

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة فرحات عباس، سطيف 1

كلية علوم الطبيعة والحياة

Université Ferhat Abbas Sétif 1
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE

N° /SNV2025

MEMOIRE

Présenté par

Keriem Abd Eraouf

Aoulak Yasmine

Pour l'obtention du diplôme de

Master

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : immunologie

THÈME

**Étude de la leucémie myéloïde chronique Approche
bibliographique, physiopathologique et détection du
gène de fusion BCR-ABL par PCR en temps réel**

Soutenu publiquement le : 24/06/2025

Devant le jury :

Dr	Talhi Asma	Univ Ferhat Abbas Sétif 1	Président
Dr	Benchlalal Toumia	Univ Ferhat Abbas Sétif 1	Encadrant
Dr	Meddour Nesrine	Univ Ferhat Abbas Sétif 1	Examineur

Remerciements

Tout d'abord, nous tenons à exprimer notre gratitude à Dieu, qui nous a donné la force et le courage pour surmonter toutes les difficultés et mener à bien ce modeste travail.

*Nos vifs sincères remerciements à **Dr TALHI Asma** pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider ce jury*

*Nous exprimons notre sincère gratitude à notre encadrante, **Dr BENCHALAL Toumia**, pour son honorable aide dans l'orientation de ce travail, pour sa patience, sa gentillesse et ses précieux conseils tout au long de ce travail.*

*Nous adressons nos respectueux remerciements également à **Dr MEDDOUR Nesrine** pour avoir accepté d'évaluer ce travail.*

Nous n'oublierons certainement pas de remercier tous les enseignants qui ont assuré notre formation au cours des cinq années que nous avons passées au département de biologie.

Nous leur souhaitons santé et prospérité.

DÉDICACE

Ce modeste travail est dédié spécialement

*À ma **CHERE MERE DJEFFALI Souria**, ma raison de vivre, en témoignage de ma reconnaissance pour sa patience, son amour et ses sacrifices.*

*À mon **CHER PERE Bachir**, pour son amour et son dévouement.*

"À vous, mes parents, je dis merci d'avoir fait de moi celui que je suis aujourd'hui. Aucune dédicace ne pourra exprimer mes respects, mes considérations et ma grande admiration pour vous. Puisse ce travail vous témoigne mon affection et mon profond amour".

*À tous mes chers frères et sœurs, « **Imade** » « **Ahmed** » « **Safa** » « **Marwa** » « **Bayan** », qui je sais, ma réussite est très importante à leurs yeux. Que Dieu vous garde pour moi.*

À mes chères amies, votre soutien, votre amitié et votre bienveillance ont été des piliers essentiels tout au long de ce parcours. Vos encouragements constants et vos sourires ont illuminé les moments les plus sombres et ont rendu ce voyage plus agréable.

À mes enseignants et pour ceux qui m'ont donné de l'aide un jour, que Dieu vous paye pour tous vos bienfaits.

*À mon binôme : **Aoulak Yasmine**, et sa famille*

Keriem Abd Eraouf

DÉDICACE

*Je dédie ce mémoire à ma **chère mère, Houari Meryem**, source infinie d'amour, de courage et de prières silencieuses.*

*À **mon père bien-aimé, Aoulak Ali**, pour son soutien constant et ses sacrifices inestimables.*

*À ma sœur **Imène** et à mon frère **Amine**, pour leur présence rassurante et leur affection précieuse.*

*À mes amies fidèles : **Souad, Wissam, Imène, Chahra et Randa** merci pour votre amitié sincère, vos encouragements et vos moments de complicité qui ont égayé mon parcours*

Ce travail est le fruit d'un chemin partagé avec vous tous. Recevez ma profonde gratitude et mon affection

*À mon binôme : **Keriem Abd Eraouf**, et sa famille*

Aoulak Yasmine

Résumé

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est une hémopathie maligne qui se traduit par la prolifération clonale touchant la lignée granuleuse, elle est caractérisée par une anomalie cytogénétique quasi constante : le chromosome de Philadelphie. Elle représente environ 15 à 20% des leucémies de l'adulte avec une incidence variant de 1 à 1,5 cas pour 100000 personnes/an,

L'objectif de ce mémoire est d'étudier la présence de mutations du gène BCR-ABL chez des patients LMC, à l'aide de la technique de PCR en temps réel. Il s'agit d'une étude rétrospective allant du 1er janvier au 1er mai 2025 réalisée au sein du laboratoire de biologie moléculaire de l'EHS CLLC de Sétif, portant sur 34 patients suspectés d'être atteints d'une leucémie myéloïde chronique (LMC) de différents âges et de deux sexes, les prélèvements sanguins ont été analysés pour détecter les niveaux d'expression du transcrit BCR-ABL et pour identifier d'éventuelles mutations.

