

STH, Octobre 2003

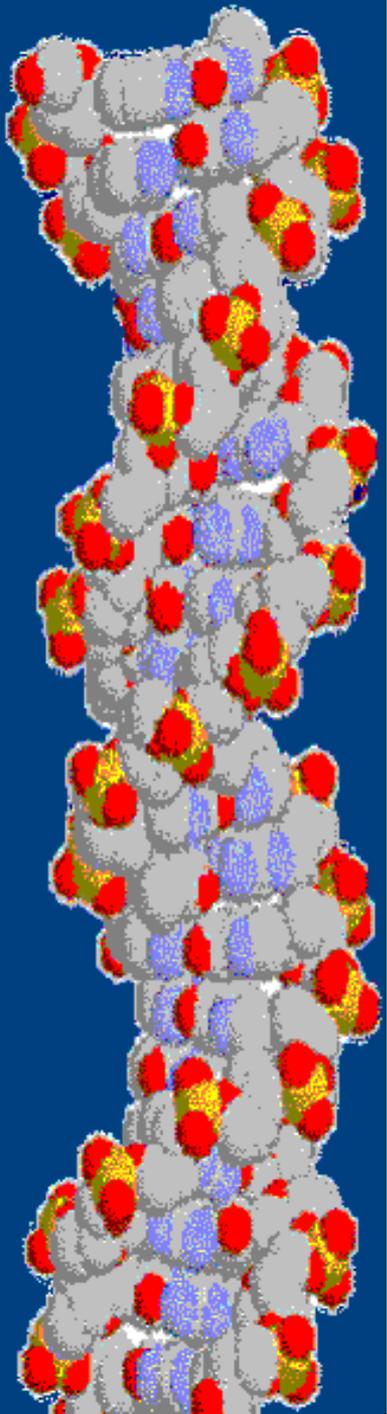
EVALUATION DE LA REPONSE
MOLECULAIRE DANS LES LMC
TRAITEES PAR LE GLIVEC

Dr MENIF-MARRAKCHI SAMIA

Unité de Diagnostic Moléculaire des Leucémies
Laboratoire d'Hématologie

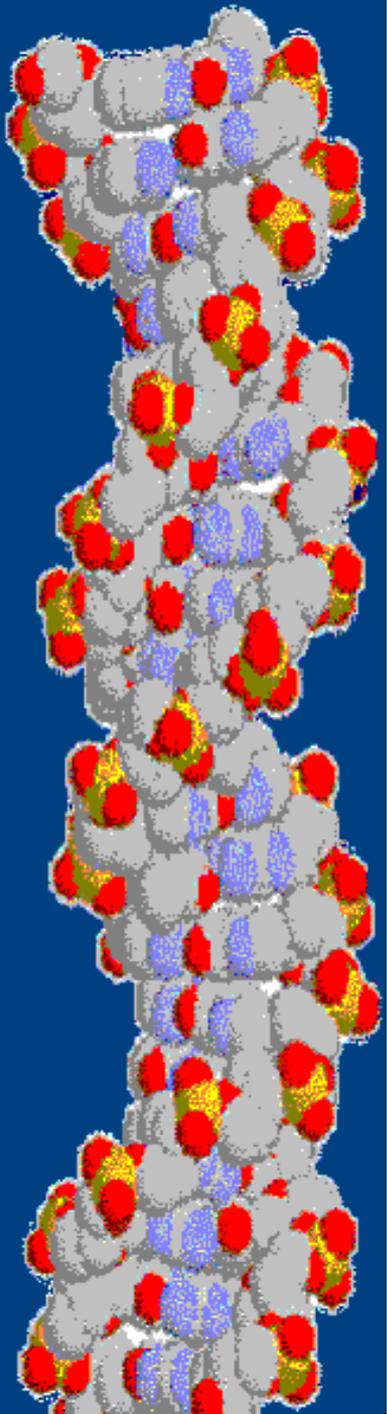
