République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministèrede1'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique

Université Dr. Yahia Farès de Médéa Faculté des Sciences

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

Spécialité :Biologie et Pathologie Cellulaire

Le Thème:

Synthèse Bibliographique Sur le Profil d'Expression des miRNA dans les leucémie myéloïde chronique

Présenté par : M^elle Sara SAKHRI M^elle Hiba KHALA

Devant le jury composé de:

M^eme ABES.R	MCA	Université de MédéaPromotrice
M^eme ZAGHLOUL.N	MAA	Université de MédéaCo-Promotrice
Mr. SALHI .O	MCA	Université de MédéaCo-Promoteur

AnnéeUniversitaire20212022

Remerciements

Ce mémoire est le fruit des efforts fournis et des sacrifices consentis par plusieurs personnes que je ne pourrai oublier de remercie.

Mes remerciements s'adressent d'abord à dieu le tout puissant de nous avoir donner la santé et la volonté d’entamer et déterminer ce mémoire.

Nous remercions infiniment notre promotrice Mme ABES.R de nous avoir guidé dans la l’élaboration de ce travail.

Nous remercions également et vivement les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce rapport.

Dédicaces

A la mémoire de mon très cher père, aucune dédicace ne saurait exprimer mon amour, ma profonde gratitude, mon dévouement, mon respect, ma reconnaissance,envers mon papa rien au monde ne vaut les sacrifices et les efforts fournis jour et nuit pour mon bien être et mon instruction.

A ma très chère mère merci d'avoir toujours été présente pour moi, pour tes sacrifices consentis. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

A mon mari Abd EL Waheb pour Aucune dédicace ne pourrait exprimermon amour et mon attachement à toi, merci pour tous les conseils ,pour tous les encouragements et pour tous les incommensurables sacrifices consentis pour toute ma formation.

A toutes mes amies et surtout Samira, Zineb, et ma meilleur Nassima pour tous les encouragements.

A mes frères et mes sœurs, merci pour tous les conseils, un dédicace spécial à mes frères Oussama et Aymen ,merci infiniment pour l'aide à côté technique.

Sara

Dédicaces

A mon soleil et ma lune, à ceux qui ont été la soutien et sont encore le mur sur lequel je m'appuie, ma mère *Nadjia* et mon père*Abd- el kader* tout mon amour etmes priéres pour vous deux.

Je prie Dieu de m'aider à sceller le Saint Coran et d'avoir l'honneur de placer la couronne de dignité pour vous deux.

A ma bougie et mon cher fils qui n'est pas nè de mon ventre, mais mon cœur batdans ses veines avec sons ang Abdul-Raouf.

A ma deuxième mère , qui m'a éclaire sur lle chemin dès mon plus jeune age , en particulier Hadjire, Khadidja, Soumia, Nesrin, et fathia . et principalement Samira .

AmesépaulesdanslavieetmondosfermemesfrèresAbdel-nouretAbdel-basset je vous souhaite à la fois succés et prospérite , en particulier Mouhamed

,Khaled, Fathi,Fares et Houssem

Je n'oublierai pas qui sera mon lien, ma vie,et mon amour et ma seconde moitié.

Amon cher mari Radhwane, je luis ou haite santé et bien–être

.Et à tous mes amis.

Hiba

SOMMAIRE

Introduction 1

Chapitre1:Système hématopoïétique

1-Le système hématopoïétique 3

1-1Les cellules souches hématopoïétiques 3

2-L'hématopoïèse 6

2-1Définition 6

2-2Lesprécurseursdescellulessanguines de la moelle osseuse 6

2-2-1-Les précurseurs de la lignée myéloïde :CFU-GEMM 6

2-2-2-Les précurseurs de la lignée lymphoïde :CFU-L7 6

Chapitre2:Leucémie Myéloïde chronique

1-Cancer et leucémies 7

1-1-Le cancer 7

2-1-Le leucémie 7

2-Leucemie myloide chronique 10

3-Épidémiologie 11

4-Étiologie 11

4-1Diagnostic 11

4-2Hémogramme 11

4-3Myélogramme 12

4-4Biopsieostéomédullaire 12

4-5Examens nécessaires au diagnostic 12

5-Traitements.....13

5-1Thérapeutiqueciblée.....13

5-2Laréponse hématologique.....13

5-3Laréponse cytogénétique.....14

CHAPITRE3:Micro ARN

Les micro ARN.....15

1-Définition.....15

2-Biogenèse de micro ARN.....15

2-1-.Transcription des microARN.....16

a. Organisation génique.....16

2-2-.Maturation des transcrits des microARN.....19

Maturation nucléaire.....19

Export des précurseurs du noyau vers le cytoplasme.....19

a- Maturation cytoplasmique.....21

3-Mécanisme d'action.....21

4-MicroARN et cancers.....22

-.DUSCUSSION.....23

-Conclusion et perspectives.....29

LISTE DES ABREVIATIONS

ABL:	Abelson.
ADN:	Acide Désoxyribonucléique
ARN:	Acide ribonucléique
ARNm :	ARN message
ARN polyII:	ARNpolymérase de type2
ARN polyIII:	ARN polymérase de type
3ATP:	Adénine Triphosphate.
BCR:	Break point cluster region
BCR-ABL:	Break point cluster region-Abelson
CD:	Cluster of differentiation
CSH:	Cellule souche hématopoïétique
CSM:	Cellules ou che mésenchymateuse
CFU-L:	Colony for mingunites–
CFU-GEMM:	Granuleux,érythroide,monocyte/macrophagemégacaryocyte
CpG:	Dinucléotides cytosine–guanine
DNMTs:	ADNméthyltransférase
EDTA:	Ethylène diaminetétra-acétique
GM-CSF:	Granulocyte macrophage colony–stimulation factor
IG:	Immunoglobulines
IGM:	Immunoglobulines M
ITK:	Inhibiteur de tyrosine kinase
LB:	Lymphocyte B
LMC:	Leucémie myéloïde chronique
LT:	Lymphocyte T
MHC :	Complexe majeur d'histocompatibilité
miR:	microARN
miRT:	micro RNA reserve transcription

RISC	microRNA-induced silencing complex
NFS:	Numération –formule sanguine
PTM:	Modificationpost-traductionnelle
RISC:	RNA induced silencing complex
RT-PCR:	Reverse Trauscriptase polymerase chainraction
TFIIB:	Facteur de transcription IIB
TRBP:	TARDNAbinding protein
XPOR:	Exportine

INDEX DE FIGURES

Figure1:Représentation schématique de la niche hématopoïétique..... 4
Figure2: filiation proposée pour les différentes populations de cellules présentes dans la moelle osseuse 5
Figure3.Représentation schématique des principale étapes cibles des facteurs de l'hématopoïès.7..
Figure4:Représentation schématique del'hématopoïèse normale et leucémique..... 10
Figure5 :Représentations chématique des pri-miRNA monocistroniques polycistroniques La transcription des Gènes des micro ARN, effectuée dans la plupart des cas par l'ARN polymérase de type II, permet la production D'un transcrit primaire (pri-miRNA ou pri-miR)qui peut être monocistronique (a)ou polycistronique(b)lorsqu'il est à l'origine de plusieurs micro ARN, en général homologues car résultant de duplicationsgéniques..... 17
Figure6:Représentations chématique de la biogenèse des microARN 18
Figure7:La formation du complexe RISC
a. Représentation schématique des domaines des trois protéines essentielles à lacomposition du complexeRISC.
b. .Clivage du pre-miR par Dicer et recrutement du duplex micro ARN -micro ARN* par la protéine Agodansle complexeRISC..... 20

INDEX DES TABLEAUX

Tableau1:les différents cellules souches hématopoïétiques et mésenchymateuses 3
Tableau2:les grandes étapes de l'hématopoïèse 6
Tableau3:les différentes méthodes diagnostique du LMC 13
Tableau4:Liste non exhaustives des microARN sur exprimés et sous exprimés dans la LMC ... 22

Résume

L’hématopoïèse est le processus physiologique qui assure le renouvellement continu de toutes les cellules sanguines. Le maintien de l’homéostasie des cellules sanguines faitinter venirdes étapes de prolifération ,de différenciation et demort cellulaire. L’homéostasie de l’hématopoïèse fait intervenir des microARN (miARN) qui constituent une classe de petits ARN non codants, issus de transcrits cellulaires, Les miARN, pouvant contrôler de nombreux processus cellulaires majeurs. Au cours du cancer et des hémopathies malignes, une dérégulation de l’expression de ces miARN est observée.

