175	100	257	100	1432				

Répartition des LDGC selon le score IPI

L'analyse de l'Indice Pronostique International (IPI) a été faite sur 1149 fiches exploitables pour l'Algérie et 253 fiches pour la Tunisie ; on relève une fréquence moindre du score 3 (12.8 % pour l'Algérie et 18.3% pour la Tunisie (fig 7).

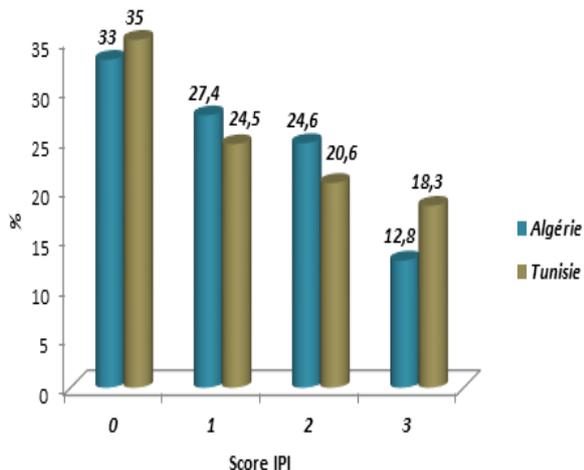


Figure 7 : Etude du score IPI chez les patients pris en charge pour LDGCB en Algérie et en Tunisie.

IPI révisé : R- IPI :

- Age (≤ 60 , $>60y$)
- Stade Ann Arbor : (I, II vs. III, IV)
- ECOG (0-1 vs 2-3)
- LDH (normal vs augmenté)
- Nombre de sites extra-gg (0,1 vs ≥ 2)

Score 0	0 facteur = Très bon
Score 1	1, 2 facteurs = Bon
Score 2	3 à 5 facteurs = Mauvais

La répartition des patients selon le R-IPI a été faite sur 1145 fiches exploitables pour l'Algérie et 250 fiches pour la Tunisie, on note une fréquence des stades de bon pronostic pour les 2 pays (fig 8).

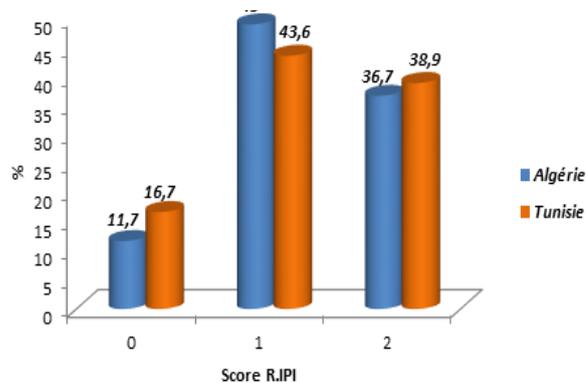


Figure 8 : Répartition des LDGCB selon R-IPI en Algérie et en Tunisie.

IPI ajusté à l'âge IPIaa :

- Ann Arbor stage (I, II vs. III, IV)
- ECOG (0-1 vs ≥ 2)
- LDH (normal vs élevé)

Score 0	0 facteur = faible risque
Score 1	1 facteur = faible intermédiaire
Score 2	2 facteurs = Intermédiaire élevé
Score 3	3 facteurs = risque élevé

L'index pronostique international IPIaa a été recherché sur les 1135 fiches exploitables pour cette donnée pour l'Algérie et 253 fiches pour la Tunisie. Nous avons observé, une plus grande fréquence des scores intermédiaires faible et intermédiaire élevé (fig 9).

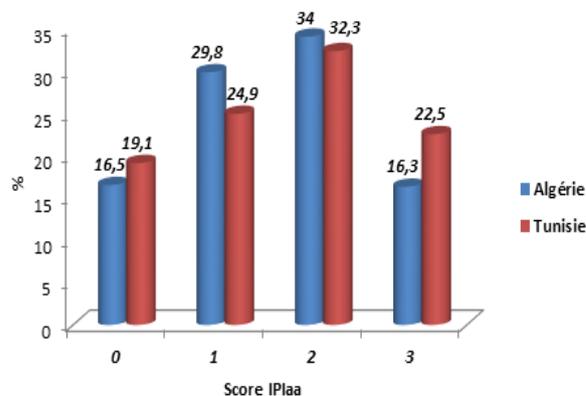


Figure 9 : Répartition des LDGCB selon l'index Pronostique International (IPIaa) en Algérie et en Tunisie.

DISCUSSIONS

L'incidence des LDGCB est en augmentation mais elle reste faible 0,65/100000 habitants en Tunisie et 0,85/100000 habitants en Algérie pour l'année 2014 et ce, en comparaison avec les incidences retrouvées en Europe et aux USA [1, 10]. L'incidence est plus élevée en Algérie, elle est cependant en progression en Tunisie. L'âge médian au diagnostic est de 55 ans en Algérie et de 52 ans en Tunisie, La population des patients atteints de lymphomes est plus jeune, dans nos pays en comparaison aux séries européennes [1]. Le sex ratio est de 1.38 en Algérie et 1.5 en Tunisie ce qui rejoint les taux retrouvés en Europe 1.5 [11, 12] . La notion d'un cancer dans la famille est retrouvée à un taux plus élevé en Algérie (9.8 %) qu'en Tunisie (4.7%) ; la notion d'un cancer dans la famille a été notée dans plusieurs études épidémiologiques [13, 14] Le risque professionnel a été incriminé dans plusieurs études, le risque semble plus élevé chez les personnes en contact avec les pesticides, notamment les ouvriers agricoles, un risque élevé a été retrouvé aussi chez les enseignants, les ouvriers de l'industrie du bois [11]. En Algérie la profession la plus exposée est celle d'ouvrier agricole (23.5%), en Tunisie les professions les plus exposées sont celles, d'ouvrier non agricole et cadre supérieur. Les stades cliniques III et IV sont plus fréquents dans nos pays (Algérie:61%, Tunisie 64%) en comparaison avec les pays de l'Europe (2,9). Un tiers des patients présente un faible risque selon l'Index pronostique International IPI (Algérie 33%, Tunisie : 35%) . On note un pourcentage plus faible pour les très bons pronostics selon le score R-IPI et un pourcentage plus faible pour les faibles risques, selon l'IPIaa concernant les 2 pays (moins de 20 %).

CONCLUSION

Ce travail coopératif mérite d'être poursuivi et aussi d'être élargi en incluant les cas du Maroc, de réunir pour les prochaines études les référents et les médecins en charge de cette pathologie pour le recueil des données les plus fiables possibles. ■

RÉFÉRENCES

1.Smith.A , Howel.D,Patmore.R et al Incidence of haematology malignancy by sous types : a report from the haematological malignancy research network British

Journal of Cancer 2011; 105: 1684-1692.

2.Boudjerra N,Anamarija M, perry, J Audouin and all classification of non-Hodgkin lymphoma in Algeria according to the Health organization classification Leukemia Lymphoma, April 2015, 56 (h) :965 970.

3.Swerdlow.SH ,Campo.E, Harris.WL et al World Health Organization . Classification of tumors of haematopoietic and lymphoides tissues . Lyon, IARC Press, 2008.

4.Boudjerra N, S.Oukid, MT.Abad, N.Ait Amer et al . Etude descriptive de 2915 cas de lymphomes non hodgkiniens ganglionnaires de l'adulte , période 2007-2012 Revue Algérienne d' hématologie, numéro 10-11,decembre 2015.

5. Rothman .N and al .Génétic variation in TNF and IL10 and risk of non Hodgkin lymphoma .Lancet Oncol 2006; 7:27-38.

6.Wang.S et al .Family history of haematopoiétic malignancies and risk of non Hodgkin lymphoma a pooled analysis of 10211 cases and 11905 controls from the international lymphoma . EpidemiologyConsortium ; Blood 2007, 109: 3479-88.

7. Nakamura.k et al .EBV positive diffuse large B -CELL lymphoma of the elderly . 4th ed-Lyon : IARL press 2008: 243-244.

8. Boudjerra.N pour le Groupe d' Etude Algérien des lymphomes GEAL, épidémiologie des lymphomes, Fascicule de la santé 2005;3 :16-20.

9. High-grade B-cell NHL by Region Incidence of Lymphoid Neoplasms by Subtype and Race, 12 SEER Registries, 1992-2001.(Morton et al. Blood 107:265, 2006).

10. Mohnereau.A, Troussard.X, Maynadie. M et al .Estimation nationale de l'incidence des cancers en France entre 1988 et 2012. Revue de l'Institut National du Cancer , sept 2013.

11. Ferlay.Y, Antier.P, Boniol. M and al . Estimates of the cancer incidence And mortality in Europe in 2006 Ana oncol 2007,18:581-92.

12. Remontet.L, Estève.J et al Incidence and mortalité in France over the period :1978-2000. Rev Epidemiol Santé Publique 2003;51:3-30.

13. Wang.SS, Slager.SL et al Family history of hematopoietic maligncies and risk of non Hodgkin lymphoma (Interlymph) Blood 2007; 109(8): 3479-88.

14. Casey.R, Brennan.P et al . Influence of familial cancer history on lymphoid neoplasms . Eur.J.Cancer 2006;42;(15):2570-6.