Institut Pasteur de Tunis

samia.menif@rns.tn

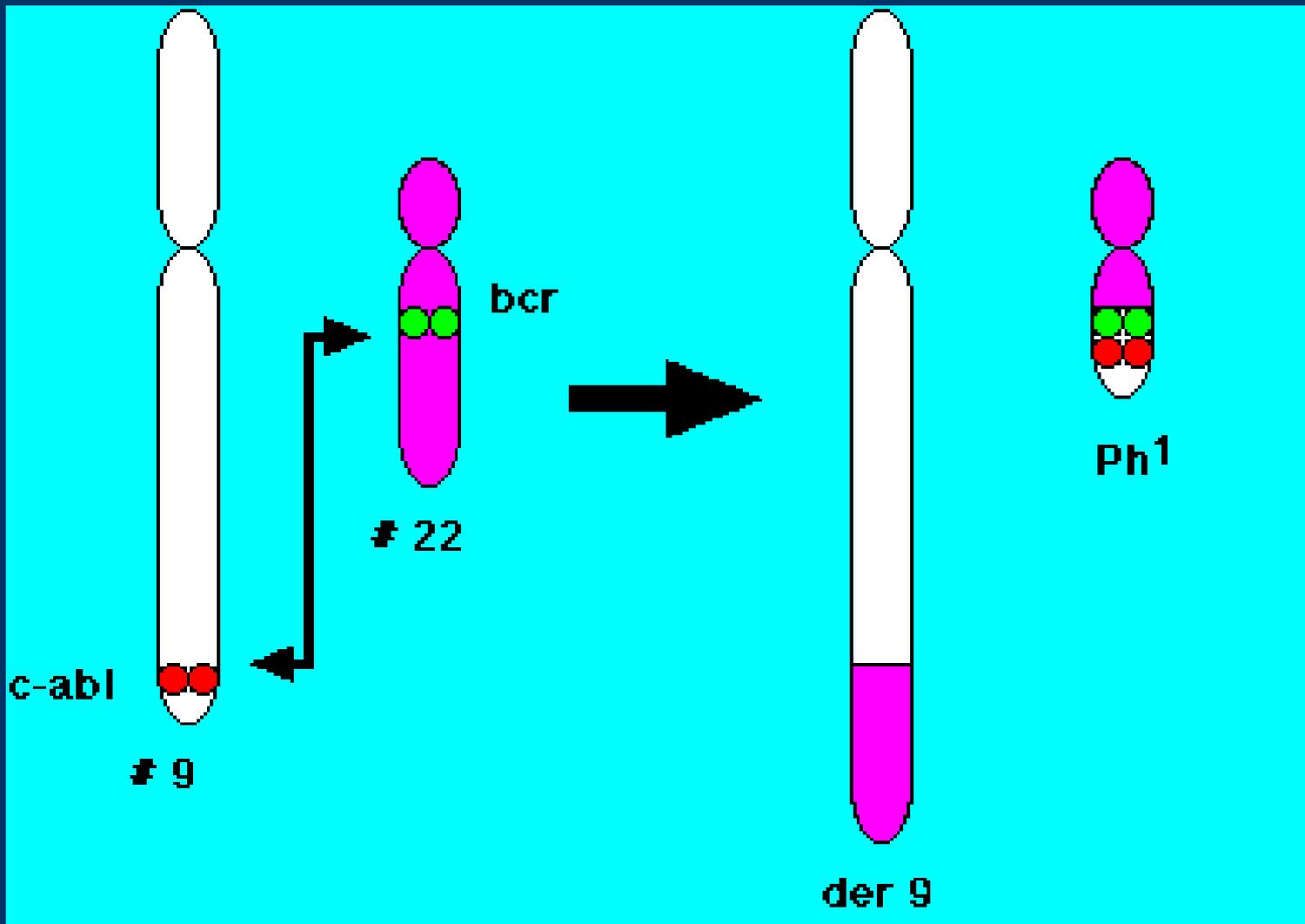
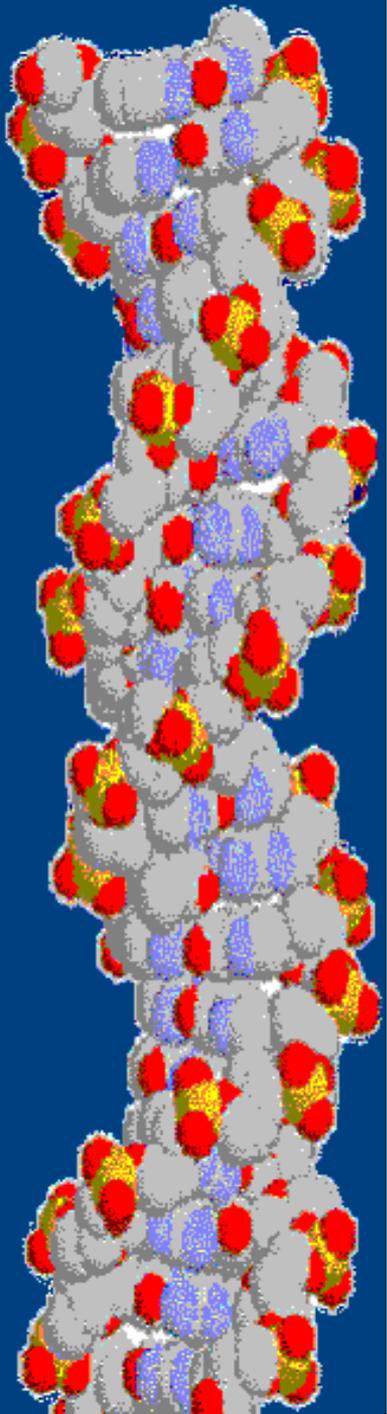


Introduction

- Chromosome Philadelphie: en 1960
- Interprétée initialement comme del(22)
- $t(9;22)(q34;q11)$