Ce mémoire est une recherche bibliographique sur le profil d’expression des miARN dans la leucémie myéloïde chronique (LMC), nous faisons ainsi le point sur les miARN sous exprimés (ex : (miR-150, miR-10a, miR-29a/b...) et surexprimés (ex : mir-17-92,miR-21 et miR-155, miR-125, miR-196B, miR-145 et miR-451, miR-142-3p...)
dans lesLMC toute en discutant les mécanismes moléculaires qui peuvent être à l’origine de cette dérégulation.

Mots clés : hématopoïèse,cancer,LMC,miARN, dérégulation.

Abstract

Hematopoiesis is the physiological process that ensures the continuous renewal ofall blood cells. Maintaining blood cell homeostasis involves the steps of proliferation,differentiation, and cell death. Hematopoiesis homeostasis involves a class of smallnon-codingRNAs derived from cell transcripts calle dmicroRNAs(miRNAs).

MiRNAs are key regulators of various fundamental biological processes.Manystudys on chronic myeloid leukemia cells (CML), show that several miRNAs can beunder-expressed (e.g.: miR-150, miR-10a, miR-29a/b...) or overexpressed (e.g. mir-17-92,miR-21andmiR-155,miR-125,miR-196B,miR-145andmiR-451,miR-142-3p...).

Aimingto provide acriticalove rviewo fmiRNAdys regulationin cancer,this manuscript reviews the growing number of studies that have shown the importance ofthese small molecules and how these microRNAs can affect or be affected by geneticand epigenetic mechanisms.

Keywords:hematopoiesis,cancer,CML,miRNA,dysregulation

ملخص

تكون الدم هو العملية الفسيولوجية التي تضمن التجديد المستمر لجميع خلايا الدم ينطوي الحفاظ على توازن خلايا الدم على مراحل من انتشار الخلايا والتمايز والوفاة. يتضمن توازن تكون الدم الحمض النووي الريبي الميكروي (miRNA) الذي هو فئة من الحمض النووي الريبي الصغير غير المشفر، المشتق من نسخ الخلايا، miRNA، التي يمكنها التحكم في العديد من العمليات الخلوية الرئيسية. أثناء السرطان والأورام الخبيثة الدموية، لوحظ تحرير التعبير عن هذه miRNA هذه الأطروحة عبارة عن بحث ببليوغرافي حول ملف تعريف التعبير عن miRNA في سرطان الدم النخاعي المزمن (CML)، وبالتالي فإننا نقيم الحمض النووي الريبوزي المرسال غير المعبر عنه) على سبيل المثال (miR-10a، miR-150، miR-29a/b(...، والمبالغة في التعبير عنه) مثل mir-17-92 و miR-21 و miR-155 و miR-125 و miR-196B و miR-145 و miR-451 و...) miR-1 و miR-42-3p في CML أثناء مناقشة الآليات الجزيئية التي قد تكون في أصل هذا التحرر.

الكلمات المفتاحية: تكون الدم، السرطان، CML، miRNA، إلغاء القيود التنظيمية.

INTRODUCTION

Introduction générale

Un cancer apparait lorsque certaines cellules échappent au cycle de régulation de l'organisme, se multiplient anormale mentet prolifèrent de manière anarchique, incontrôlable et au détriment des autres cellules. L'ensemble des cellules du corps peut être concerné par ce dérèglement et les cellules peuvent devenir cancéreuses. Les cellules du sang peuvent donc être concernées et donner genèseà des cancers du sangde type leucémie ou lymphome.

La leucémie Myéloïde signifie que cette maladie concerne une certaine catégorie decellules de la moelle osseuse issues de cellules souches immatures .Ces cellules souches donnent naissance aux globules rouges, aux plaquettes et à certains types de globules blancs,et Chronique signifieque la maladies 'installe progressivement et évoluelentement(1).En effet chez tous les patients atteints de LMC(leucémie myéloïde chronique) , cette perte de contrôle cellulaire provient du même « échange de morceaux de chromosomes par translocation entre les chromosomes numéros 9 et 22)qui produit un gène de fusion appelé BCR-ABL.La protéineBcr-Ablissuede ce gène est une tyrosine-kinase hyperfonctionnelle qui stimule en continu la prolifération cellulaire.

La leucémie myéloïde chronique (LMC) représente 15 à 20% de toutes les leucémies chez l'adulte dans le monde.La prise en charge de cette forme de cancer du sang asubiun changement de paradigme avec l'avènement de l'imatinib (inhibiteurs de la tyrosine-kinase Bcr-Abl, et la percée de la thérapie ciblée au début des années 2000(2). Cependant, même si l'efficacité de l'imatinib a été prouvée dans un contexte clinique, il n'endemeure pasmoins qu'une proportionnon négligeable de patients n'obtient pas de niveaux de réponse moléculaire jugés optimal (2).

En effet les LMC développent une résistance génétique aux agents auxquelsellesont été exposées. Nous rapportons dans ce mémoire un des mécanismes par les quels le micro environnement tumoral influence la réponse autraitement des LMC,qui est la dérégulation de l'expression desmiARN,Les mécanismes dérégulant l'expressionde cesmicroARN sont nombreux et peuvent être corrélés aux mécanismes classiquesde dérégulation de gènes:amplifications, translocations,délétions,mutations ponctuelles,

dérégulation sépigénétique Certains micro ARN contrôlent l'expression d'oncogènes,et le urré pression conduit à la sur expression de cet oncogène. En revanche, d'autres (les oncomiR) sont surexprimés dans les cancers et sont susceptibles d'inhiber l'expressionde gène ssuppresseurs de tumeurs (3).

Nous commençant notre étude bibliographique par décrire le système hématopoïétique, donner des généralités sur le cancer et la leucémie notamment LMC,et en fin décrire les miARN,régulateurs del'expression de gènes et commentils participent d'une manière aberrante(le faitqu'ils soient surexprimé sousous-exprimés)àl'évolutiondes LMC(3).

Le détail des mécanismes moléculaires et génétiques mis en tenjeux seront développésaux niveaux de la discussion. Nous terminons notre recherche bibliographique par une conclusion générale avec des perspectives de thérapie génique qui vise à inhiber ou àcorriger la dérégulation de l'expression des miARN, et prévenir ainsi l'apparition de la LMC ou du moins diminuer la résistance des cellules LMC aux traitements existants (3).

1-Le système hématopoïétique

C'est l'ensemble des organes qui président à la formation et la maturation des éléments figurés dusang:lesglobulesrouges,lesglobulesblancs,lesplaquettes.Ils'agit:

1)de la moelle osseuse rouge (os longs et os plats)pour les globules rouges, sblancs polynucléaires et les plaquettes

2)des ganglions lymphatiques, la rate, les plaques lymphoïdes, les amygdales,les plaques de Peyer intestinales, la moelle osseuse, le thymus, l'appendice,le derme etchorion des muqueuses pour les globules blancs lymphocytes(4).

1-1-Les cellules souches hématopoïétiques

les cellules sanguines myéloïdes et lymphoïdes ,Elles sont l'origine des différentes populations cellulaires(4).

On sait aujourd'huiqu'il existe une cellule unique à l'origine des cellules souches hématopoïétiques et endothéliales:l'hémangioblast .Il est à l'origine de toute l'hématopoïèse mais aussià l'origine de l'endothélium vasculaire ,ce qui fait de cellule souche hématopoïétique et CSM cellule souche mésenchymateuse(4.)