Le lymphome diffus à grandes cellules B étude des facteurs pronostiques

S. Bouchama¹, L. Charef¹, M. Brahim¹, MA. Bekadja¹, L. Zatl², H. Touhami², N. Mehalha³, N. Si Ali⁴,
A. Hadjeb⁴, Z. Zouaoui⁴, AF. Bendahmane⁵, N. Mesli⁵, M. Talbi⁶, N. Belkacemaoui⁷, A. Bachiri⁷.

¹Service d'Hématologie et de Thérapie Cellulaire, EHU1^{er} Novembre, Oran

²Service d'Hématologie, CHU Oran, ³Service d'Hématologie EPH Mascara, ⁴Service d'Hématologie, CHU Sidi-Bel-Abbès,

⁵Service d'Hématologie, CHU Tlemcen, ⁶Service d'Hématologie, CHU Béchar, ⁷Service d'Hématologie, HMRU Oran.

RESUME

Introduction : Les lymphomes diffus à grandes cellules B (LDGCB) représentent un groupe hétérogène tant sur le plan histologique, génétique que moléculaire. Leurs traitements reposent aujourd'hui sur la caractérisation des groupes pronostiques afin d'adapter au mieux les stratégies thérapeutiques. L'objectif de notre étude est d'analyser les facteurs pronostiques conventionnels tels l'âge, le sexe, les scores IPI, IPI-Révisé, le taux de LDH, mais également les taux de lymphocytes, de monocytes ainsi que le ratio L/M.

Patients et méthodes : Il s'agit d'une étude rétrospective, multicentrique portant sur des patients âgés de plus de 15 ans et atteints de LDGCB colligés de janvier 2007 à décembre 2014 au niveau de 7 services d'Hématologie de l'ouest algérien. L'analyse des données a porté sur l'impact pronostique de l'âge, le sexe, le PS, le taux de LDH, les signes d'évolutivité, le type Bulky, le stade clinique, le score pronostique IPI et IPI-R, les taux de lymphocytes de monocytes, le ratio L/M sur la survie.

Résultats : Un impact statistiquement significatif sur la survie a été retrouvé pour le sexe H/F ($p=0.04$), le stade clinique I-II vs III-IV ($p=0.008$), les signes d'évolutivité A vs B ($p=0.05$), le score IPI ($p=0.046$), l'IPI-révisé ($p=0.002$), la lymphopénie ($<1000/\mu l$) ($p<0.028$), la monocytose absolue $>630/\mu l$ ($p=0.001$) et le ratio lymphocytes sur monocytes $> 2,1$ ($p=0.001$). Par contre, il n'a pas été retrouvé de différence statistiquement significative pour l'âge, $\leq 60 >$ ans ($p=0.5$), le PS : 0-1 vs ≥ 2 ($p=0.06$), le type bulky vs non bulky ($p=0.32$) et le taux des LDH ($p=0.4$).

Conclusion : En dehors, des facteurs pronostiques cytogénétiques et/ou moléculaires, non disponibles dans notre pratique quotidienne, notre étude montre que le score IPI, IPI-R, le taux de lymphocytes, de monocytes au diagnostic et le ratio L/M, sont des facteurs pronostiques simples, reproductibles et discriminants permettant une adaptation de la thérapeutique.

INTRODUCTION

LES LYMPHOMES DIFFUS À GRANDES CELLULES B (LDGCB) représentent un groupe hétérogène tant sur le plan histologique, génétique que moléculaire [1]. Leurs traitements reposent aujourd'hui sur la caractérisation des groupes pronostiques afin d'adapter au mieux les stratégies thérapeutiques. Parmi les facteurs pronostics, il y a ceux liés au patient, tels l'âge et le sexe, ceux liés au lymphome, tels les anomalies cytogénétiques récurrentes, l'origine immuno-histochimique du lymphome [2] ou les anomalies moléculaires [3] et enfin les facteurs liés à l'évolutivité du lymphome, tels le stade clinique, les signes B ou le taux de LDH. Parallèlement à ces facteurs, il existe des paramètres biologiques simples comme le taux de lymphocytes ou de monocytes ou le ratio lymphocytes sur monocytes au diagnostic qui semblent être discriminatifs sur le plan pronostic [4].

L'objectif de notre étude est d'analyser les facteurs pronostics conventionnels tels l'âge, le sexe, les scores IPI, IPI-Révisé, le taux de LDH, mais également les taux de lymphocytes et de monocytes.

PATIENTS ET METHODES

Il s'agit d'une étude rétrospective, multicentrique portant sur des patients âgés de plus de 15 ans et atteints de LDGCB colligés de janvier 2007 à décembre 2014 au niveau de 7 services d'Hématologie de l'ouest algérien. Le diagnostic a été posé sur la biopsie ganglionnaire avec une étude immuno-histochimique (CD20+, CD3-). Le traitement a porté sur l'association du Rituximab à la dose de 375 mg/m² J1 à la chimiothérapie de type CHOP, à raison d'un cycle tous les 21 jours selon les recommandations du groupe national de traitement des lymphomes (GEAL). Les données des patients ont été recueillies à l'aide d'un tableau « Excel » renfermant les items préalablement établis et diffusés à tous les services participant à l'étude. L'analyse des données a porté sur l'impact pronostic de l'âge, le sexe, le PS, le taux de LDH, les signes d'évolutivité, le type Bulky, le stade clinique, et le score pronostic IPI et IPI-R sur la survie. Parmi les facteurs pronostics liés au lymphome, l'expression immunologique basée sur les taux de lymphocytes, de monocytes et du ratio L/M, a été également utilisée dans notre étude pour analyser l'impact pronostic des taux de lymphocytes, de monocytes et du ratio L/M au diagnostic sur la survie globale. L'analyse statistique a porté sur les courbes de

survie globale, réalisées selon la méthode de Kaplan Meier et la comparaison des courbes de survie entre les groupes pronostics selon le test de Log-Rank. Le logiciel utilisé est le SPSS version 19.

RÉSULTATS

Les caractéristiques cliniques et biologiques des patients sont reportées sur le tableau 1.

Tableau 1: Caractéristiques cliniques et biologiques des patients au diagnostic.

	N	467
Âge médian		54 ans (16-89)
Sexe		
H/F		265/202
Sex ratio		1,3
Stade		
I-II		43%
III-IV		57%
PS 0-1		59%
LDH>N		47%
Sites extraganglionnaires ≥3		12%
IPI		
Faible		41%
Intermédiaire faible		23%
Intermédiaire élevé		24%
Élevé		12%
IPI-R		
Très bon pronostic		11%
Bon pronostic		52%
Mauvais pronostic		37%

Une influence statistiquement significative sur la survie a été retrouvée pour le sexe H/F ($p=0.04$), le stade clinique I-II vs III-IV ($p=0.008$) et les signes d'évolutivité A vs B ($p=0.05$), le score IPI avec 41% des patients ayant 0-1 facteurs, et près de 40%, ayant 2 ou plus de 2 facteurs ($p=0.046$), et selon l'IPI-révisé (figure 1), où près de 40% des patients sont de mauvais pronostic. Par contre, il n'a pas été retrouvé de différence statistiquement significative pour l'âge, $\leq 60 >$ ans ($p=0.5$), le PS : 0-1 vs ≥ 2 ($p=0.06$), le type bulky vs non bulky ($p=0.32$) et le taux des LDH ($p=0.4$) (figure 2). Dans notre étude, la lymphopénie ($<1000/\mu$ l) est retrouvée comme un facteur péjoratif sur la survie globale avec une différence

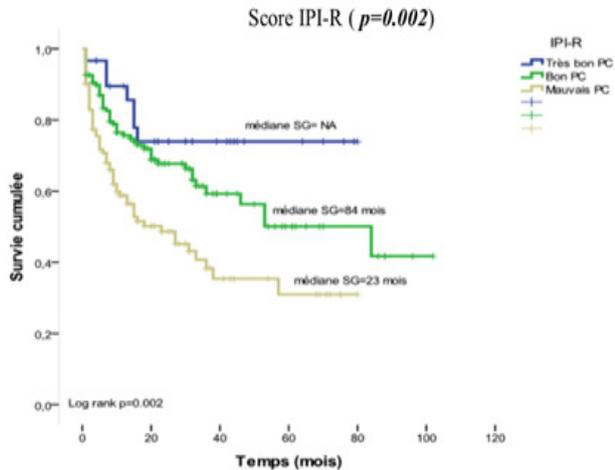


Figure 1: Survie globale selon l'IPI statistiquement significative pour l'âge, ≤ 60 > ans ($p=0.5$), le PS : 0-1 vs ≥ 2 ($p=0.06$), le type bulky vs non bulky ($p=0.32$) et le taux des LDH ($p=0.4$) (figure 2).

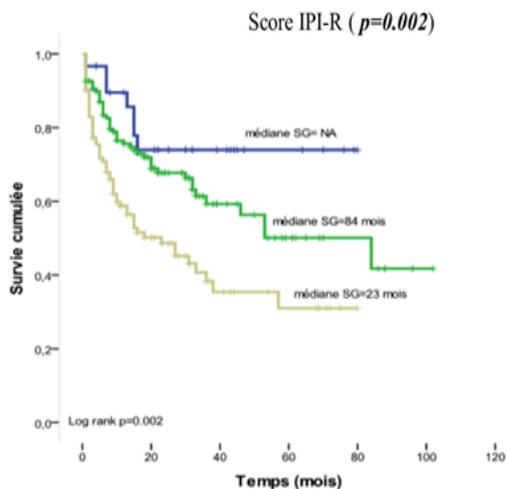


Figure 2: Survie globale selon l'IPI-R

Dans notre étude, la lymphopénie ($<1000/\mu\text{l}$) est retrouvée comme un facteur péjoratif sur la survie globale avec une différence significative ($p<0.028$) (figure 2), de même, une monocytose absolue $> 630/\mu\text{l}$ au diagnostic est prédictive d'une faible survie globale, 27 mois versus 57 mois avec un p value très significatif ($p=0.001$) (figure 3). Enfin, le ratio lymphocytes sur monocytes permet d'établir un facteur pronostic surajouté pour un cut-off de 2,1. Son application dans notre étude, a permis de montrer le caractère pronostique péjoratif du ratio $> 2,1$ avec des médianes de survies SG de 16 et 61 mois ($p=0.001$) (figure 4).