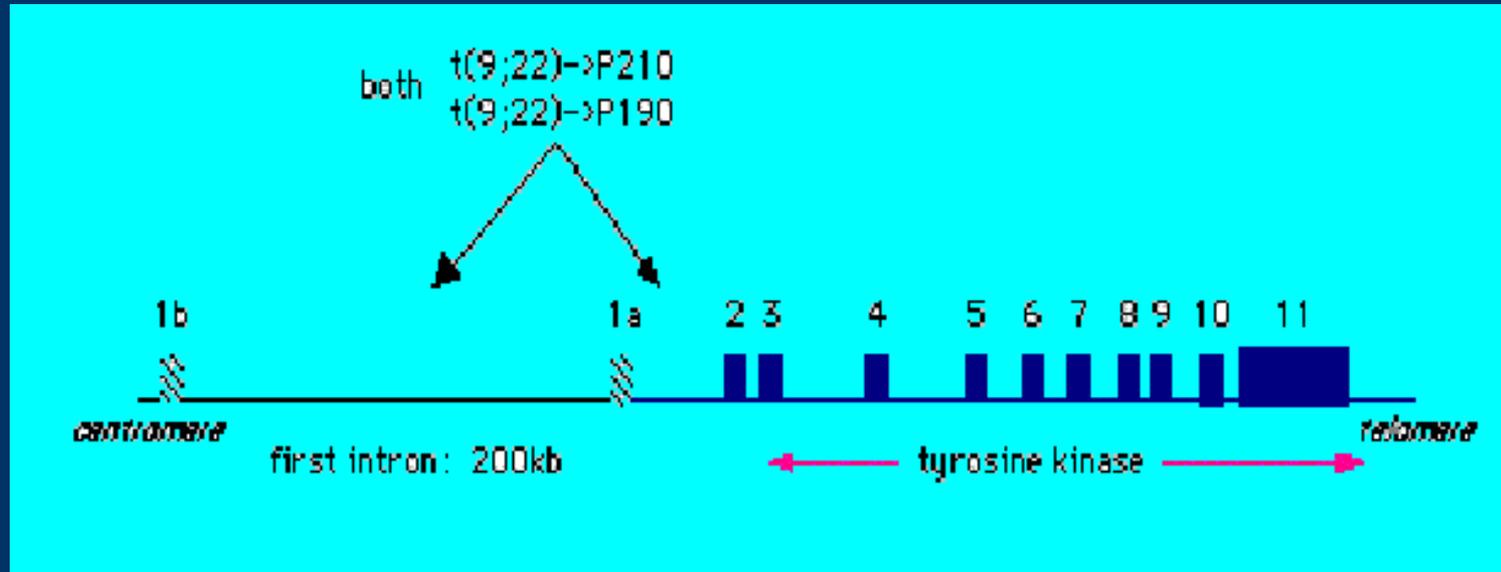


Translocation (9;22)



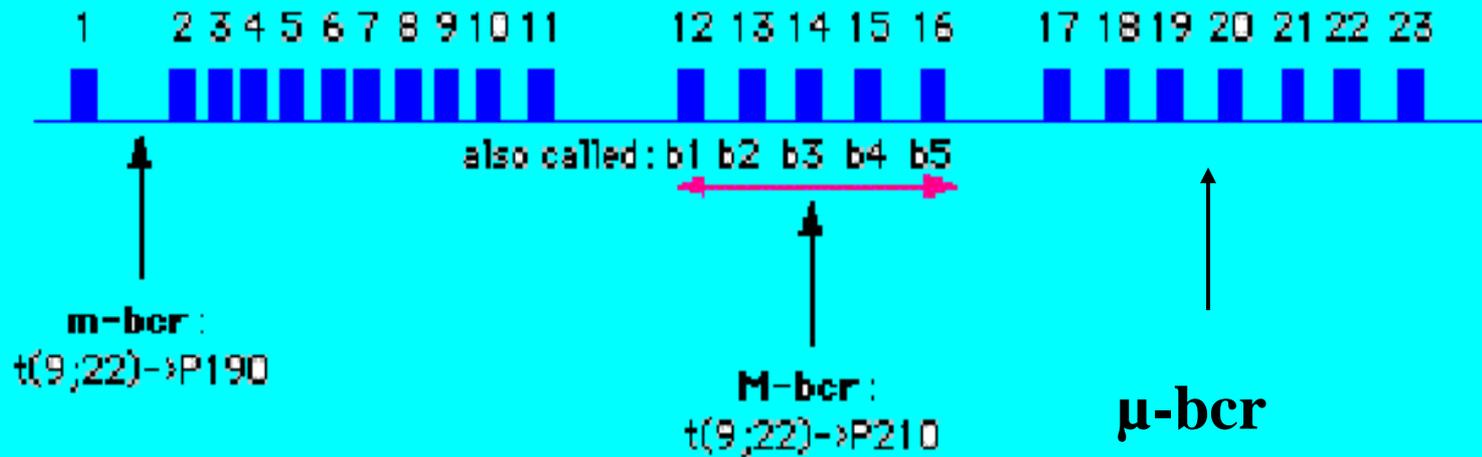
Gène *abl*

- 230 Kb
- 2 exons alternatifs



Gène bcr

- 135 KB
- 23 exons



- e14 a2 dans 60 % des cas
- e13a2 dans 30 % des cas
- e14a2/e13a2 dans 5 à 10 % des cas
- e13a3 ,e14a3 ,e1a3,e6a2 et e2a2 (plus rares)

Deux gènes chimériques

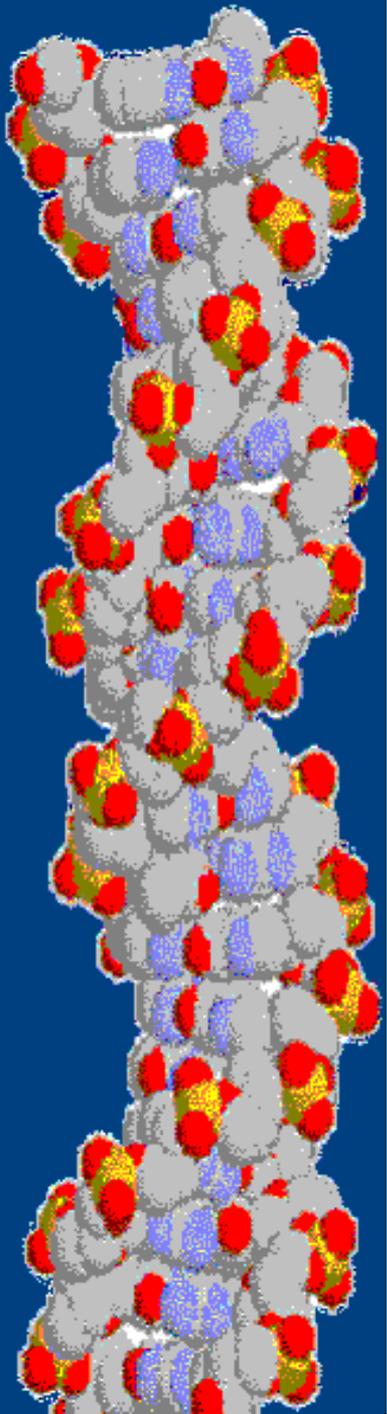
- Abl-bcr ?