Les résultats de notre étude révèlent que l'âge moyen des patients était de 37 ans avec une prédominance masculine 64,7 % des patients de sexe masculin, contre 35,3 % de sexe féminin, une hyperleucocytose a été retrouvée chez 68,4 % des patients. Le taux moyen d'hémoglobine était de 9,71 g/dl avec un minimum de 5,40 g/dl et un maximum de 15,30 g/dl, un taux moyen de plaquettes de 245166,67/mm³ avec un minimum de 16000/mm³ et un maximum de 1062000/mm³, Concernant le transcrit M-BCR-ABL (p210), un total de 18 patients (52,9 %) ont présenté un résultat positif, contre 16 patients (47,1 %) avec un résultat négatif. Ce transcrit est le plus fréquemment observé dans la LMC, car il code pour la protéine chimérique p210, typiquement impliquée dans la pathogénie de cette hémopathie. Pour le transcrit m-BCR-ABL (p190), les résultats montrent une répartition parfaitement équilibrée : 17 patients (50 %) étaient positifs et 17 (50 %) négatifs. Bien que le p190 soit généralement associé à la leucémie aiguë lymphoblastique (LAL), sa présence peut être détectée dans de rares cas de LMC, souvent dans des formes atypiques ou biphénotypiques.

Ces données confirment l'importance du suivi moléculaire par PCR en temps réel dans la prise en charge des patients LMC.

Abstract

Chronic myeloid leukemia (CML) is a malignant hematologic disorder characterized by the clonal proliferation of the granulocytic lineage. It is marked by a nearly constant cytogenetic abnormality : the Philadelphia chromosome, resulting from the reciprocal translocation t(9;22) (q34;q11). CML accounts for approximately 15–20% of adult leukemias, with an incidence ranging from 1 to 1.5 cases per 100,000 individuals per year.

The aim of this study is to investigate the presence of *BCR-ABL* fusion gene transcripts in CML patients using real-time PCR (qPCR). This is a retrospective study conducted from January 1st to May 1st, 2025, at the Molecular Biology Laboratory of the EHS CLLC in Sétif. It includes 34 patients suspected of having CML, of various ages and both sexes. Blood samples were analyzed to detect *BCR-ABL* transcript expression levels and to identify possible mutations.

The results showed a mean patient age of 37 years, with a male predominance (64.7% male vs. 35.3% female). hyperleukocytosis was observed in 68.4% of patients, The average hemoglobin level was 9.71 g/dL (ranging from 5.40 to 15.30 g/dL), and the mean platelet count was 245,166.67/mm³ (ranging from 16,000 to 1,062,000/mm³).

Regarding the M-BCR-ABL (p210) transcript, 18 patients (52.9%) tested positive. This transcript is most commonly associated with CML as it encodes the p210 fusion protein, which plays a key role in the pathogenesis of the disease. As for the m-BCR-ABL (p190) transcript, an equal distribution was observed : 17 patients (50%) were positive and 17 (50%) negative. Although p190 is typically linked to acute lymphoblastic leukemia (ALL), it may be detected in rare cases of CML, particularly in atypical or biphenotypic forms.

These findings highlight the importance of molecular monitoring by real-time PCR in the diagnosis and therapeutic follow-up of CML patients.

المخلص

اللوكيميا النقوية المزمنة (CML) هي اضطراب دموي خبيث يتميز بالتكاثر النسيلي في السلالة المحببة، وتتميز بوجود شذوذ وراثي خلوي شبه دائم يُعرف بصبغي فيلادلفيا، الناتج عن الانتقال التبادلي. (t(9;22) (q34;q11). تمثل هذه اللوكيميا حوالي 15 إلى 20٪ من حالات اللوكيميا لدى البالغين، بمعدل حدوث يتراوح بين 1 و1.5 حالة لكل 100000 شخص سنوياً.

هدف هذا البحث هو دراسة وجود نسخ جينية ناتجة عن اندماج الجين *BCR-ABL* لدى مرضى اللوكيميا النقوية المزمنة، باستخدام تقنية PCR في الوقت الحقيقي. وقد أجريت هذه الدراسة الاسترجاعية من 1 يناير إلى 1 مايو 2025، في مخبر البيولوجيا الجزيئية بالمؤسسة الاستشفائية المتخصصة في السرطان (EHS CLLC) بسطيف، وشملت 34 مريضاً مشتبهاً في إصابتهم باللوكيميا النقوية المزمنة من مختلف الأعمار وكلا الجنسين. تم تحليل عينات الدم لتقييم مستويات تعبير النسخ الجينية *BCR-ABL* وللكشف عن أي طفرات محتملة.