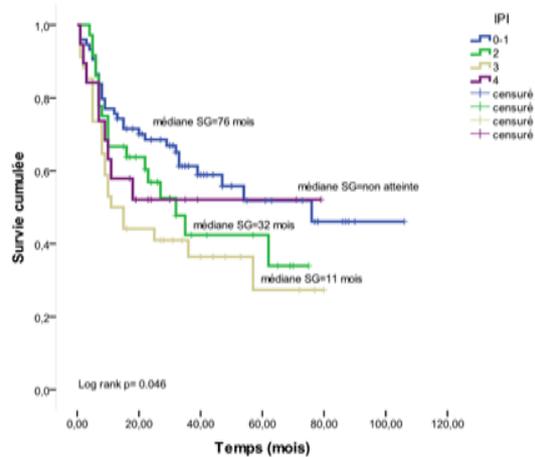


Figure 3 : Survie globale selon le taux de lymphocytes au diagnostic.

Taux de monocytes ($M \leq 630/\mu\text{l}$ vs $> 630/\mu\text{l}$) ($p=0.001$)

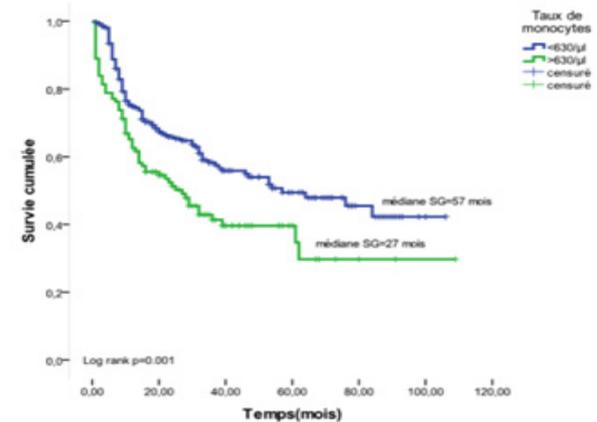


Figure 4: Survie globale selon le taux de monocytes au diagnostic.

Ratio L/M $\leq 2,1$ vs $>2,1$ ($p<0.001$)

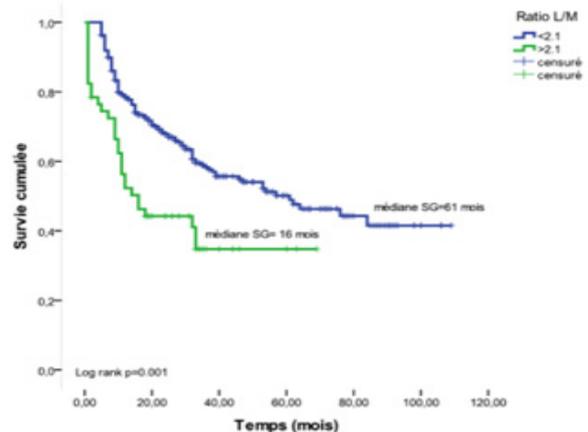


Figure 5: Survie globale selon le ratio Lymphocyte/monocyte au diagnostic.

DISCUSSION

Le LDGCB est le plus fréquent des lymphomes non hodgkiniens et représente plus de 50% du recrutement à l'échelle nationale [5]. Il est bien établi aujourd'hui que le LDGCB est une affection très hétérogène, en témoignent les résultats thérapeutiques selon le stade clinique, le type histologique et/ou moléculaire. En effet, l'origine histologique GCB (Germinal Center B-cell) versus ABC (Activated B-celllike) [2], ou bien le profil moléculaire, double-Hit(MYC t(14 ; 18) et BCL-2 t(8 ; 14) ou triple-Hit (MYC, BCL-2, BCL-6) [3], sont actuellement des paramètres indispensables dans l'approche thérapeutique du LDGCB. Malheureusement, les techniques d'immuno-histochimie ou de biologie moléculaire et de cytogénétique ne sont pas de pratique courante d'où les difficultés de catégoriser de façon précise les patients atteints de LDGCB. Dans nos activités quotidiennes, seules les aspects cliniques et biologiques sont pris en compte pour catégoriser les groupes pronostiques des patients et adapter leurs traitements.

L'analyse des résultats de notre étude montre un nombre de patients inclus de 467 avec un âge médian au diagnostic de 54 ans et une prédominance masculine. Les stades avancés sont prédominants, près de 60%, de même que le nombre de site extra GG>2 atteints (31%) avec dans plus de 40% des cas, un état général altéré. Ainsi dans notre étude, le profil de notre recrutement des patients atteints de LDGCB, montre qu'il s'agit de patients présentant pour la plupart une maladie très avancée et de mauvais pronostic dans plus de la moitié des cas.

Les facteurs pronostiques retrouvés dans notre étude, sont le sexe masculin en rapport probablement avec l'utilisation du Rituximab dont la distribution plasmatique est différente chez l'homme et la femme [6], le stade avancé III-IV, l'IPI et l'IPI-R. Le taux de lymphocytes, de monocytes et le ratio L/M au diagnostic sont retrouvés comme facteurs pronostiques comme dans les études de Belotti [4] et celle de Sun [7]. Au total, il s'agit de facteurs simples, reproductibles, cliniques tels que le sexe ou le stade Ann Arbor et biologiques comme le taux de lymphocytes et de monocytes au diagnostic. Ces derniers paramètres (taux de lymphocytes, de monocytes et ratio L/M) peuvent aider à stratifier le traitement selon le degré de sévérité du lymphome en groupe de bon et de mauvais pronostic, suggérant ainsi une intensification avec autogreffe de cellules souches périphériques en première intention dans les formes de mauvais pronostic.

CONCLUSION

En dehors, des facteurs pronostiques cytogénétiques et/ou moléculaires, non disponibles dans notre pratique quotidienne, notre étude montre que le score IPI, IPI-R, le taux de lymphocytes, de monocytes au diagnostic et le ratio L/M, sont des facteurs pronostiques simples, reproductibles et discriminants permettant une adaptation de la thérapeutique.■

RÉFÉRENCES

- 1.Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Harris NL, Stein H, Siebert R, et al.The 2016 revision of the world health organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood* 2016; 127:2375-2390.
- 2.Fu K1, Weisenburger DD, Choi WW, Perry KD, Smith LM, Shi X, Hans CP, Greiner TC.Addition of rituximab to standard chemotherapyimproves the survival of both the germinal center B-cell-like and non-germinal center B-cell-like subtypes of diffuse large B-celllymphoma. *J Clin Oncol.* 2008 Oct 1; 26(28):4587-94.
- 3.Barrans S1, Crouch S, Smith A, Turner K, Owen R, Patmore R, et al.Rearrangement of MYC is associated with poor prognosis in patients with diffuse large B-celllymphoma treated in the era of rituximab. *J Clin Oncol.* 2010 Jul 10; 28(20):3360-5.
- 4.Belotti A, Doni E, Bolis S, Rossini F, Casaroli I, Pezzatti S et al. Peripheral Blood Lymphocyte/Monocyte Ratio Predicts Outcome in Follicular Lymphoma and in Diffuse Large B-Cell Lymphoma Patients in the Rituximab Era. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2015; 15(4):208-13.
- 5.Boudjerra N, Perry Am, Audouin J, Diebold J, Nathwani BN, Maclennan KA et al. Classification of non-Hodgkin lymphoma in Algeria according to the World Health Organization classification. *Leukemia & lymphoma,* 2015; 56 (4): 965-970.
- 6.Pfreundschuh M1, Poeschel V2, Zeynalova S2, Hänel M2, Held G2, Schmitz N2, et al. Optimization of rituximab for the treatment of diffuse large B-celllymphoma (II): extended rituximab exposure time in the SMARTE-R-CHOP-14 trial of the german high-grade non-Hodgkin lymphoma study group. *J Clin Oncol.* 2014 Dec 20; 32(36):4127-33.
- 7.Sun HL, Pan YQ, He BS, Nie ZL, Lin K, Peng HX et al. Prognostic performance of lymphocyte-to-monocyte ratio in diffuse large B-cell lymphoma: an updated meta-analysis of eleven reports. *OncoTargets Ther.* 2016 May 20; 9:3017-23.

SUMMARY

THE DIFFUSE LARGE B-CELL LYMPHOMA STUDY OF PROGNOSTIC FACTORS.

Introduction: Diffuse large B-cell B lymphoma (DLBCL) represent a heterogeneous group, both histologically, genetically and molecularly. Their treatments are now based on the characterization of prognostic groups in order to better adapt the therapeutic strategies. The objective of our study is to analyze conventional prognostic factors such as age, sex, IPI scores, IPI-Revised, LDH, but also lymphocytes, monocytes and L / M.