- Bcr-abl:

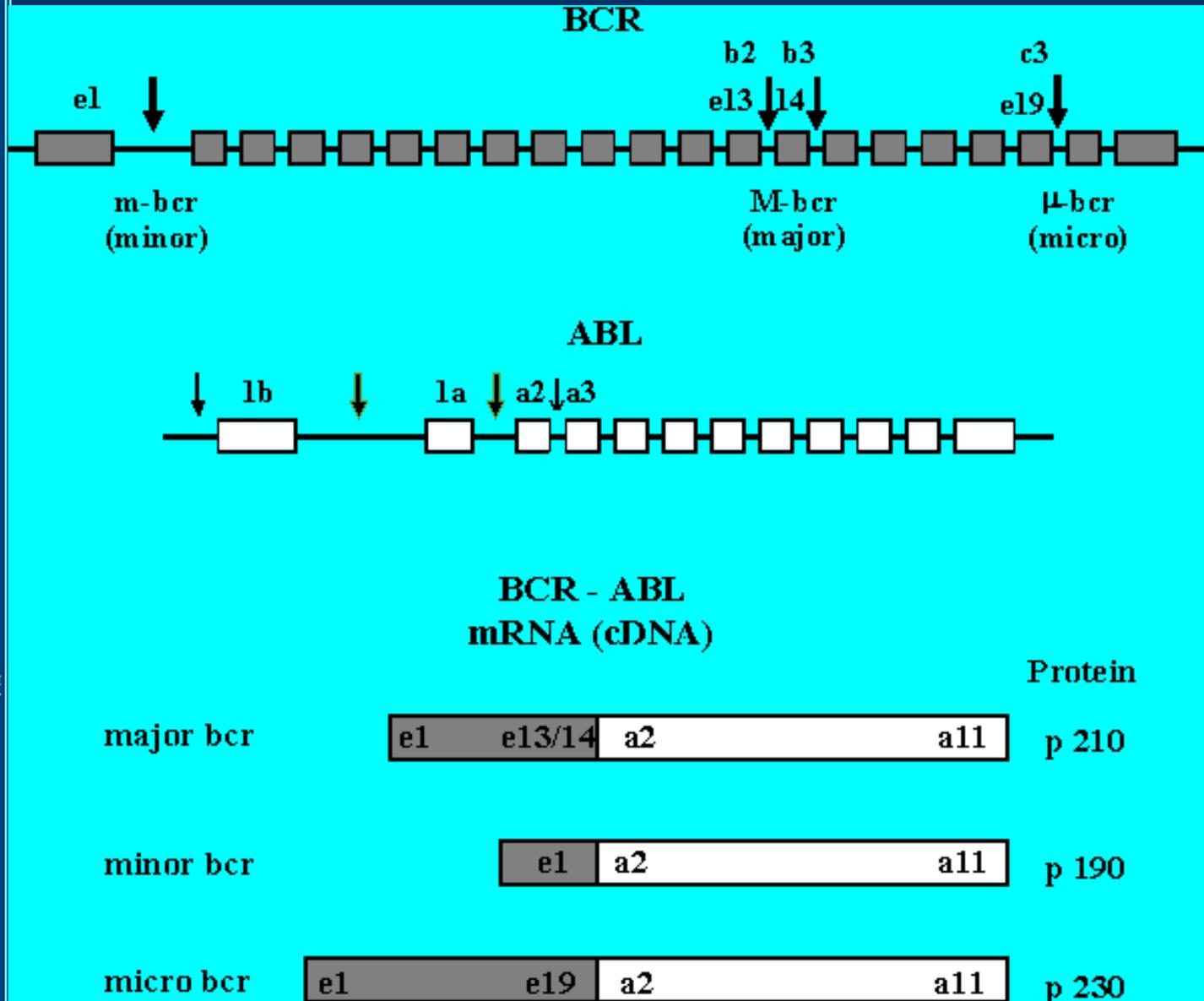
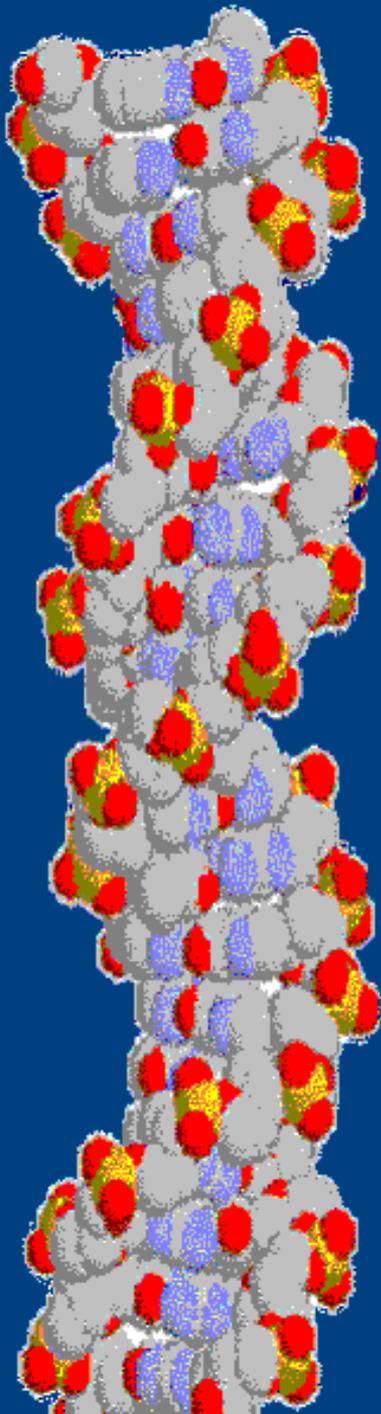
oncoprotéine