Tableau1:les différents cellules souches hématopoïétiques et mésenchymateuses(4).

différentes cellules souches	Sources	Propriétés
Cellules souches hématopoïétique	Localisées dans la moelle osseuse ,d'origine mésodermique latéral.	Sont très rares mais enrenouvellement constant ce qui leur permet une production des cellules hématopoïétiques tout au long de la vie del'individu. Sont l'origine de toutes les lignéesde cellules sanguines : les globules rouges,les globules blancs et les plaquettes megacaryote.
Cellules souches mésenchymateuse	Présentes dans divers tissus del'organisme adult et elsque la moelle osseuse ou le tissu adipeux .	Sont des cellules capables d'autore nouvèlement et de différenciationen cellules des lignées ostéoblastiques,chondrocytaires et adipocytaires aminima. Sont un outil thérapeutique tant enmédecine régénérative que dans le traitement des pathologies immunitaires et inflammatoires. Sont importantes pour produire et réparer les tissus squelettiques tels que le

		cartilage,le sos et les graisses

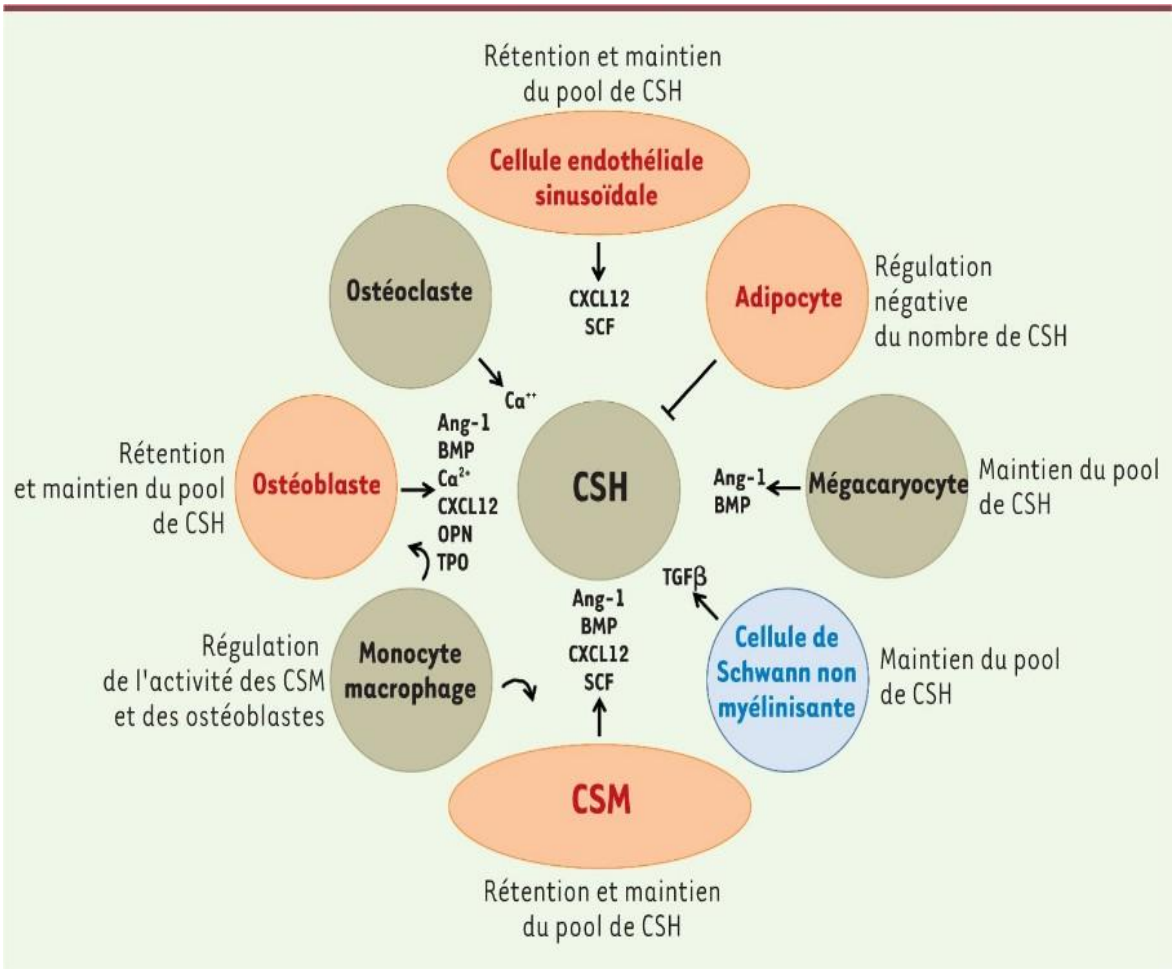


Figure1:Représentation schématique de la niche hématopoïétique.

Représentation schématique de la niche hématopoïétique. La niche hématopoïétique de la moelle osseuse comprend des cellules d'origine mésenchymateuse (cellules stromales mésenchymateuses ou CSM, ostéoblastes, cellules endothéliales sinusoïdales, adipocytes), hématopoïétique (cellules souches hématopoïétiques ou CSH, mégacaryocytes, monocytes/macrophages, ostéoclastes) ou nerveuse (cellules de Schwann non myélinisantes). Les signaux clés de régulation des CSH par les cellules de la niche sont schématisés. (4).

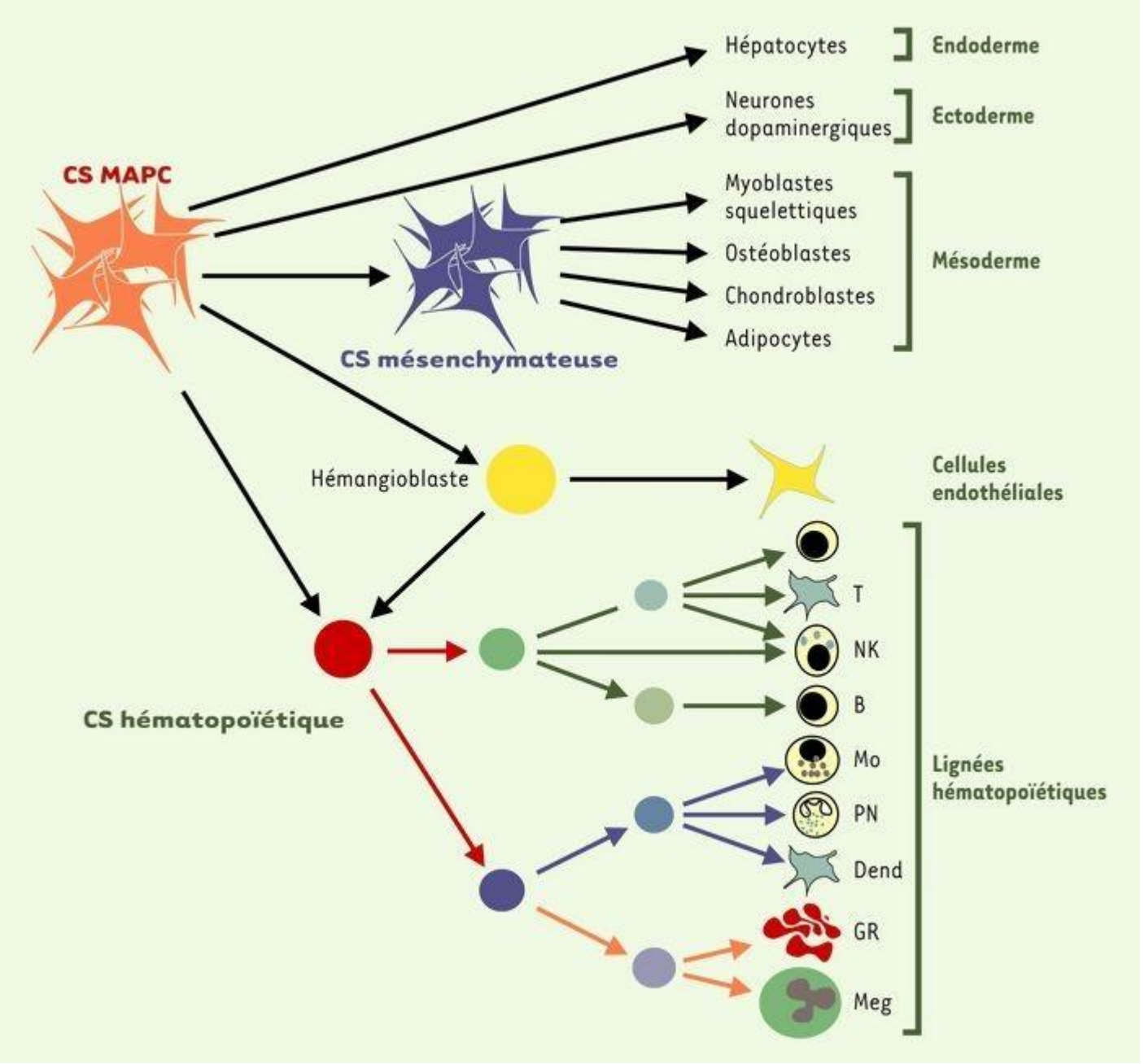


Figure2:filiation proposée pour les différentes populations de cellules présentes dans la moelle osseuse

Ce chema qui fait des MAPC les ancêtres des toutes les population hématopoitique et mesonchymateuses presentes dans le moelle osseuse ,est encore spéculatif .En particuliere,la filiation des progéniteurs endothéliaux et de l'hémangioblaste est encore mal définie .(5)..