Patients and methods: This is a retrospective multicentre study of patients aged 15 years and older with DLBCL collected from January 2007 to December 2014 among of 7 Hematology departments in western region of Algeria. Data analysis analyzed the prognostic impact of age,

sex, PS, LDH rate, signs of evolutivity, Bulky type, clinical stage, IPI prognosis score and IPI-R score, Monocyte and lymphocyte levels and the L / M ratio on survival.

Results: A statistically significant impact on survival was found for H / F sex ($p = 0.04$), clinical stage I-II vs III-IV ($p = 0.008$), signs of evolutivity A vs B ($P = 0.001$), lymphopenia ($<1000 / \text{ul}$) ($p < 0.028$), absolute monocyte count $> 630 / \text{ul}$ ($p = 0.001$) and the ratio of lymphocytes to monocytes > 2.1 ($p = 0.001$). On the other hand, there was no difference statistically significant for age, ≤ 60 ans ($p = 0.5$), PS: 0-1 vs ≥ 2 ($p = 0.06$), type bulky vs non bulky ($P = 0.32$) and the LDH level ($p = 0.4$).

Conclusion: The cytogenetic and / or molecular prognostic factors were not available in our daily practice. Our study showed that the IPI, IPI-R, lymphocytes, monocytes at diagnosis and L / M ratio are factors simple, reproducible and discriminatory prognostic factors allowing adaptation of therapeutics.

L'autogreffe de cellules souches hématopoïétiques après intensification thérapeutique selon le protocole tutshka dans les Lymphomes Non Hodgkiniens à grandes cellules B

Hamladji. RM, Benakli. M, Ahmed Nacer. R, Talbi. A, Akhrouf. S, Ait Amer.N, Harieche.F, Mehdid.F, Belhadj.R

Service Hématologie – Greffe de Moelle Osseuse – Centre Pierre et Marie Curie. Alger

RESUME

L'autogreffe de cellules souches hématopoïétiques (ASCT) après intensification thérapeutique (HDT) a d'abord été reconnue comme le traitement de choix dans les lymphomes non hodgkiniens (LNH) en rechute, puis utilisée aussi comme traitement de consolidation dans les LNH à grandes cellules B de mauvais pronostic. Parmi les nombreux protocoles d'intensification l'association BU/Cy/E a fait l'objet de nombreuses études. Cette étude rétrospective rapporte les résultats à long terme du protocole Tutshka (BuCy) +/- Etoposide chez 107 patients atteints de LNH à grandes cellules B dont l'âge médian est de 37 ans (17-56), sex ratio 1,2, dont 75 sont de type DLBCL (NOS) et 32 de type PMLBL traités de Janvier 2.004 à Décembre 2.014 par le protocole Tutshka (Bu/Cy) +E évalués au 30/12/15 avec un suivi médian de 48 mois (4-131), leur statut prégreffe : RC +RCu (59%), RIC (37%) .

Tous les patients ont reçu des CSP après mobilisation par le seul G-CSF, conservées à -180°C avec un taux de CD34 : $3,4 \times 10^6/\text{kg}$ (0,87-7,36). Le délai médian de sortie d'aplasie est de 12 jours (10-60). Après 3 mois sur 98 patients évaluables une RC post greffe est obtenue dans 88% des cas et une RIC dans 12%. Vingt six décès (24%) dont 7 précoces par infection (TRM : 6%) et une rechute dans 19% des cas ont été observés. Les survies actuarielles OS et EFS à 11 ans sont de 68,5% et 70,5% et il n'ya pas de différence significative entre les survies des DLBCL (NOS) et des PMLBL. Nos résultats montrent que le protocole Tutshka est bien toléré et applicable dans les LNH à grandes cellules B comme traitement de consolidation en première intention et dans les rechutes chimio-sensibles

INTRODUCTION

L'INTENSIFICATION THÉRAPEUTIQUE (HDT) suivie d'autogreffe de cellules souches hématopoïétiques (ASCT) a été introduite en 1978 chez des patients atteints de lymphomes non hodgkiniens (LNH) en rechute sensibles à la chimiothérapie [1], elle a été suivie de plusieurs études qui ont montré la supériorité de cette procédure par rapport à la seule chimiothérapie conventionnelle [2,3]. Par contre l'utilisation de ce mode de traitement dans les LNH à grandes cellules B en première intention comme traitement de consolidation a fait l'objet de résultats discordants [4,5]. Différents protocoles d'intensification ont été évalués parmi lesquels le BEAM, le BEAC le CBV [6], le BuCy [7], le Bu Cy/E [8, 9,10]. Notre étude rétrospective a eu pour but d'évaluer les résultats du protocole Tutshka (BuCy) dans les LNH à grandes cellules B et de comparer son efficacité dans les LNH médiastinaux primaires à grandes cellules B (PMLBL) par rapport aux lymphomes diffus à grandes cellules DLBCL (NOS).

PATIENTS ET METHODES

Sur une période de 11 ans de janvier 2004 à décembre 2014, 107 patients atteints de LNH à grandes cellules B, dont 75 de type DLBCL (NOS) et 32 de type PMLBL, ont bénéficié d'une HDT suivie d'autogreffe. Ils représentent durant cette période 22% (107/493) des autogreffes réalisées dans notre unité.

Caractéristiques des patients (Tableau 1)

L'âge médian au diagnostic de tous les patients est de 37 ans (17-65) avec un sex-ratio de 1.2, il est pour les 32 patients atteints de PMLBL de 31 ans (17-56) avec un sex-ratio de 0.6 et pour les 75 DLBCL (NOS) de 45 ans (17-65) avec un sex-ratio de 1.7. Le diagnostic histologique a été porté sur l'étude morphologique et l'immunomarquage avec un CD20 positif, sur une biopsie ganglionnaire d'un ganglion superficiel ou une biopsie par thoracotomie ou scanoguidée.

Tous les patients ont bénéficié d'un staging clinique comportant un examen clinique, des examens biologiques hématologiques, biochimiques, une ponction biopsie osseuse, un examen tomodynamométrique thoraco-abdomino-pelvien (TDM T.A.P) et une échocardiographie. Les patients ont été classés selon la classification clinique d'Ann Arbor et les DLBCL (NOS) selon l'index pronostique international révisé (R-IPI) [11] ; tous sont de mauvais

pronostic. Les protocoles de chimiothérapie d'induction sont pour les PMLBL le R-C2 H2 OPA (3 cures) renforcé par une radiothérapie médiastinale à 36 Gy chez 8 patients, les DLBCL (NOS) ont reçu 8 cures de CHOP ou de R-CHOP (depuis 2007). Les protocoles de rattrapage ont été l'ESAP et le GDP. Les critères de réponse au traitement sont pour la rémission complète (RC), la disparition de tous les signes cliniques et radiologiques (Rx standard et TDM) de la maladie, la RCu (RC incertaine), une réduction de plus de 75% de la masse tumorale à la TDM et la rémission incomplète (RIC), comme la réduction de la masse tumorale entre 50 et 75% [12].

Tableau 1 : Caractéristiques des patients.

	Tous n: 107	PMLBL n: 32	DLBCL (NOS) n: 75
Age médian (année)	37	31	45
Extrêmes	(17-65)	(17-56)	(17-65)
Sex-ratio	1.2	0.6	1.7
Stades Ann Arbor			
II	32	32	-
III	31	-	37
IV	38	-	38
Nb de lignes de traitement			
1	73(68%)	16(50%)	57(76%)
≥ 2	34(32%)	16(50%)	18(24%)
Statut avant greffe			
RC + RCu	63(59%)	15(47%)	47(62,5%)
RIC	40(37%)	16(50%)	25(33%)
Réfractaire	4	1	3

Procédure de la greffe

Le greffon de cellules souches hématopoïétiques a concerné des cellules souches périphériques (CSP) pour tous les patients, obtenues après mobilisation par injection de G-CSF uniquement, administré à la dose de 15 microgrammes/kg/jour pendant 5 jours par voie sous cutanée. Le prélèvement a été effectué à J5 et J6 à l'aide d'un appareil d'aphérèse (Cobe Spectra-Gambro). L'évaluation du total des cellules du greffon prélevé a été faite sur un compteur automatique de cellules et le comptage des cellules mononuclées, effectué manuellement. Le comptage en valeur absolue des cellules CD34+ marquées par un anti CD34 conjugué à la fluorescéine a été réalisé par cytométrie en flux (Facs Calibur Becton Dickinson). Les cellules du greffon ont été congelées à -180° dans un mélange de DMSO et albumine à 4% à l'aide d'un congélateur programmable

(Nicool – Air liquide) et conservées dans l'azote liquide dans des Cryoconservateurs.