tyrosine kinase dérégulée

transformation maligne

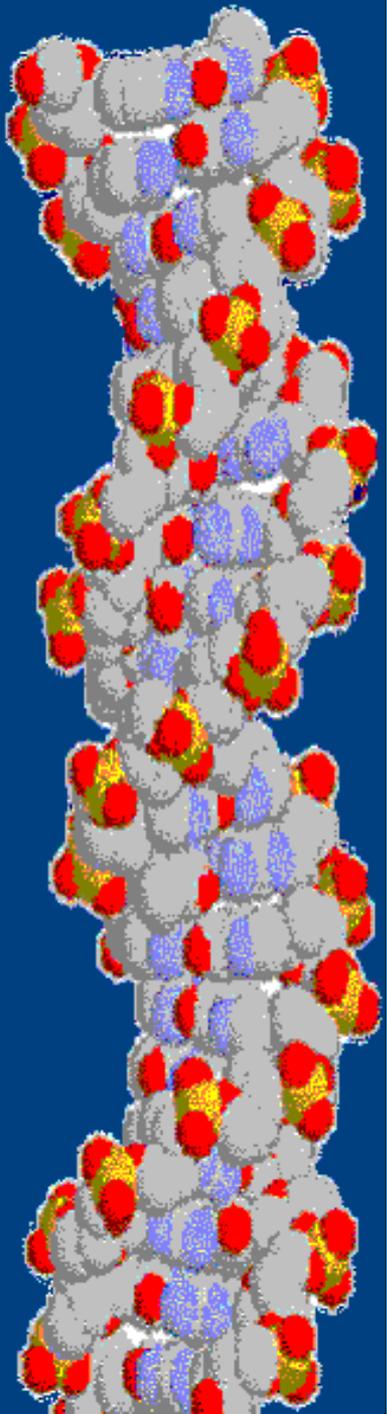


Plusieurs protéines bcr-abl

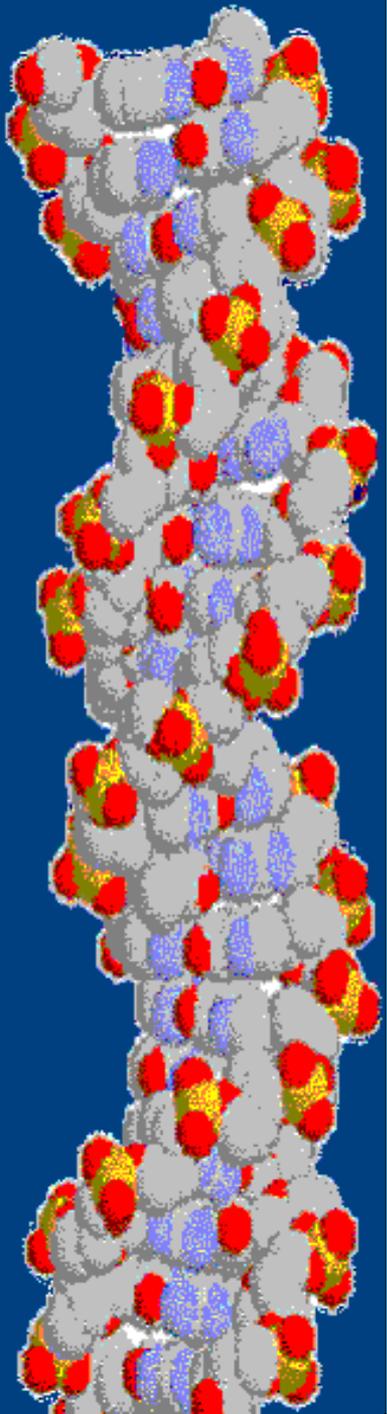


Étude de la maladie résiduelle

- Cytologie
- Cytogénétique
- Biologie moléculaire

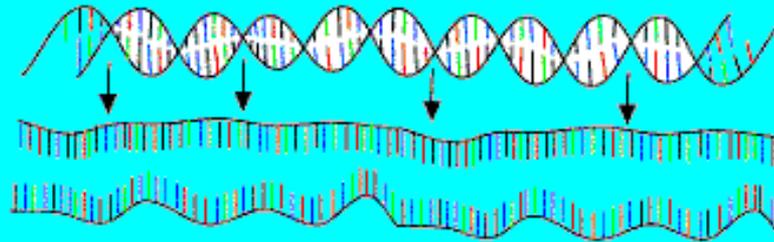


PCR



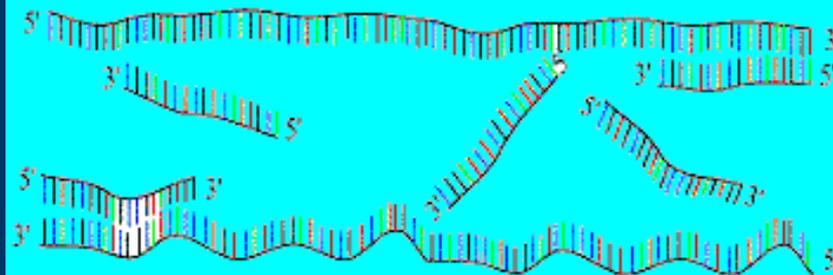
PCR : Polymerase Chain Reaction

30 - 40 cycles of 3 steps :



Step 1 : denaturation

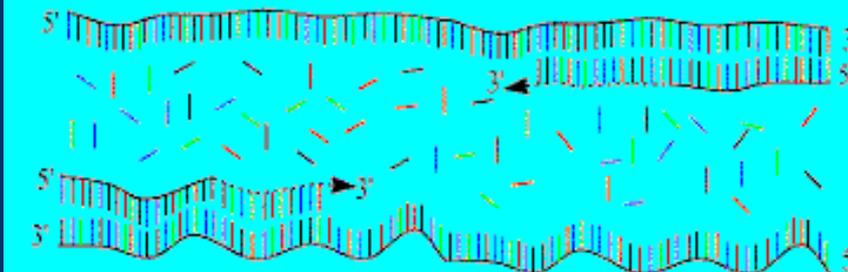
1 minut 94 °C



Step 2 : annealing

45 seconds 54 °C

forward and reverse primers !!!