2-Hématopoïèse

2-1.Définition

L'hématopoïèse est l'ensemble des mécanismes impliqués dans la production des différentes cellules sanguines à partir de la cellule souche hématopoïétique, à partirde la prolifération puis de la différentiation de pro géniteurs et de précurseurs qui dérivent des cellules souches hématopoïétiques, sous l'action régulatrice de multiples cytokines et facteurs de croissance(6); elle comprend trois compartiments : un compartiment de cellules très primitives à haut pouvoir de prolifération,un compartiment intermédiaire decellules non identifiables morphologiquement (lesprogéniteurs),un compartiment de maturation où les cellules sont identifiables morphologiquement(6)on dans le mésoderme extra-embryonnaire dus acvite llinetgénère des érythoblastes primitifs L'hématopoïèse définitive a alors lieu dans le foie et la moelle osseuse du fœtus probablement après l'ensemencement de cellules souches migrant de la régionpara-aortique(6).

Tableau2:les grandes étapes de l'hématopoïèse(6).

<table>
<tr><td colspan="4">Cellule souche hématopoïétique</td></tr>
<tr><td colspan="2">Cellules souches myéloïdes et lesfacteurs decroissance</td><td colspan="2">Cellules souches lymphoïdes et lesfacteurs de croissance</td></tr>
<tr><td>Monocytes

etneutrophiles</td><td>GM-CSF,IL3</td><td rowspan="3">LymphocytesB</td><td rowspan="3">IL7</td></tr>
<tr><td>Basophiles</td><td>IL4</td></tr>
<tr><td>Eosinophiles</td><td>IL5</td></tr>
<tr><td>Erythrocyte</td><td>EPO</td><td rowspan="2">LymphocytesT</td><td rowspan="2">IL7,IL2</td></tr>
<tr><td>Plaquettes</td><td>TPO</td></tr>
</table>

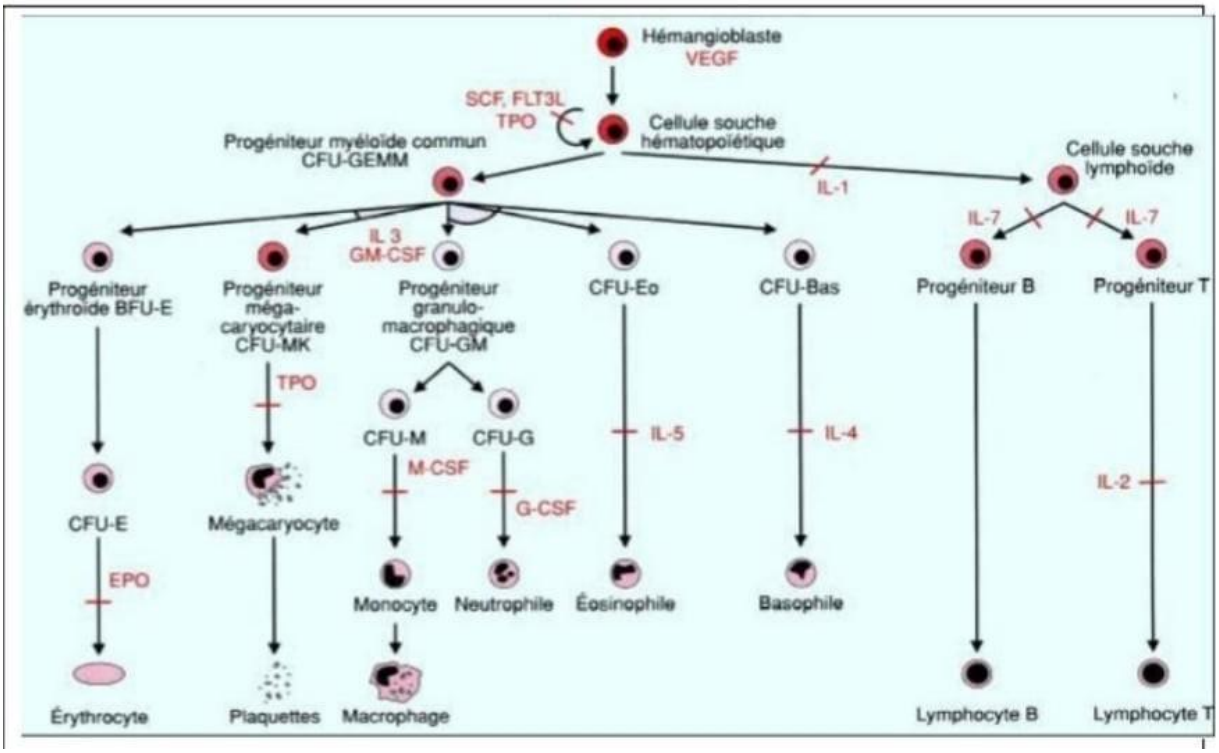


Figure3.Représentation schématique des principales étapes cibles des facteurs extrinsèques de l'hématopoïèse(7).

Ce schéma montre le processus de division de la cellule d'hémoglobine en plusieurs cellules sanguines... en plusieurs étapes... On note également de certaines enzymes qui inhibent cette division (il-4,il-5...), comme d'autres qui stimulent (7).

2-2-Les précurseurs des cellules sanguines de la moelle osseuse:

La moelle osseuse est constituée d'un réseau de fibres de réticuline entre lequel setrouvent les cellules hématopoïétiques. Les différents précurseurs identifiables dansla moelle osseuse sont des éléments plus ou moins différenciés qui vont subir une maturation pour donner les cellules sanguines(7).

a-les précurseurs de lalignée myéloide

Lescellules multi potentes dénommées CFU-GEMM (granuleux,érythroide,monocyte/macrophage ,mégacaryocyte) ou b encore appelées CFU-mixb sont détectées en milieu semisolide après 15&21jours de culture en présence de facteurs de croissance multi lignéesnotamment l'lL3 et

leGM-CSF(8).

b- Les précurseurs de la lignée lymphoide :

CFU-L donnent naissance à deux types de cellules: les L.T. et les L.B. Les précurseurs des L.T.Ils migrent dans le thymus pour y subir une maturation. Dans le thymus, les cellules T immatures (thymocytes) prolifèrent et se différencient. Les étapes de la maturation des thymocytes peuvent être suivies grâce à des marqueurs de surface. Durant leur développement, les thymocytes réarrangent les gènes codant les chaînes duTcR. Le caractère fonctionnel du TcR est évalué au cours des étapes de sélection positive et négative. Les cellules T ainsi sélectionnées migrent en périphérie pour constituer le pool des lymphocytes T matures . Ces L.T. se différencient au niveau du thymus en cellules auxiliaires (qui sont CD4+) et en cellules tueuses (qui sont CD8+). Les L.B. se différencient au niveau de la moelle osseuse en pro-B puis en pré-B et enfinen B matures exprimant les inununoglobulines M (IgM) de surface **(8).**

induisent une lésion définitive de l'ADN . Par contre,les agents promoteurs n'induisent pas de lésions de l'ADN mais favorisent l'expression d'unelésion ,préalablement induite par un agentinitiateur(9).

.

1-Cancer et leucémie:

1-1-Le cancer:

Le cancer est une maladie d'altération de l'ADN cellulaire.Les cellules atteintes par cesaltération (cellules malignes) ne suivent plus le processus normal de mort cellulaires programmée, l'apoptose, et deviennent immortelles. Ellese nourrissent par formation de nouveaux vaisseaux sanguins : on appelle ce processus l'angiogenèse . Ces cellule ontla capacité d'envahir et de coloniser les tissus environnants. Le développement d'uncancer est le résultat d'une combinaison entre, d'une part, l'activation de la prolifération cellulaire et, d'autre part , l'inhibition de signaux restreignant le potentiel proliférati f des cellules ; différents agents conduisent au développement d'un cancer . Classiquement,on distingue les agents initiateurs et les et les agents promoteurs .Les agents initiateurs sont des agents génotoxiques que induisent une lésion définitive de l'ADN . Par contre, les agents promoteurs n'induisent pas de lésions de l'ADN mais favorisent l'expressiond'un elésion,préalablement induite par un agentinitiateur(9).

1-2Le leucémie:

La leucémie est un cancer qui a été découverte en1847 par le pathologiste RudolfVirchow ,résultant de la lignée cellulaire hématopoïétique(10) .La leucémie est une forme de cancer du sang . Elle se manifeste par la prolifération de cellules jeunes dans la moelle osseuse et le sang.Ces cellules doivent en principe murir et devenir adultes,

se différencier en globules rouges ,plaquettes et globules blancs normaux ,et assure rainsi le transport de l'oxygène ,la coagulation et la défense de notre organisme contre les microbe Mais bloquée sà ce stade d'immaturité,elles n'assurent pas leures fonctions normales (10).