- Le protocole d'intensification et le traitement de support Les patients sont hospitalisés dans une chambre individuelle protégée et mise en place d'un cathéter central ou d'une chambre implantable. Le protocole d'intensification appliqué de 2004 à 2012 a été le protocole Tutshka associant le Busulfan (per os) 16mg/kg à raison de 4mg/kg/J de J8 à J5, avec Rivotril et du Cyclophosphamide en perfusion 120mg/kg à raison de 60mg/kg/j à J4 et J3 dans 500 mg de sérum glucosé à 5% en 4 heures avec Uromitexan à la dose 2/3 de celle du Cyclophosphamide à Ho-H4 et H8. Le protocole Tutshka –Etoposide a été utilisé à partir de 2013 associant Busulfan de J9 à J5, Etoposide (IV) 30 mg/kg soit 15 mg/kg/J à J3 et J2 et le Cyclophosphamide à J3 et J2. Le greffon autologue est réinfusé à J0 après décongélation de la poche dans un bain marie à 37°C avec un taux moyen de CD34 de 3,14 x 10⁶/kg (0,87 à 17,36). Les patients ont bénéficié d'une alimentation stérile et d'un traitement prophylactique par bains de bouche à la Fungizone solution buvable associé à du Nifuroxazide per os à la dose de 800mg/J et un traitement par antiémétique Ondansetron. Une héparinothérapie est assurée du début du conditionnement jusqu'à la sortie d'aplasie. Tous les produits sanguins transfusés pendant la période post greffe ont été irradiés à 25 Gy (Irradiateur de cellules IBL – Cis Bio).

- Evaluation de la toxicité

Tous les cas de dysfonctionnement non hématologiques sont considérés comme des toxicités en rapport avec la procédure d'intensification sauf s'ils peuvent être expliqués clairement par une autre cause. L'échelle de gravité de la toxicité utilisée est celle de l'OMS.

- La réponse à la greffe

L'évaluation de la réponse est effectuée dans un délai de 6 semaines.

- Analyse statistique

La survie globale (OS) est définie comme le délai entre la date de la greffe et la date du décès ou la date de fin de suivi. La survie sans événement (EFS) est calculée de la date de la greffe jusqu'à la date de la rechute ou du décès (quel que soit la cause du décès). Les courbes de survie sont établies selon la méthode de Kaplan-Meier et comparées selon le test de Log Rank.

RESULTAT

La sortie d'aplasie

Pour tous les patients le délai médian de sortie d'aplasie

(PN>0,5 x 10⁹/L) est de 12 jours (10 à 60). Pendant la période d'aplasie les patients ont reçu un taux moyen de 1 culot globulaire (CG) et de 1CUP ½. Aucun patient n'a reçu de G-CSF en post greffe.

La toxicité du conditionnement

- Les toxicités extra-hématologiques les plus fréquentes ont été la mucite de grade IV dans 60% des cas, les troubles digestifs à type de nausées et/ou de vomissement de grade 3 dans 71% des cas et une diarrhée de grade 2 à 3 dans 80% des cas.

- Les épisodes fébriles

Tous nos patients ont présenté un épisode fébrile. Une infection cliniquement et/ou radiologiquement documentée a été observée chez 30 patients (32%), une infection microbiologiquement documentée chez 35 patients (32%) surtout à cocci Gram positif.

Le statut post greffe à 3 mois

Neuf patients sont décédés précocement par infection et 2 patients suite à une poussée évolutive. Après 3 mois, sur 98 patients évaluables, une RC est obtenue chez 86/98 patients (88%) et une RIC chez 12/98 (12%).

Le devenir des patients (tableau 2)

Au 30/12/2015 le suivi médian est de 48 mois (4 à 131) Parmi les 98 patients évaluables, une rechute a été observée chez 19 patients (19%), elle est précoce dans un délai de 24 mois chez 14 patients (14%) dont 7 en RIC avant la greffe. Les décès sont au nombre de 26/107 (24%). Une RC persistante est obtenue chez 77/98 patients évaluables (78%) dont 20/29 (69%) des PMLBL et 57/69 (83%) des DLBCL (NOS).

Tableau 2 : Devenir des patients.

	Evaluable n: 98	PMLBL n: 29		DLBCL (NOS) n: 69
Rechute	19 (19%)	7 (24%)	P : 0,31	12 (17,5%)
RC persistante	77 (78%)	20 (69%)	P : 0,12	57 (83%)
Décès	26/107 (24%)	10/32 (31%)	P : 0,27	16/75 (21%)
OS	68,5%	66%	P < 0,1	70,5%
EFS	67,4%	59,8%	P<0,9	73%

Les survies actuarielles globales (OS) et sans événement

(EFS) à 11 ans des 107 patients sont respectivement de 68,5% et 67,4%, celles de 75 DLBCL (NOS) de 70% et 73% et celles des 32 PMLBL de 66% et 59,8% (Fig. 1 et 2)

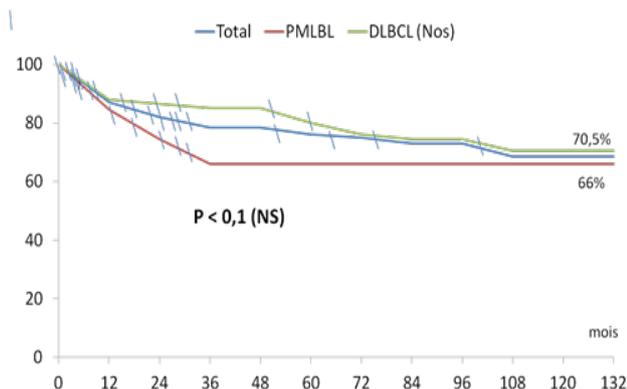


Figure 1 : Survies globales.

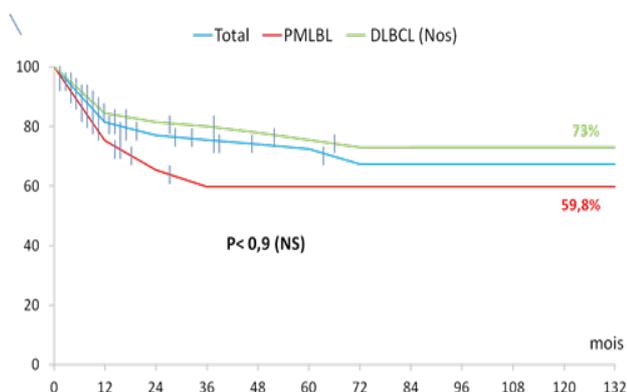


Figure 2 : Survies sans évènements.

Il est à noter que chez les 57 DLBCL (NOS) en réponse après 8 cures de R-CHOP (1^{ère} ligne de traitement) avant la greffe, une RC persistante a été observée chez 47/54 patients évaluable (87%) et 8 décès, dont 7 rechutes et leur survie globale est de 76% (Fig. 3).

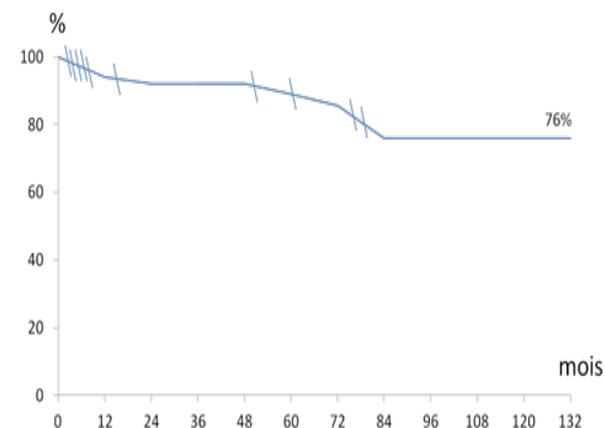


Figure 3 : Survie globale des pts DLBCL (NOS) traités par 8 CHOP (1^{ère} ligne de traitement), en réponse avant l'autogreffe.

DISCUSSION

L'intérêt de l'intensification thérapeutique suivie d'autogreffe dans les LNH à grandes cellules B en rechutes, est largement reconnu depuis l'étude Parma [3]. L'intérêt de son utilisation comme traitement de consolidation après traitement de première intention dans les LNH à grandes cellules B de mauvais pronostic, a été démontré en 2000[4] et utilisé depuis cette époque dans de nombreuses études. Les résultats obtenus chez les 57 patients atteints de DLBCL (NOS) de mauvais pronostic de notre étude ayant reçu 8 cures de R-CHOP suivi d'autogreffe de consolidation, montrent une RC persistante chez 47/54 patients évaluable (87%), 8 décès (14%) et une survie globale à 76%, comparés à ceux d'une étude algérienne prospective récente [13] concernant 49 patients évaluable de même gravité traités avec la même chimiothérapie (8 cures de R-CHOP) non suivie d'autogreffe, montrent une RC persistante chez 28/49(57%) , 21 décès (42,8%) et une survie globale à 55% nettement plus faible. Ainsi, il apparaît que l'autogreffe de consolidation après chimiothérapie en 1^{ère} intention permet d'améliorer le pronostic des DLBCL (NOS) de mauvais pronostic (tableau 3). Par contre le statut pré-greffe de RC par rapport à la RIC n'a pas d'impact dans notre étude sur les résultats.

Tableau 3 : Comparaison des résultats de la chimiothérapie avec chimiothérapie + autogreffe dans les DLBCL (NOS).

	CT	CT+ Autogreffe	P
Hainoun 2000 [4]	32%	53%	0.001
Milpied 2004 [5]	56%	71%	NS
Notre étude		76%	
Allouda 2014 [13]	55%		

En ce qui concerne les résultats obtenus avec les différents protocoles, il apparaît que chez nos patients, la TRM de 6% se situe dans la fourchette de 3 à 9% observée dans les autres études ayant utilisé le protocole BU/Cy/E, il en est de même de la survie globale et de l'EFS, ce qui permet de conclure à la validité de ce protocole (tableau 4). Enfin La comparaison des résultats obtenus dans notre étude dans les DLBCL (NOS) avec ceux des PMLBL, ne montre pas de différence significative en ce qui concerne

d'une part l'OS (70,5% et 66%) et d'autre part l'EFS (73% et 59,8%).