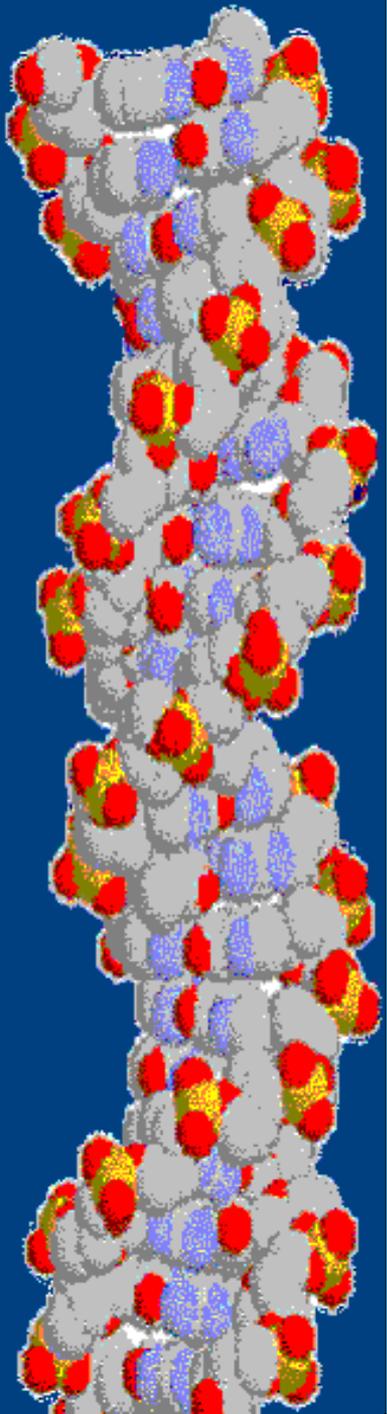
Step 3 : extension

2 minutes 72 °C

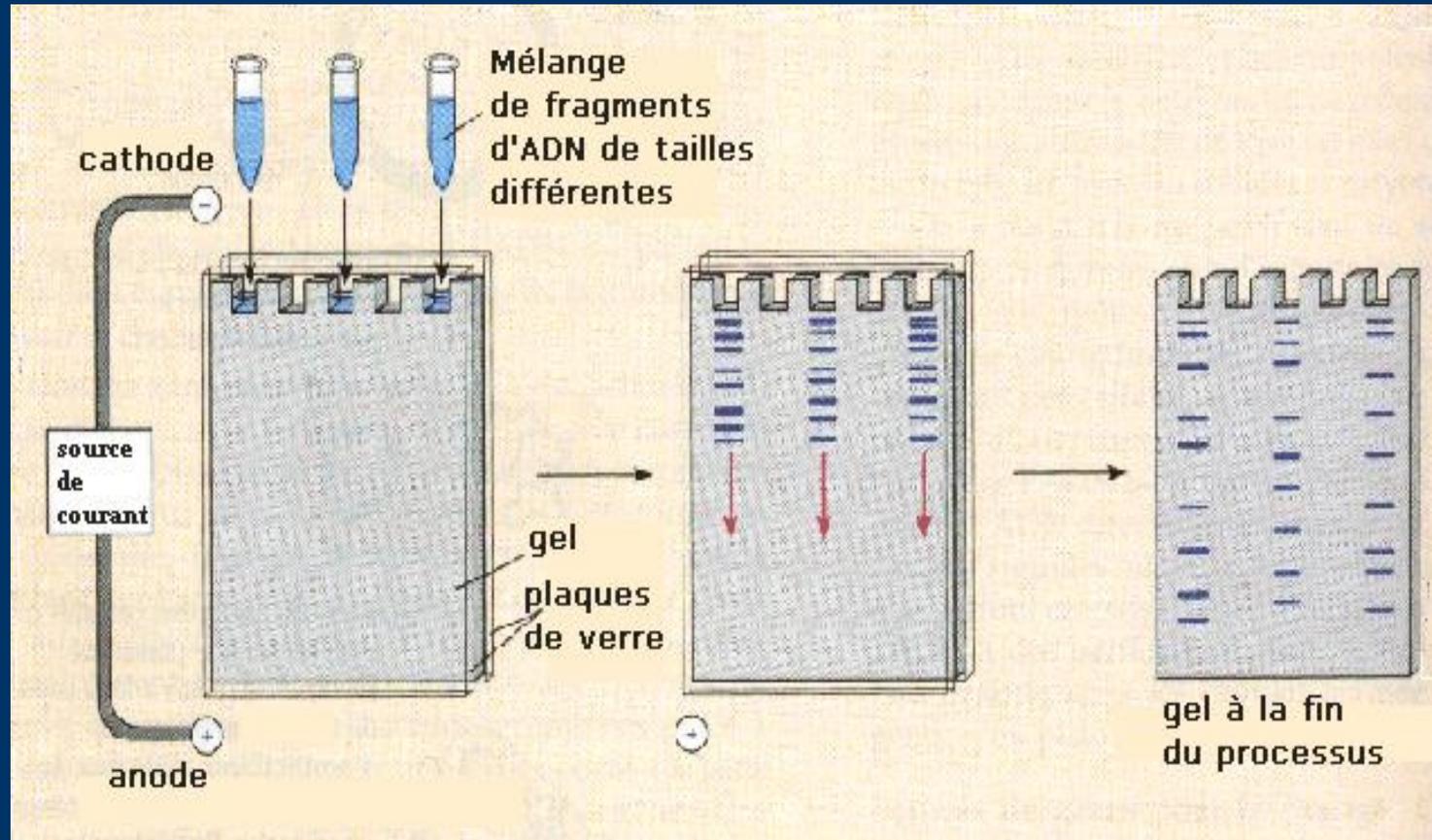
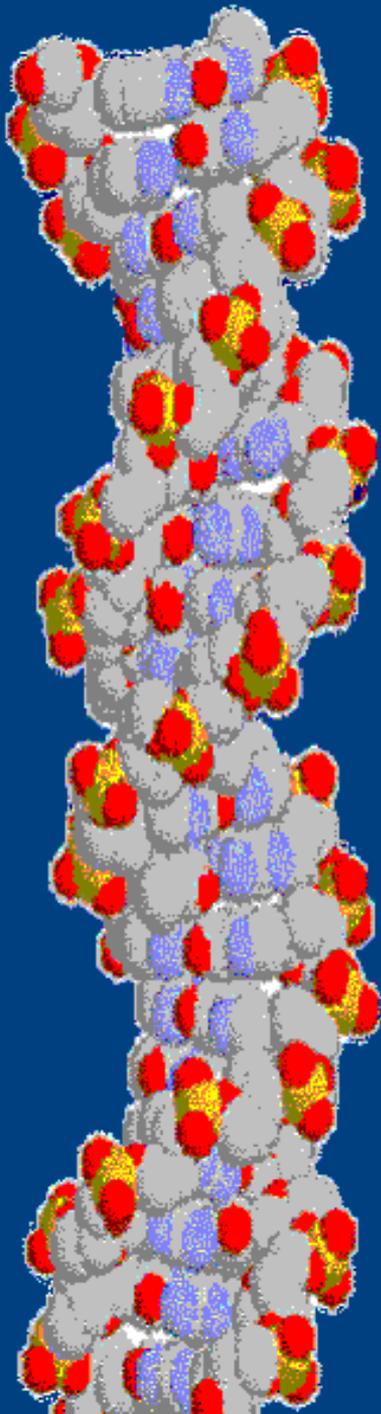
only dNTP's