*Plusieurs facteurs sont responsables de l'apparition des leucémies dont:

-facteurs génétiques : certaines anomalies chromosomiques constitutionnelles , déficitdep53,déficits immunitaires constitutionnels

-expansion clonale dans lamoelle osseuse de précurseurs des cellules sanguinesbloqués à un stade précoce de leur différenciation

-Facteurs viraux,toxiques,exposition aux radiations(11)

2- Lecumie myloide chronique:

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est un syndrome myéloprolifératif rare,Elle est caractérisée par une prolifération myéloïde clonale affectant la CSH etconduisant à l'expansion clonale de cellules différenciées de la lignée myéloïdedans la moelle osseuse et le sang (figure 4) . Elle constitue un des modèles d'étude privilégiés de la leucémogenèse car les cellule stumorales sont caractérisées par uné change de matériel chromosomique: la translocationt(9;22),qui entraîne la formation d'un chromosome22 anormal ,dénommé chromosome Philadelphie (Ph). La translocation conduit à la formation du gène de fusionBCR-ABL(12).

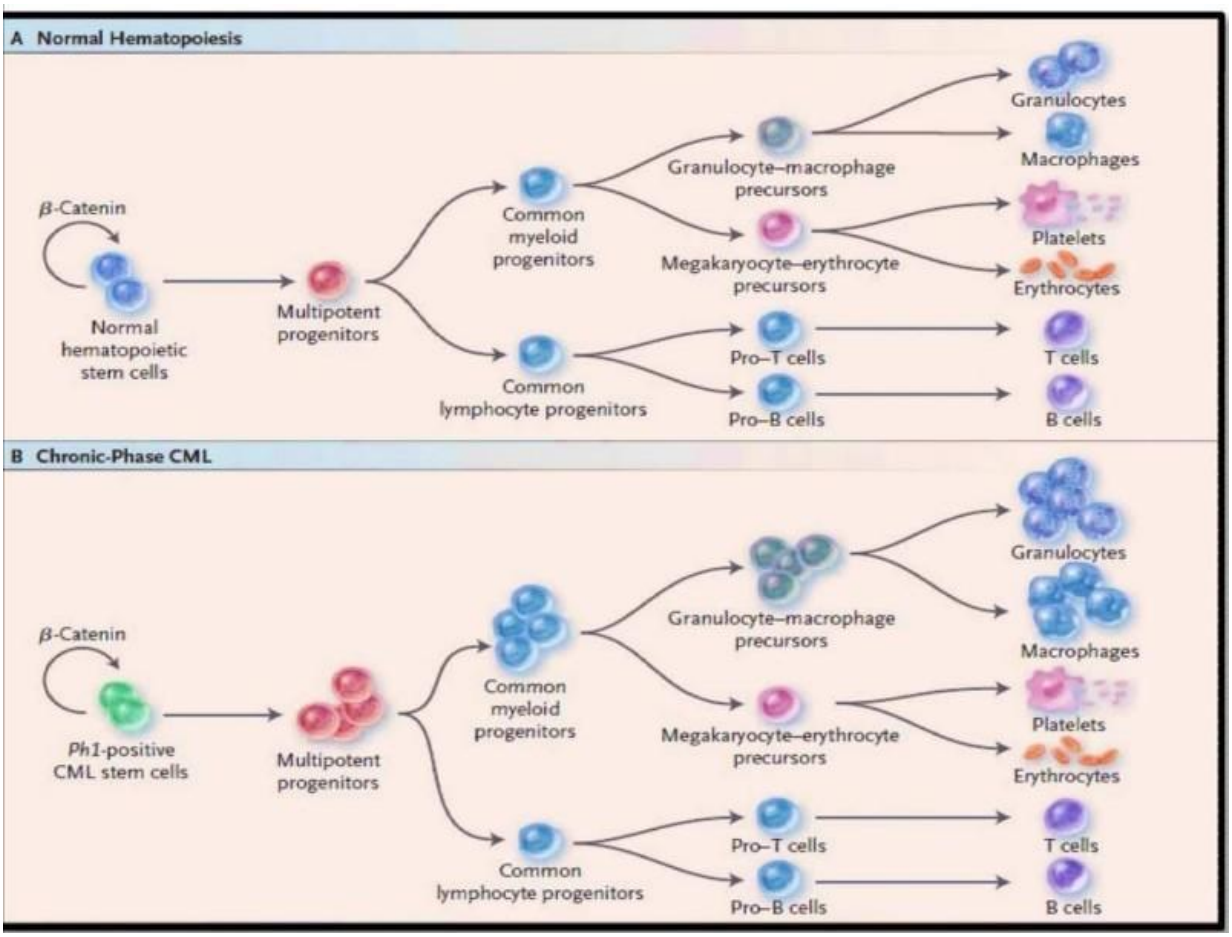


Figure4:Représentation schématique de l'hématopoïèse normale et leucémique

Partie A Représente:Normal Hematopoiesis , cellule normal stimule par B-catenine aprés la multiplication donnes plusieures types des cellules .

Partie B Représente:Chronic -phase CML, cellule aussi stimule par B-catenine aprés la multiplication donnes plusieurs types des cellules.

Les deux cas donnes les mêmes types des cellules (12).

3- Épidémiologie

La LMC représente 7à15%des leucémies de l'adulte,avec environ dix nouveaux cas par an pour un million d'habitants, soit 600 nouveaux cas par an en France.Cette affection touche préférentiellement les hommes, avec un sex-ratio prochede2(12)..

Ce pendant saprévalence est en augmentation en raison des progrès observés enterme des un vie après l'introduction desITK(13).Elle augmente avec l'âge,passantd'un cas pour 1 million d'enfants de moins de10ans,à plus de 30 pour1million d'individus après 60 ans. L'âge médian au moment du diagnostic est variable selon le sséries et se situe entre30et 60ans(13).

En Algérie,l'incidence estde0,53/100000 habitants avec une prévalence de1030en2014.L'âge médian au diagnostice stde48ans. On décrit une tteinte préférentiellement masculine avec un sex-ratiode1,2(13).

4--Étiologies

Dans la grande majorité des cas, aucune étiologie n'est retrouvée. Cependant,l'exposition à des radiations ionisantes pourrait jouer un rôlefavorisant.Cette hypothèse,suggérée par l'augmentation del'incidence de la LMC chezles survivantsde la bombeatomique d'Hiroshima,est confortée invitro par l'augmentation de la fréquence de détection du réarrangement BCR-ABL après irradiation de lignées cellulaires initialement BCR-ABL négatives(13).

5-Diagnostic:

5-1-Hémogramme:

L'hémogramme ou numération-formule sanguine(NFS)est l'examenle plus important car il permet à lui seul d'évoquer le diagnostic.

• L'hyperleucocytose est franche,supérieureà20109/l,majoritairement composée de polynucléaires neutrophiles, associée à une basophilie et à une éosinophilie.La myélémie est constante etharmonieuse,sans hiatus de différenciation,et lablastoseest faible lors de la phase

chronique(<5%).

- L'anémie(normocytaire et normochrome)est peu courante et modérée.
- La thrombocytose est habituelle et souvent supérieure à500000/mm3.Parfois très élevée,elle est rarement responsable d'incidents thrombotiques parthrombopathie associée(13).

5-2-Myélogramme:

En phase chronique, la moelle montre une augmentation de la richesse cellulaire, avec une hyperplasie granulocytaire marquée et une myélomégalie inférieure à 10%.Onpeut ,comme dans le sang,une basophilie,voire une éosinophilie.Les mégacaryocytes sont souvent en nombre augmenté et de petite taille(13).

5-3-Biopsieostéomédullaire:

In utile au diagnostic deLMC,elle affirme le diagnostic de syndrome myéloprolifératif, caractérisé par une hyperplasie du tissu hématopoïétique et dela lignée myéloïde en particulier, comblant la totalité des espaces médullaires,avec disparition des cellules adipeuses.Une fibrose réticulinique discrète peut sevoir, mais rarement dès le diagnostic(13).

5-4-Examens nécessaires au diagnostic:

Le critère fondamental du diagnostic est la présence du gènede fusionBCR-ABLdétecté par biologie moléculaire(14)..

• La reverse transcriptase polymerase chain reaction(RT-PCR)met en évidence le transcrit de fusion Bcr-Abl dans les cellules médullaires ou, plus facilement,Elle permet de définir le sous-typemolé cullaire produit.

. Cet examen est aujourd'hui indispensable au diagnostic de LMC.

L'examen peut être technique à partir d'un prélèvement sur un simple tube à numération de type éthylène diaminetétra-acétique (EDTA),etmême après36heures à température ambiante.

• Le caryotype, réalisé sur échantillon médullaire, met en évidence dans 95 %

,classiquement présent dans toutes les cellules. Indispensable au diagnostic, il permet aussi de détecter des anomalies cytogénétiques sur ajoutées et donc de préciser laphase de la maladie(14).