Tableau 4 : Comparaison des résultats selon le protocole d'intensification.

	BEAM	BEAC	CBV	Bu/Cy/E
Salar (2001) [6]				
Nb patients	164	145	39	
OS	58%	58%	40%	
EFS				
TRM	8%	8%	8%	
Kim (2011) [9]				
Nb patients	43			22
Survie médiane	30,6			22,6
EFS médiane	16,1			11,3
TRM	4%			9%
Flowers (2016) [10]				
Nb patients	466			118
OS	75%			76%
EFS médiane	60%			55%
TRM	3,9%			3,3%
Notre étude				
Nb patients				107
OS				68,5%
EFS				67,4%
TRM				6%

CONCLUSION

Le protocole d'intensification Tutshka + Etoposide est applicable chez nos patients atteints de LNH à grandes cellules B de mauvais pronostic au mieux comme traitement de consolidation en première intention afin d'améliorer le pronostic de ces hémopathies, il peut être utilisé également après rechute et traitement de rattrapage à condition d'obtenir une RC ou une RIC qui sont le témoin d'une chimio-sensibilité hautement souhaitable. ■

RÉFÉRENCES

1-Appelbaum FR, Herzig GP, Ziegler JL et al. Successful engraftment of cryopreserved autologous bone marrow in patients with malignant lymphoma. *Blood* 1978; 52: 85-95.

2-Meehan KR, Pritchard RS, Leichter Jw et al. Autologous bone marrow transplantation versus chemotherapy in relapsed/ refractory non Hodgkin's lymphoma: estimates of long term survival from therecent literature. *Am j Hematol* 1995; 50: 116- 23.

3-Philip T, Guglielmi C, Hagenbeek A et al Autologous bone marrow transplantation as compared with salvage chemotherapy in relapses of chemotherapy-sensitive non

Hodgkin's lymphoma. *N.Engl J Med* 1995; 333: 1540-5.

4-Haioun C, Lepage E; Gissefbrecht et al Survircal benefit of high dose therapy in poor risk aggressive non Hodgkin's lymphoma final analyses of the prospective LNH 87-2 protocol Groupe d'étude des lymphomes de l'adulte. *Clin oncol* 2000: 18: 3025-30.

5-Milpied N, Deconick E, Gaillard F et al Initial treatment of aggressive lymphoma with high dose chemotherapy and autologous stem cell support. *N. Engl J Med* 2004; 350, 1287-95.

6-Salar A, Sierra J, Gandarillas M et al Autologous stem cell transplatation for clinically aggressive non Hodgkin's lymphoma: the role of preparative regimens. *Bone Marrow Transplant/* 2001; 27: 405-412.

7-Ulricksm M,Aldridge J, Kim HT et al Busulfan and cyclophosphamide (Bu/Cy) as a preparative regimen for autologous stem cell transplantation in patients with non-Hodgkin lymphoma: a single institution experience *Biol Blood Marrow Transplant*, 2009, 15: 1447-1454.

8-Kim J G, Sohn SK, Chae YS et al. Multicenter study of intravenous busulfan, cyclophosphamide and Etoposide (IV Bu/Gy/E) as conditroning regimen for autologous stem cell transplantation in patients with non-Hodgkin's lymphoma *Bone Marrow Transplant*. 2007; 40: 919-924.

9-Kim JE, Dae Holec, Changhoon Yoo et al. BEAM or BuCyE high-dose chemotherapy followed by autologous stem cell transplantation in non-Hodgkin's lymphoma patients: a single center comparative analysis of efficacy and toxicity. *Leukemia Research*. 2011. 35/ 183-187 .

10-Flowers CR, Costa LJ, Pasquini MC et al Efficacy of Pharmacokinetics Busulfan, cyclophosphamide and Etoposide conditioning and autologous stem cell transplantation for lymphoma: comparison of a Multicenter phase II Study and CIBMTR outcomes *Biol Blood Marrow Transplant*, 2016; 22: 1197-1205.

11-Sehm LH, Berry B, Chhanabbai M et al. The revised international prognosis Index (R-IPI) is a better predictor of outcome than the standard IPI for patients with diffuse large B-Cell lymphoma treated with R-CHOP . *Blood* 2007; 109: 1857-1861.

12-Cheson BD, Horming SJ, Coiffier B et al Report of an international Workshop to standardize response criteria for non Hodgkin'S lymphoma. NCI sponsored international working group. *J Clin Oncol* 1999;17: 1244-1253.

13-Allouda-Aliouane M-Evaluation du protocole R-CHOP dans le traitement des lymphomes malins non hodgkiniens diffus à grandes cellules B chez l'adulte : étude prospective - Thèse de DESM 2014 Alger .

SUMMARY

THE AUTOLOGOUS OF HEMATOPOIETIC STEM CELLS AFTER THERAPEUTIC INTENSIFICATION UNDER THE TUTSHKA PROTOCOL IN NON-HODGKINAL LYMPHOMES WITH LARGE B CELLS.

High dose therapy (HDT) followed by autologous stem cell transplantation is recognized as the treatment of choice in the NHL in relapse. Also used as consolidation treatment in poor prognosis NHL with large B cells. Among the numerous protocols of HDT, the association BU/Cy/E is the subject of numerous studies. This retrospective study reports the long-term results of the TUTSHKA (BuCy) +/- Etoposide protocol in 107 patients with large B-cell NHL with a median age of 37 years (17-56), sex ratio 1.2, of which 75 were DLBCL (Nos) type and 32

PMLBL type treated from January 2004 to December 2014. The evaluation at 30/12/2015 with a median follow-up of 48 months (4-131): RCu (59%), RIC (37%). All the patients received peripheral blood stem cell after mobilization by the only G-CSF and stored with a median -180 ° C. with a CD34+ cells, ratio: 3,4.106/kg (0.87-7.36). The average discharge time from aplasia is 12 days (10-60). After 3 months on 98 evaluable patients, post-transplant RC is obtained in 88% of cases and RIC in 12%. Twenty-six deaths (24%), of which 7 by precocious infection (TRM: 6%) and a relapse observed in 19% of cases. Actuarial survival for OS and EFS at 11 years was 68.5% and 70.5% respectively and there was no significant difference between survival of DLBCL (Nos) and PMLBL. Our results show that the Tutshka protocol is well tolerated and applicable in large B-cell NHLs as first-line consolidation therapy in first intention and in chemosensitive relapses.

Un cas de maladie de Biermer révélé par un accident vasculaire cérébral ischémique et revue de la littérature

M. Fall^{1*}, N.M. Gaye¹, M.S. Diop¹, E.H.M. Ba¹, A.M. Diop¹, O. Cissé¹, N.S. Diagne¹, A.M. Bass¹, A.D. Sow¹, L.B. Seck², K. Touré³, M. Ndiaye¹, A.G. Diop¹, M.M. Ndiaye¹

¹Neurology department, University Cheikh Anta DIOP, Dakar, Senegal, ²Neurology department, University Gaston BERGER, St-Louis, Senegal, ³Neurology department, University of Thies, Senegal.

RESUME

La maladie de Biermer est une affection auto-immune caractérisée par une carence en vitamine B12. Les symptômes neurologiques de la carence en vitamine B12 sont polymorphe et l'accident vasculaire cérébral ischémique est une complication rare de la maladie de Biermer.

Un homme de 50 ans, sans antécédents médicaux particuliers, avait consulté pour hémiparésie droite et dysarthrie d'installation brutale sans aucun contexte particulier. La tomodensitométrie a montré un infarctus sylvien superficiel gauche. Le bilan cardiovasculaire était normal et le bilan biologique révélait une anémie macrocytaire associée à une hypovitaminose B12 et une hyperhomocystéinémie en rapport avec une maladie de Biermer.

Les affections neurologiques dues à la carence en vitamine B12 sont polymorphes. Cependant, elle est rarement rapportée comme facteur de risque d'accident vasculaire cérébral dans le contexte d'une maladie de Biermer

Mots-clés: Ischémie cérébrale -Vitamine B12- Maladie de Biermer

INTRODUCTION

LA CARENCE EN VITAMINE B12 ou en cobalamine est fréquente chez les adultes, en particulier chez les sujets âgés (plus de 20 %), mais est souvent inconnue ou même inexplorée, principalement en raison de manifestations cliniques frustrées. Néanmoins, la gravité potentielle de ses complications, en particulier neuropsychiatrique (sclérose combinée de la moelle), mais aussi hématologiques (pancytopenie, pseudomicroangiopathie thrombotique) (Andrès E. et al., 2004), invite à la rechercher systématiquement, en particulier dans toute situation suggérant une carence en vitamines ou une déficience nutritionnelle. L'apparition d'un infarctus cérébral au cours de cette affection a été rarement signalée. Nous rapportons le cas d'un homme de 50 ans présentant un accident vasculaire cérébral ischémique sylvien gauche. Nous avons constaté que la seule anomalie était une hypovitaminose B12 et une hyperhomocystéinémie. Cela s'est produit dans le cadre d'une maladie de Biermer par ailleurs asymptomatique.