Techniques d'exploration

- Extraction d'ARN
- RT \Rightarrow cDNA
- PCR
- Électrophorèse
- Hybridation spécifique



Électrophorèse



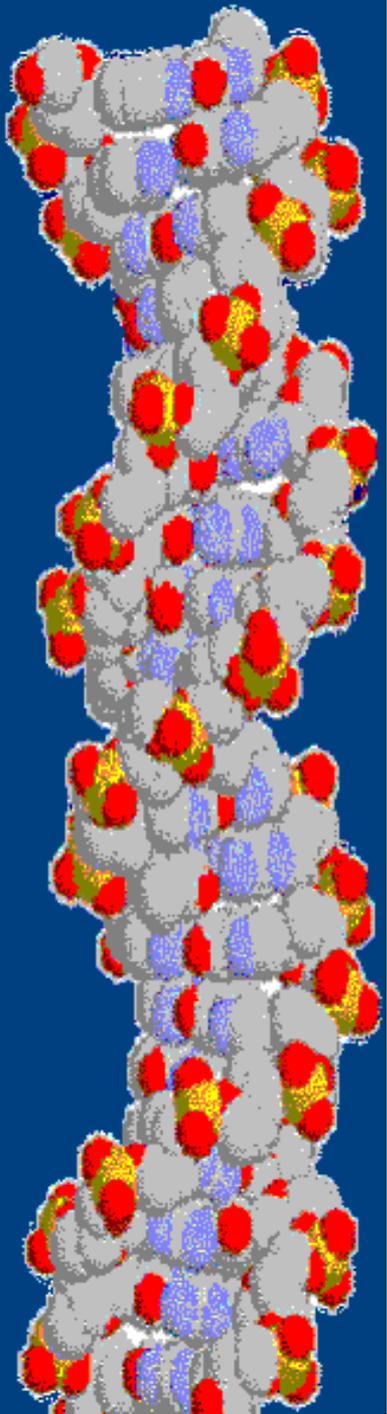
La PCR Qualitative

Intéressante:

- Ne nécessite pas de pvt médullaire
- Permet de s'affranchir des contraintes d'une culture préalable
- Plus sensible que la cytogénétique

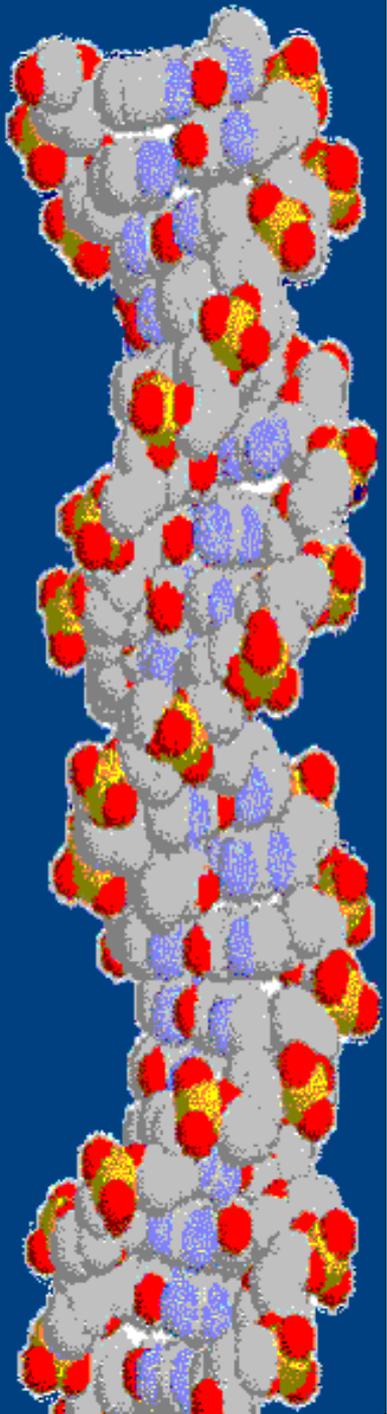
Insuffisante:

- Ne permet pas de suivre la cinétique du clone résiduel
- Non discriminative en cas de rémission cytogénétique
- Ne permet pas de faire d'anticipation pronostique



La PCR Quantitative (1)

- PCR compétitive:
 - Lourde à mettre au point
 - Peu reproductible
- PCR en temps réel:
 - Simple
 - Automatisable
 - Reproductible
 - Très sensible