• L'hybridation in situ ou FISH visualise directement le gène de fusion BCR-ABLsur les noyaux,qu'ilyaittranslocation visibleen cytogénétique ou

pas.L'avantage de cette technique est de détecter les remaniements

BCR-ABLsans chromosome Philadelphie etd'être plus sensible que le caryotype(14).

Tableau3:lesdifférentesméthodesdiagnostiqueduLMC(14).

<table>
<tr><td>Circonstancesdedécouverteett ableauclinique</td><td colspan="3">Diagnosticbiologique</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Leplussouventlediagnosticest porté de manière fortuite à l'occasion d'une numération formule sanguine (NFS) deroutine.</td><td colspan="2">Anomalies hématologique orientant le diagnostic (NFS)</td><td>Examensnécessaires pour confirmation diagnostic</td></tr>
<tr><td>Hémogram meetfrottis sanguin</td><td>myélogramme</td><td>Caryotype standard</td><td>les technique scomme FISH</td></tr>
</table>

6-Taitements

Le traitement de la LMC a changé de manière progressive depuis sa découverte,passant d'une chimiothérapie avisée symptomatique à une thérapie ciblée c'est â dire le ciblage de l'anomalie génétique àl'origine de la maladie(15).

6-1-Thérapeutiqueciblée

La LMC a été un modèle pour le développement des thérapies ciblées. Son pronostica été radicalement transformé par la découverte desITK.Ces molécules sont des inhibiteurs compétitifs de l'ATP et bloquent l'activation de lakinase BCR-ABL1.Trois générations d'ITK ont été développées pour une prise en chargede aLMCen première ou se condeligne(15):

- ITKdepremière génération(ITK1)
- ITKdedeuxième génération(ITK2)

_ITKde troisième génération(ITK3)

6-2-La réponse hématologique

La réponse hématologique doit être évaluée par une NFS tous les15jours jusqu'àl'obtention d'une RHC et constante dans le temps, puis tous les trois mois et, en cas des uspicion de perte de réponse.La réponse optimale au traitement suppose l'obtention sur le plan hématologique d'une RHC dès le troisième mois,qui correspond à la normalisation de la NFS avec un nombre de leucocytes inférieur à10 x 109 /l, une basophilie inférieur à 5% , une absence de myélémie,un taux de plaquettes inférieur à450x109/le tune disparition de la splénomégalie. L'absence de la RHC à 3 mois ou sa perte au cours du traitement sont considérées comme uné checau traitement (15).

6-3-La réponse cytogénétique

La réponse cytogénétique mesurée au caryotype doit être évaluée à 3 et 6 mois puis tous le ssix mois jusqu' à L'obtention d'une RCyC et constante dans le temps.Il est aussi recommandé de réaliser systématiquement une Analyse cytogénétique en cas de survenue d'une anémie, d'une leucopénie ou d'une thrombopénie, ensituationde Réponsesub-optimale ou d'échec de traitement(15)..

1-LesmicroAN

1-1-définition:

Les microARNs sont des ARNs non-codants de 18-24 nucléotides capables deréguler l'expression des gènes au niveau post-transcriptionnel en se fixant ,encollaboration avec le complexe RISC, sur la région 3'UTR de leur ARN messagers (ARNm) cibles.Cette ition ou la dégradation de l'ARNm.Leur potentiel de régulation est vaste : plus de 60% des gènes codant pour des protéine sont été prédits comme pouvant être des cibles demiARNs.

Ces derniers constituent un mécanisme épigénétique redondant, d'une part du fait que chaque miARN peut avoir plusieurs ARNm cibles,mais également que chaque ARNm peut être ciblé par différents miARNs(16). Bien que les miARNs soientdes facteurs héritables à travers la mitose et la méiose,capables de réguler l'expression des gènes sans changer la séquence d'ADN, leur classification en tant que facteurs épigénétiques est en core débattue(17).

Les miARNs jouent un rôle important dans différents processus cellulaires, dont la prolifération,la régulation du cycle cellulaire ,l'apoptose,la différenciation, la capacité d'invasion, et des fonctions spécifiques à certains tissus telles que les réponses immunitaires,les sécrétions hormonale sou l'angiogenèse.Tous ces processus sont impliqués dans le développement et l'évolution de cancers (18) .L'expression de différents miARNs est dérégulée dans la plupart des cancers à travers différentsmécanismes, dont des défauts de la machinerie de biogénèse des miARN,l'amplification/délétion de régions contenant des miARNs, ou un contrôle transcriptionnel aberrant(19).Les miARNs peuvent également être dérégulés par une méthylation anormale del'ADN ou par des altérations desPTMs des histones régulantleur transcription(20).

D'autre part, plusieurs miARNs, les épi-miARNs, sont capables de réguler différents acteurs épigénétiques (PRC1, PRC2, DNMTs, HDACs…) et sont souvent dérégulés dans les cancers (21). De plus, il été montré que certains miARNs pouvaient être présents dans le noyau,dans le quel ils régulent l'expression de gènes vialeur fixation sur certains promoteurs ,entrain antlerecrutement d'acteurs de la transcription(22)

D'autre part le ARN est un brin (monocaténaire) leur caracteristique , commence dans le noyau mais il peut se déplacer dans le cytoplasme.la fonction est participation à la synthèse des protéines , le nature de sucre est Ribose et le structure chaine droite (22)..

2-Biogenèse des microARN

La production des micro ARN matures et fonctionnels dans la cellule se déroule en plusieurs étapes,dé butant par la transcription dans le noyau d'un précurs eu rappelé«pri miR »par le gene lin 4.Ce précurseur est ensuite maturé par le complexe micro processor en une forme plus courte : le « pré-miR ». Après son export dans lecytoplasme, le pré-miRest à son tour clivé par l'enzyme Dicer et pris en charge par le complexe RISC(RNAinduced silencing complex),est un complexe multi-protéique essentiel ,permettant la production d'un microARN mature et fonctionnel.(23)

2-1-Transcription des microARN

a. Organisation génique

Les études de Lagos-Quitina et al. et de Lau et al. sont les premières à dresser un profil complet des différents types d'organisation géniques des micro ARN(23). En effet,par allèlement à la mise en évidence des configurations en cluster(ensemble de microARN produits à partir d'un même pri-miR),leurs analyses génomiques montrent que les micro ARN peuvent se classer en fonction de leur position au sein des unités transcriptionnelle.

intergéniques(24),dontl'expression dépend d'un promoteur qui leur est propre, et odantes de leurgène hôte (figure5)(25).. Dans le cas des unités transcriptionnelles codantes,ces configurations peuvent être à l'origine de boucles d'auto régulations.Unexemple bien décrit par van Rooij et al. est celui de miR-208, capable deréguler l'expression de facteurs de transcription ciblant le promoteur de son gènehôte,MHC7.Les miRtronssont des cas particuliers de microARN introniques caractérisés par une voie de biogenèse non-canonique détaillée dans le paragraphe

I.2.d (26).. D'autre part,ces configurations ne sont pas réparties également au sein du génome puis queles études de Mathelier&Carbone et de Maselli et al.montrent

que les gènes de microARN sont généralement intergéniques(60%),souvent introniques(37%)et plus rarement exoniques (3%)(27)..