أظهرت النتائج أن متوسط عمر المرضى كان 37 سنة، مع غلبة للذكور (64.7٪ ذكور مقابل 35.3٪ إناث). ولوحظ فرط كريات الدم البيضاء لدى 68.4٪ من المرضى. كان متوسط تركيز الهيموغلوبين 9.71 غ/دل، بحد أدنى 5.40 وحد أقصى 15.30 غ/دل، وكان متوسط عدد الصفائح الدموية 245166.67 /مم³، مع قيم تتراوح بين 16000 و1062000 /مم³.

بالنسبة للنسخة (p210) *M-BCR-ABL*، أظهر 18 مريضاً (52.9٪) نتيجة إيجابية، وهي النسخة الأكثر شيوعاً في CML، حيث تنتج بروتيناً اندماجياً (p210) يلعب دوراً مركزياً في تطور المرض. أما النسخة *m-BCR-ABL* (p190)، فقد تم الكشف عنها لدى 17 مريضاً (50٪)، رغم أنها تُلاحظ عادة في اللوكيميا اللمفاوية الحادة (ALL)، ويمكن أن تظهر في حالات نادرة من CML، خاصة الأشكال غير النمطية أو ثنائية النمط الظاهري.

تؤكد هذه المعطيات أهمية المتابعة الجزيئية باستخدام PCR في الوقت الحقيقي في التشخيص والرصد العلاجي لمرضى CML.

Table des matières

-Résumé

-Liste des abréviations

-Liste des figures

-Liste des tableaux

INTRODUCTION	1
--------------------	---

Partie Bibliographique

Chapitre I : Généralité sur LMC

1	GENERALITE SUR L'HEMATOPOÏESE	3
2	LA LEUCEMIE	4
2.1	Leucémie aiguë :	5
2.1.1	Leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) :	5
2.1.2	Leucémie aiguë myéloïde (LAM) :	5
2.2	Leucémie chronique :	5
2.2.1	Leucémie lymphoïde chronique (LLC) :	5
2.2.2	Leucémie myéloïde chronique (LMC) :	5
3	LEUCEMIE MYELOÏDE CHRONIQUE :	5
3.1	Les phases de la leucémie myéloïde chronique	6
3.1.1	Phase Chronique.....	6
3.1.2	Phase Accélérée.....	6
3.1.3	Phase Blastique (ou Crise Blastique)	7
3.2	Epidémiologie :	7
3.3	Etiologie :	8
3.4	Evolution et symptomatologie :	9

Chapitre II : Physiopathologie et biologie moléculaire de la LMC

1	CHROMOSOME PHILADELPHIE	11
2	BIOLOGIE MOLECULAIRE DU CHROMOSOME PHILADELPHIE	12
2.1	Gène ABL.....	12
2.1.1	Gène ABL et sa protéine	12
2.1.2	Régulation de c-Abl	13
2.1.3	Fonction de la protéine c-Abl	14
2.2	Gène BCR	14
2.2.1	Gène BCR et sa protéine.....	14
2.3	Gène BCR-ABL et protéine de fusion	15
2.3.1	Mécanisme de translocation (9;22).....	15
2.3.2	Les voies de signalisation activées par BCR-ABL1.....	18
2.3.3	Les altérations induites par BCR-ABL conduisent au Leucémogénèse	20

Partie Expérimentale

Chapitre I : Matériel et Méthodes

1	OBJECTIF DE L'ETUDE.....	24
2	PATIENTS	24
3	MATERIEL	24
3.1	Appareillage :	24
3.2	Matériel requis :	25
3.3	Réactifs :	26
4	METHODES	27
4.1	Recueil d'information.....	27
4.2	Modalité de prélèvement.....	27

4.3	Procédure analytique	27
4.4	Méthode analytique.....	28
4.4.1	La Transcription inverse par PCR	28
4.4.2	PCR en temps réel	29
4.5	Protocole opératoire	32
4.5.1	Protocole d'extraction d'ARNm	32
4.5.2	Reverse transcription	34
4.5.3	Détection BCR/ABL par PCR en temps réel :.....	35

Chapitre II : Résultats et Discussion

1	RESULTATS	38
1.1	Répartition selon le sexe	38
1.2	Répartition selon l'âge	39
1.3	Répartition selon l'origine.....	40
1.4	Répartition selon le Résultat M-BCR-ABL (210)	41
1.5	Répartition selon le Résultat m-BCR-ABL (190)	42
1.6	Répartition selon le taux de globules blancs	43
1.7	Répartition des patients selon le taux de plaquettes	44
1.8	Répartition des patients selon le taux d'hémoglobine.	46
2	DISCUSSION	48
2.1	Etude démographique :.....	48
2.2	Résultat de recherche de transcrit BCR-ABL :	49
2.3	Bilan biologique	49
2.4	Limite des études :	50
	CONCLUSION.....	52