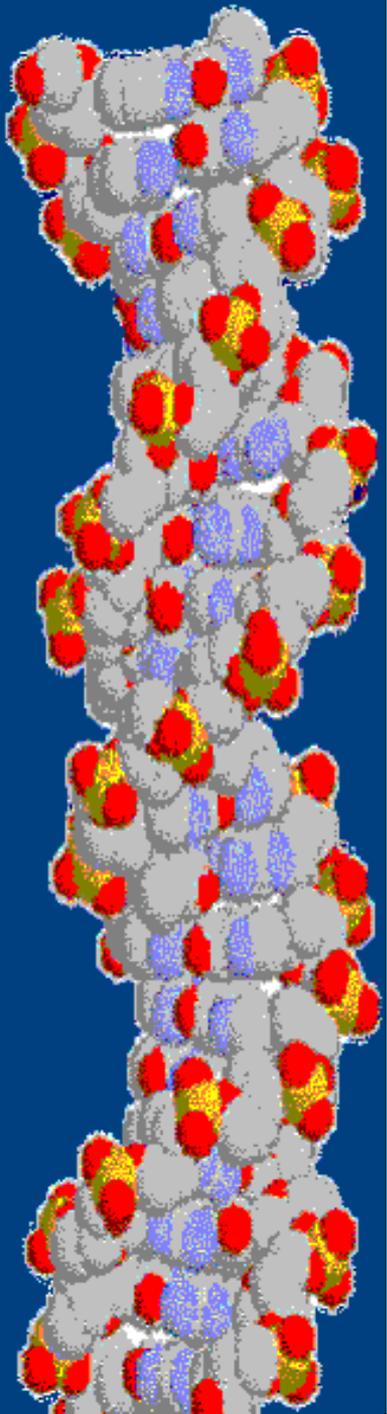
La PCR Quantitative (2)

Permet le suivi de la cinétique du clone tumoral résiduel



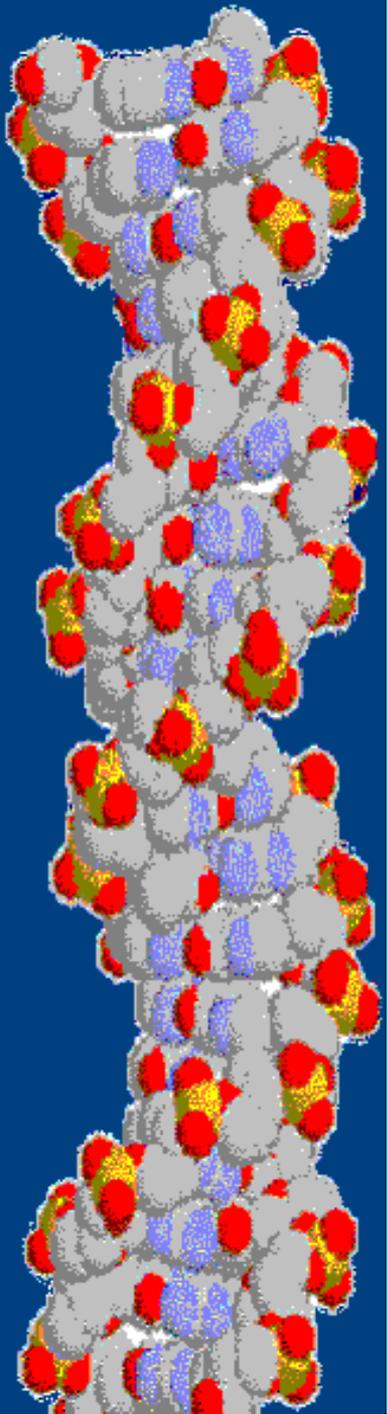
Taux bcr-abl constant ou décroissant
⇒ bon pronostic

Taux de bcr-abl croissant
⇒ mauvais pronostic



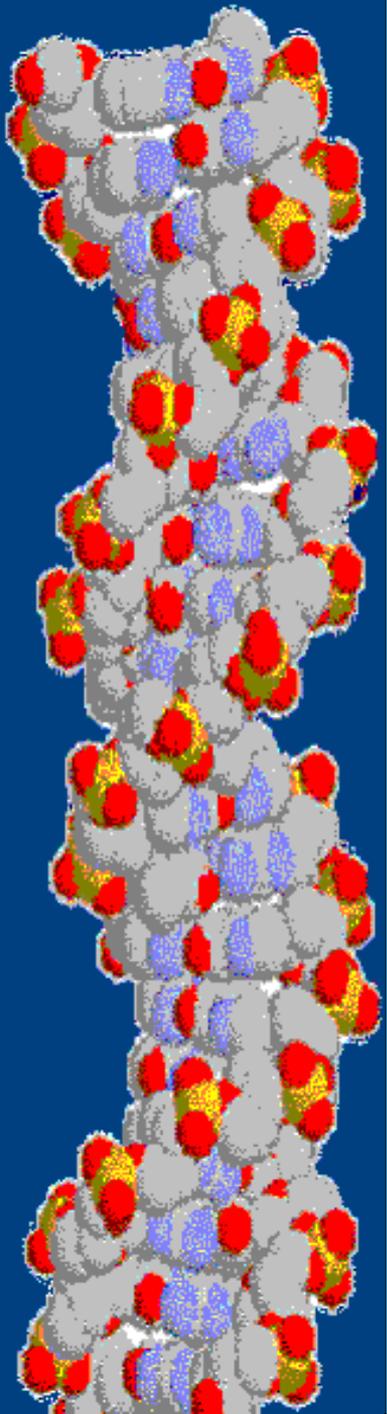
GLIVEC

- Rémission cytogénétique: oui
- Rémission moléculaire ?



Nos malades

- 12 prélèvements de patients suivis pour LMC
- Aucun n'est négatif en RT-PCR qualitative



Conclusion

- Que signifie les niveaux très faibles de détection moléculaire ?
- Peut-on parler de rémission moléculaire complète ?
- L'éradication du clone malin est-elle possible ?