CAS CLINIQUE

Un homme de 50 ans sans antécédents pathologiques particuliers, droitier, avait présenté une hémiparésie droite et une dysarthrie d'installation brutale sans contexte particulier. Le scanner cérébral avait montré un infarctus sylvien superficiel gauche (figure 1). L'exploration cardiaque (Holter Electrocardiogramme, Mesure Ambulatoire de la Pression Artérielle, Echodoppler cardiaque) était aussi bien normale que l'Echodoppler des troncs supra-aortiques et des membres inférieurs. L'exploration biologique n'avait révélé aucune anomalie métabolique, inflammatoire et/ou infectieuse ni de la crasse sanguine. Le bilan de la thrombophilie (antithrombine 3, protéines C et S) est normal. La mutation des facteurs II et V de Leiden et le test de résistance à la protéine C activée n'étaient pas réalisées. La numération formule sanguine avait montré un taux d'hémoglobine de 10 g/dL, un volume globulaire moyen de 107,8 fL (80-95), un taux de réticulocytes de 0,6 %, un taux de vitamine B12 de 72 pmol/L (145-569) et un taux d'homocystéine à 80 µmol/L (norme 5-15). La fibroscopie oeso-gastro-duodénale avait montré une gastrite fundique atrophique. Le bilan auto-immun avait montré des anticorps anti-nucléaires négatifs, des anticorps anti cellules pariétales à 40 (Normal <20), des anticorps anti facteurs intrinsèques à 28,67 (Normal <1,2). Le diagnostic d'accident vasculaire cérébral

ischémique révélant une maladie de Biermer avait été ainsi retenu. Sous traitement par de la vitamine B12 injectable (1000 microgrammes/4 mL) en raison d'une ampoule par jour intramusculaire pendant une semaine, puis une ampoule par semaine pendant un mois, puis une ampoule par mois en continu, l'évolution est favorable avec une récupération complète du déficit moteur et disparition de la dysarthrie après 11 mois de traitement. Le bilan biologique de contrôle avait montré un taux de vitamine B12 à 195 pmol/L et un taux d'homocystéine à 14 µmol/L.

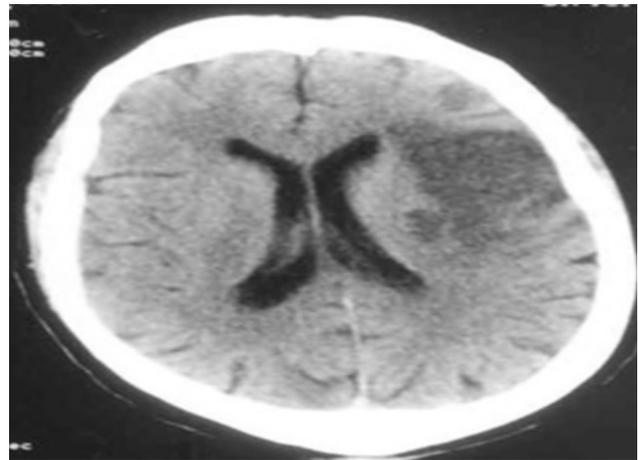


Figure 1 : scanner cérébral, coupe axiale: infarctus sylvien superficiel gauche.

DISCUSSION

La maladie de Biermer est une maladie auto-immune avec une gastrite chronique atrophique et avec une présence d'anticorps anti facteurs intrinsèques et anti cellules pariétales. Cela entraîne une carence en vitamine B12 par une mauvaise absorption. Cette carence en vitamine B12 serait responsable de l'hyperhomocystéinémie qui augmenterait le risque cardiovasculaire par un mécanisme athéromatose. L'homocystéine est un acide aminé contenant du soufre qui résulte du métabolisme de la méthionine. Trois enzymes principales sont impliquées dans le métabolisme de la méthionine. Ce sont la cystathionine synthétase, la méthylène tétrahydrofolate réductase et la méthionine synthétase et trois vitamines: B6, B12 et B9. L'origine de l'hyperhomocystéinémie peut être génétique (le plus souvent sur un variant thermolabile de la méthylène tétrahydrofolate réductase) ou acquise: dans ce cas, elle est le plus souvent attribuée aux carences nutritionnelles (carence en vitamine B12, vitamine B9 et vitamine B6) (Ranganath LR. et al., 2001). Les modèles animaux

montrent une diminution de la biodisponibilité de l'oxyde nitrique endothélial, ce qui entraîne une inhibition diminuée de l'agrégation plaquettaire et de l'adhésion aux leucocytes à l'endothélium. Il existe un dysfonctionnement endothélial avec fragmentation de la lame élastique interne, rupture des fibres élastiques et prolifération des cellules musculaires lisses. Il en résulte une athérosclérose précoce qui affecte l'aorte, les artères coronaires, les carotides et les artères périphériques. Au niveau cérébral, l'implication est celle des grands vaisseaux et des petits vaisseaux. L'hyperhomocystéinémie est également prothrombotique en interférant avec la fonction de régulation de la cellule endothéliale sur la coagulation, en augmentant l'agrégation plaquettaire, en diminuant la fibrinolyse, mais aussi en agissant sur certains facteurs de coagulation. Cela expliquerait le risque accru de thrombose veineuse, mais peut-être aussi la maladie thromboembolique artérielle (Ebbesen LS, 2004). L'apparition d'un infarctus cérébral pendant la maladie de Biermer est rare. Ainsi, dans la série de Loukili NH. et al. en 2004, seulement 2 cas d'infarctus cérébral sur 49 cas de maladie de Biermer ont été observés. Leemann B. et al. en 2006 ont également signalé le cas d'une patiente de 44 ans présentant un facteur de risque vasculaire par l'utilisation de contraceptifs oraux, qui avait un infarctus cérébral d'origine thromboembolique associé à une homocystéinémie élevée dans une anémie Biermer par ailleurs asymptomatique. Aussi, ont décrit Bougteba A. et al. en 2009 au Maroc un cas d'infarctus cérébral récurrent révélant une maladie de Biermer chez un homme de 58 ans souffrant d'hyperhomocystéinémie comme chez notre patient. L'hyperhomocystéinémie pourrait être un facteur de risque modifiable pour les maladies cardiovasculaires, indépendamment d'autres facteurs de risque, mais sa causalité directe reste controversée (Knekt P. et al., 2001). Si la supplémentation en vitamine B12, B6, B9 diminue l'homocystéinémie, l'efficacité du traitement par substitution de vitamines aux maladies cardiovasculaires n'a pas encore été démontrée, de même que son effet sur la réduction du risque de récurrence de ces accidents vasculaires. Dans ce cas, l'administration de vitamine B12 a permis au patient une récupération complète de son AVC ischémique dont l'origine est un mécanisme thromboembolique artériel par hyperhomocystéinémie.

CONCLUSION

Les déficiences neurologiques dues à la carence en vita-

-ine B12 sont polymorphes. Les étiologies sont dominées par la maladie de Biermer. La gravité potentielle de certaines complications neuropsychiatriques encourage un dosage des vitamines devant tout tableau neurologique qui ne fait pas la preuve de son mécanisme. Le traitement de substitution précoce est la seule garantie du pronostic de ces attaques. ■

RÉFÉRENCES

1. Andrès E, Loukili NH, Noel E, Kaltenbach G, Ben Abdelgheni M, Perrin AE, et al. Vitamin B12 (cobalamin) deficiency in elderly patients. *CAMJ* 2004; 171: 251-60.
2. Carmel R. Current concepts in cobalamin deficiency. *Annu Rev Med* 2000; 51: 357-75.
3. Ranganath LR, Baines M, Roberts NB. Homocysteine and thiol metabolites in vitamin B12 deficiency. *Clin Sci* 2001; 100: 111-6.
4. Hofmann MA, Lalla E, Lu Y et al. Hyperhomocysteinemia enhances vascular inflammation and accelerates atherosclerosis in a murine model. *J Clin Invest* 2001; 107: 675-83.
5. Hassan A, Hunt BJ, O'sullivan M et al. Homocysteine is a risk factor for cerebral small vessel disease, acting via endothelial dysfunction. *Brain* 2004; 127: 212-19.
6. Lentz SR. Mechanisms of homocysteine-induced atherothrombosis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2005; 3: 1646-54.
7. Eikelboom JW, Hankey GJ, Anand SS et al. Association between high homocyst(e)ine and ischemic stroke due to large- and small-artery disease but not other etiologic subtypes of ischemic stroke. *Stroke* 2000; 31: 1069-75.
8. Ebbesen LS. Hyperhomocysteinemia, thrombosis and vascular biology. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 2004; 50: 917-30.
9. Loukili NH, Noel E, Blaison G, et al. Données actuelles sur la maladie de Biermer. A propos d'une étude rétrospective de 49 observations. *Rev Med Interne* 2004; 25: 556-61.
10. Leemann B, Boughanem N, Schneider A. L'accident ischémique cérébral, une complication rare de la maladie de Biermer. *Rev Neurol* 2006; 162: 1007-10.
11. Bougteba A, Basir A, Kissani N. Infarctus cérébral récidivant révélant une maladie de Biermer. *Rev Neurol* 2009; 165: 1099-102 .
12. Kristensen B, Malm J, Torbjörn K et al. Hyperhomocysteinemia and hypofibrinolysis in young adults with ischemic stroke. *Stroke* 1999; 30: 974-80.

13. Knekt P, Reunanen A, Alfthan G, et al. Hyperhomocysteinemia: a risk factor or a consequence of coronary heart disease? Arch Intern Med 2001; 161: 1589-94.

SUMMARY

A CASE OF BIERMER'S DISEASE REVEALING BY AN ISCHEMIC STROKE AND LITERATURE REVIEW.