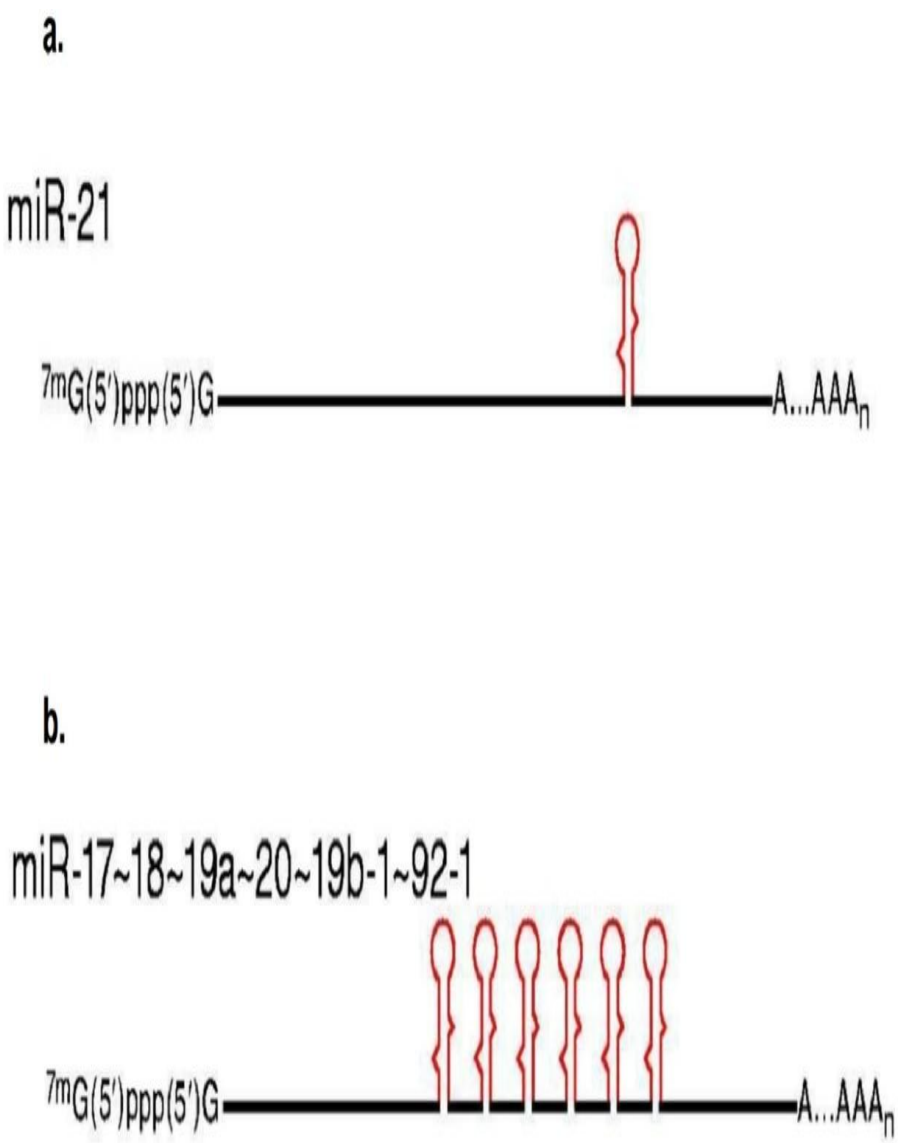


Figure 5:Représentation schématique des pri-miRN monocistroniques polycistroniques La transcription des gènes des microARN ,effectuée dans la plupart des cas par l'ARNpolymérase de typeII ,permet la production d'un transcrit primaire (pri- mi RNA ou pri-miR) qui peut être monocistronique (a)ou polycistronique (b)lorsqu'ilest à l'origine deplusieurs microARN,en général homologues car résultant de duplications géniques(27).

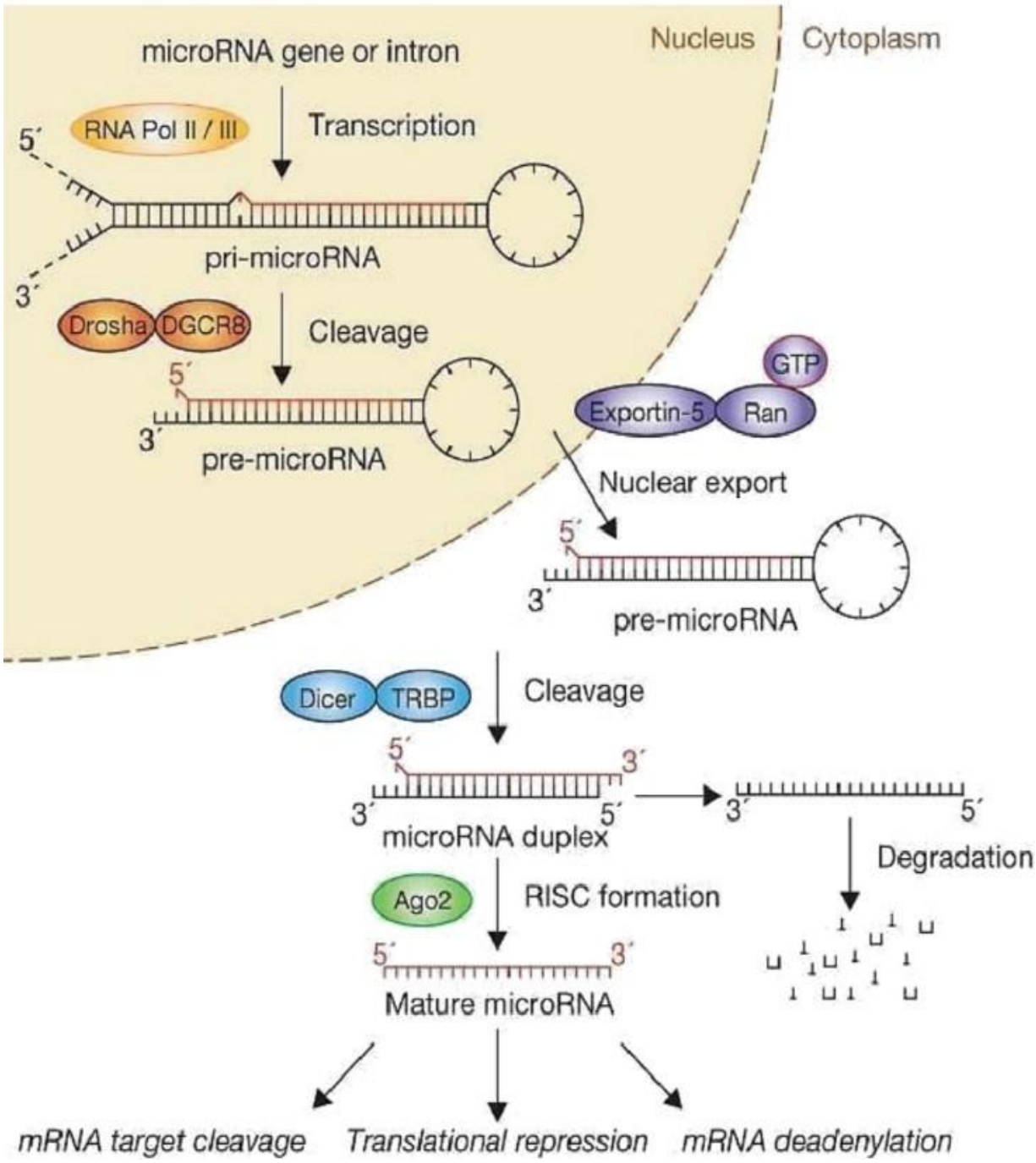


Figure6:Représentations chématique de la biogenèse des microARN

Les microARN sont préférentiellement transcrits par la RNA polymérase II sous forme de pri-miRNA ou pri-miR. La première étape de maturation pri-miR est sonclivage dans le noyau par la RNAs eIIIDrosha.Le produit de ce clivage est le pre-miRNA ou pre-miR, un ARN de environ 70b ayant une structure tige-boucle qui sera exporté vers le cytoplasme par l'exportine-5(XPO5). Le pre-miR subit ensuite une étape de maturation qui repose sur l'action de la RNAse III Dicer, qui produit une structure de type du plex double brin composé du bringuide (qui de viendra lemicroARN mature) et dubrin passager(oumicroARN*).Ce duplex est recruté au sein du complexe RISC, composé des protéines Dicer,TRBP et Ago, où aura lieu la dégradation du brin passager,et l'association du microARN mature avec ses cibles (27).

2-2-Maturation des transcrits des microARN

Entre 2001 et 2004, Lee et al. et Lund et al. sont les premiers à mettre en évidenceque la voie de biogenèse canonique des microARN est régie par une succession d'étape de maturation de leur transcrits(28). Ces étapes sont ainsi dépendantes de l'activité de deux endonucléases,Drosha et Dicer(29).Cette voie, détaillé eci-dessous,est résumévedans la(figure7).

a-Maturation nucléaire

Après la transcription du pri-miR par l'ARN polymérase II, la première maturation du pri-miRs'effectue lors des aprise en charge par le complexe micro process or composé de l'enzyme RNAse de type III Drosha et de la protéine DGCR8 (DiGeorgesyndrome chromosomal region 8) (27). Les pri-miR ont une structureparticulière entige-boucle reconnue spécifiquement par DGCR8. Cette interaction vadiriger le clivage du précurseur au niveau des 11 nucléotides suivants par Drosha (27). Le produit de cette maturation est un « pré-miR » d'environ 70 nucléotides caractérisé par une structure en forme d'épingle à cheveux et une extrémité sortante de 2nucléotides enposition3'(30).

b- Export des précurseurs du noyau vers le cytoplasme

L'export des pré-miR est dépendante de la reconnaissance de la structure double brinet de leur extrémités or tante par l'exportine-5, un récepteur appartenant à la famille des karyophérinesβ(30).Dans le noyau,ce récepteurs elie spécifiquement auco- facteur RAN-GTP puis aux nucléo porines(31).L'enzyme RAN-GAP (RAN-GTPase activating protein) permet l'hydrolyse de RAN-GTP en RAN-GDP pour faciliter le transport du pré-miR du noyau vers le compartiment cytoplasmique(31).