Introduction: Biermer's disease is an autoimmune disorder characterized by vitamin B12 deficiency. Neurological symptoms of B12 vitamin deficiency are polymorph and ischemic stroke is an uncommon complication of Biermer's disease.

Obsevation: A 50 years old male, without special medical history, consulted for right hemiparesis and dysarthria of brutal installation in no particular context. The CT scan showed a left superficial sylvian infarction. The cardiovascular balance was normal and the biological balance revealed an aregenerative macrocytic anemia associated with a B12 hypovitaminosis and an hyperhomocysteinemia occurring in the context of Biermer disease.

Conclusion: Neurological deficiencies due to vitamin B12 deficiency are polymorphic. However, it is rarely reported as a risk factor for stroke in the context of a Biermer disease.

Keywords: Stroke, Vitamin B12, Biermer's disease.

HOMMAGE



Le Professeur Hamladji Mohand-Ouali

Pionnier de la chirurgie cardiaque en Algérie

Le Pr Hamladji Mohand Ouali est né le 09 juin 1934 à Ain El-Hammam (Tizi Ouzou). Après le baccalauréat obtenu à Alger, il entama des études supérieures en France à l'école de médecine de Caen, puis à Paris où il est reçu au concours d'externat des hôpitaux de Paris en 1960. A la fin de la même année, il rejoint les rangs de l'Armée de Libération Nationale (ALN) à la frontière tunisienne. Suite à sa démobilisation militaire en 1962 à Souk Ahras, il est recruté à l'Hôpital Mustapha pacha comme externe en Médecine. Deux années plus tard, il est reçu major au premier concours d'internat des hôpitaux d'Alger. C'est au cours de ses années d'internat qu'il soutient en 1967 sa thèse de doctorat en médecine intitulée « Contribution à l'étude de la physiologie et de la pathologie de la pro-supination » sous la direction du Pr Jacques Ferrand. En 1967, il est reçu au concours d'assistant du 1er degré et part en France s'initier à la chirurgie cardiaque dans le service de chirurgie cardiovasculaire à l'hôpital Broussais à Paris dirigé par le Pr Charles Dubost et au niveau du centre d'étude des techniques chirurgicales sous l'égide du Pr Daniel Laurent. Au cours de son stage, il présente un mémoire sur « Les résultats obtenus après tentatives de conservation du cœur » suite auquel il est nommé assistant à titre étranger de l'université Broussais-Hôtel Dieu. En 1970, il est reçu au concours de maître-assistant des hôpitaux d'Alger et entame sa carrière de chirurgie thoracique et cardiovasculaire dans le service hospitalier du Pr Tedjini Haddam. En 1972, il participa dans ce même service à la première intervention à cœur ouvert sous circulation

extracorporelle (CEC) réalisée en Algérie avec l'assistance du Pr Armand Piwnica de l'hôpital Broussais. En 1972, il passe avec succès le concours d'agrégation et est nommé professeur titulaire en 1976. C'est en 1981 qu'il rejoint en tant que chef de service le service de chirurgie infantile créée par la CCHUN au niveau de la clinique médico-chirurgicale infantile de Bou Ismail où il va créer le premier service de chirurgie cardiaque infantile en Algérie. La mise en place de ce service de haut niveau a nécessité de relever des défis techniques et de gestion car la chirurgie cardiaque pédiatrique est une spécialité de haut niveau nécessitant une formation spécifique et un matériel adapté à l'enfant et au nourrisson. C'est au terme de quelques années que le service devient fonctionnel grâce à une équipe dévouée et durant 24 ans.

Il a œuvré pour que de très nombreux enfants et nourrissons porteurs de cardiopathies congénitales puissent être pris en charge en Algérie et a également organisé dans son domaine la formation de chirurgiens et de résidents. C'est en juillet 2005 qu'une décision administrative arbitraire a mis fin à ses fonctions de chef de service. Pendant ses années d'activité, il a également rédigé un ouvrage intitulé « Les principales cardiopathies congénitales et leur prise en charge chirurgicale » édité par l'OPU en 2006 qui constitue un ouvrage de référence qui restera à la disposition des chirurgiens et des résidents. Le Pr Hamladji Mohand Ouali est décédé le 10 juillet 2017 au terme d'une vie professionnelle consacrée au développement de la médecine de son pays.

Evidences – Expérience – Pertinence*

3 INDICATIONS CHEZ L'ADULTE ET LE PATIENT PÉDIATRIQUE ¹

- Traitement de la **candidose invasive chez les patients adultes ou pédiatriques.**
- Traitement de **l'aspergillose invasive chez les patients adultes ou pédiatriques** réfractaires ou intolérants à l'amphotéricine B, à des formulations lipidiques d'amphotéricine B et/ou l'itraconazole. L'état réfractaire est défini par la progression de l'infection ou par l'absence d'amélioration après un minimum de 7 jours d'un traitement antifongique efficace aux doses thérapeutiques.
- Traitement empirique des **infections fongiques présumées** (notamment à *Candida* ou *Aspergillus*) chez les patients adultes ou pédiatriques neutropéniques fébriles.

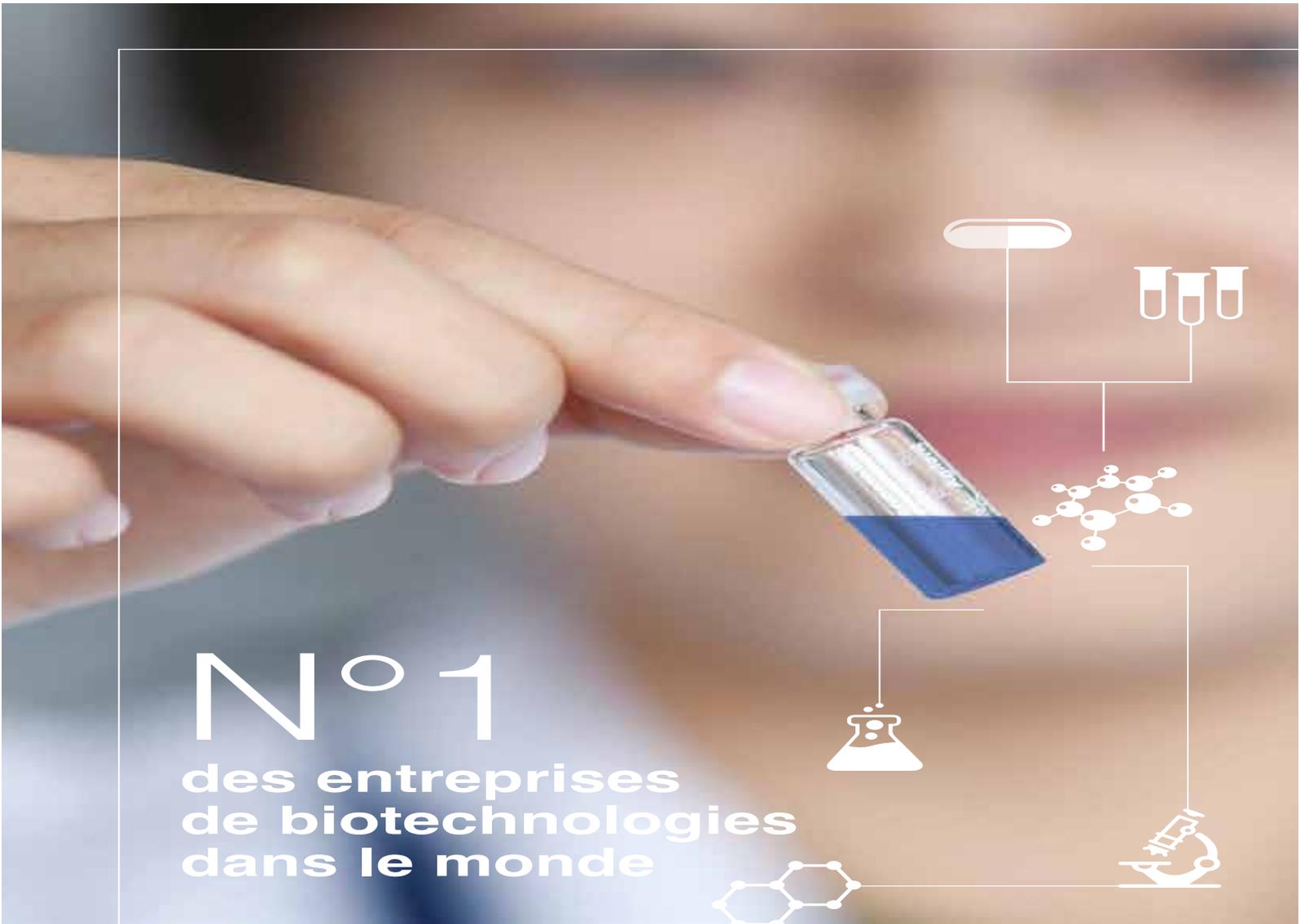
ANF-1183483-0000

Pour toute information relative au produit merci de nous contacter à l'adresse email suivante : dpoc@merck.com ou aux numéros suivants : 023 98 20 12 ou 023 98 20 00.

* Dans les indications thérapeutiques validées par l'AMM.

1. Résumé des Caractéristiques du Produit Cancidas[®].





N°1
des entreprises
de biotechnologies
dans le monde

N°1
des traitements
de cancérologie

27
millions de patients
soignés avec nos 25
médicaments les plus
vendus

94 000
collaborateurs à
travers le monde