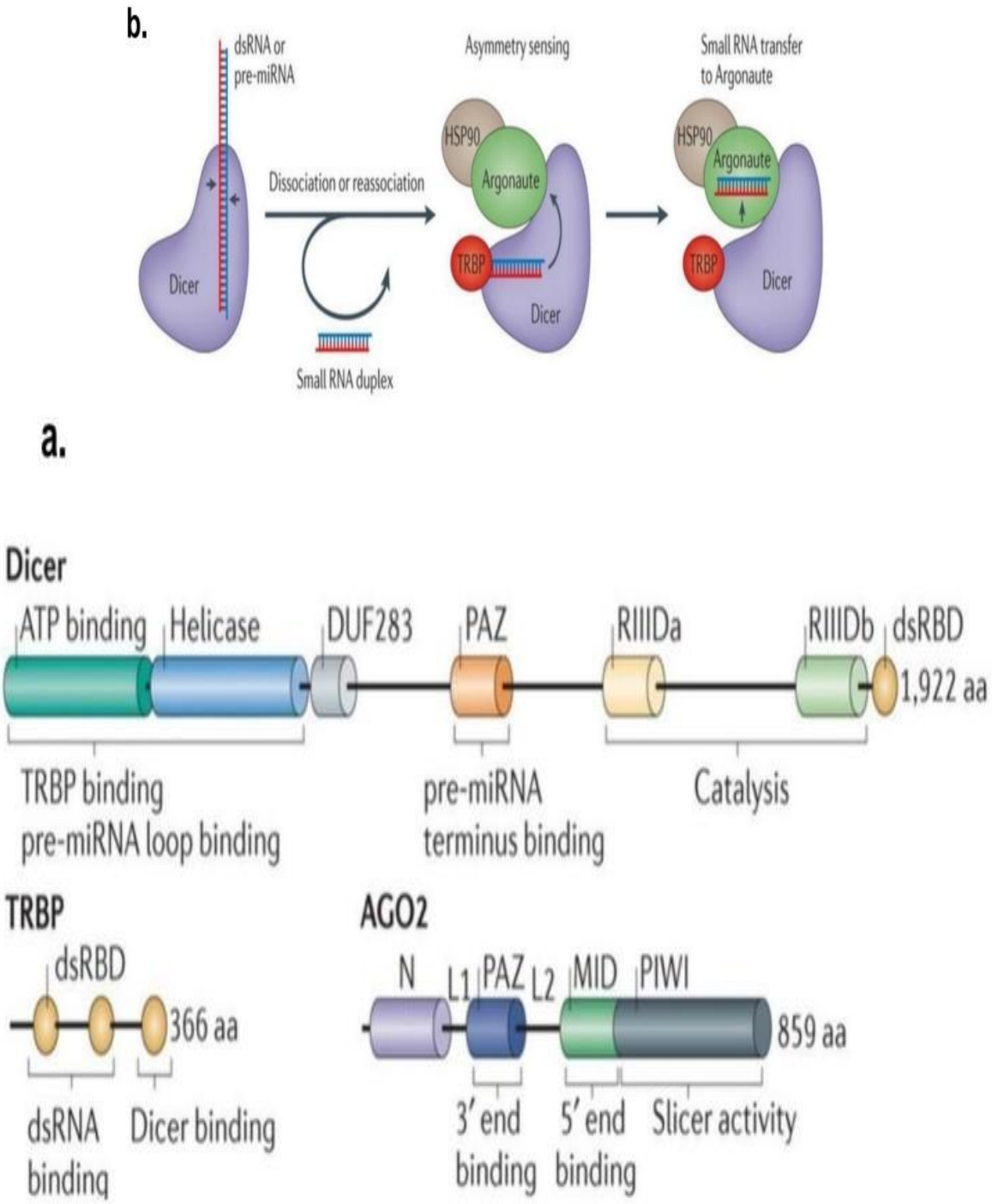


Figure7:La formation du complexe RISC

Partie a- Représentation schématique des domaines des trois protéines essentielles à la composition du complexe RISC.
Partie b-Clivage du pre-miR par Dicer et recrutement du duplex
microARN-microARN*par la protéine Agodans le complexe RISC(31).

C-Maturation cytoplasmique

Cette dernière étape constitue l'un des points de la maturation des microARNles moins bien caractérisés actuellement. Les éléments moteurs de l'étape finale dela maturation du pré-miR sont dans un premier temps sa prise en charge par laRNAse de type III Dicer et son recrutement par la protéine protéine Argonaute (Ago)au sein ducomplexe RISC (RNA induced silencing complex)(32).Le mécanisme d'action précis de ces différentes étapes de la maturation finale du microARN reste en core relativement mal défini.Ce paragraphe tente de restituer les connaissance admises aujourd'hui. Recrutement du pré-miARN par Dicer est une endoribo nucléase composée des domaines protéiques shématisés en figure7.a.

3-Mécanisme d’action:

Les microARN sont des acteurs essentiels pour la régulation de l‘expression protéique de la cellule. En effet, plusieurs études suggèrent leur capacité à réguler entre30%et60%des ARNmessagers alorsqu‘ils ne représentent à eux seuls que1%à 3% du génome humain ,Peu de temps après leur découverte, Reinhart et al. Identifient clairement que les micro ARN sont capables de réguler négativement la traduction d‘ARN messagers en interagissant spécifiquement avec leur séquence 3’non-codante . Plusieurs études généralisent plus tard ce mode d‘action et montrent que cette fixation micro ARN-ARNm (miARN-ARNm) perturbe soit la stabilité d’un ARNm ciblé soit sa traduction .D‘autre part ,d‘autres modes d‘action rarement décrits ne seront pas détaillés ici. Il s‘agit de la capacité de certains micro ARN à stimuler la traduction d‘un ARNm ou à réguler la chromatine(33).

4-MicroARN et cancers:

L‘engouement pour l‘étude des microARN n‘a cessé d‘augmenter depuis les années 2000 suite à la découverte de la conservation de leur séquence et de leur fonction entre les vertébrés et les invertébrés. Les études se sont alors multipliées dans plusieurs modèles de cancers, visant à déterminer la place potentielle des microARN dans les processus pathologiques. Dès 2005, les quelques profilages de microARN effectués sur plusieurs modèles de cancers suggéraient la dérégulation récurrente de certains microARN.(34) Ces études ont ainsi permis de proposer que certains microARN avaient des fonctions oncogéniques, alors que d'autresétaientsuppresseurs de tumeurs(35).En effet, Lu et al. Proposent même à cette époque uneclassification des tumeurs en fonction des expressions fréquemment dérégulées de certains micro ARN(35). Ces dérégulations peuvent s‘expliquer par des anormalités chromosomiques,des régulations transcriptionnelles particulières,de saltérations de la voie de biogenèse des micro ARN. De très nombreuses études suggèrent ce lien entre microARN et cancer sans que des relations de causes à effetne soient systématiquement présentées.

Tableau4:Liste non exhaustives des microARN surexprimés et sous exprimés dans laLMC (35) (36).

Surexprimé	Sous exprimés
-L'Etude d'analyse par les microarray montré des micoARN.	-L'étude d'analyser par les micro arraymontré des microARN.
-On retrouve miR-17-92,mi R-21etmiR-155.	-On retrouve miR-150,miR-29a/b.
-Cluster miR-17-92estlemi eux caractérise.	-Cluster miR-150 Le mieux caractérise.
-Unesurexpression des micro-ARN exprimés :miR-125, miR-196B, Ainsi que miR-145etmiR-451etmiR-142-3p.	-Unesous expression des microARN exprimés :sur miRT-qPCR et miR-29a/b.

Discussion générale

Ce mémoire est une synthèse bibliographique qui vise à faire le point sur quelque stravaux concernant le rôle de la dérégulation d'expression des miARN dans les mécanismes de tumorigenèse des cellules sanguines, ainsi que leur possible utilisation en tant qu'outils diagnostiques ou prédictifs du pronostic de certains cancers.

Dans la partie généralité,nous avons commencé par décrire :le système hématopoïétique, le cancer des cellules sanguines ou leucémie, définir les miARN,leur rôle dans la régulation des gènes ainsi que leur relation avec le cancer enparticulier la leucémie typeLMC.

A rappeler que la leucémie est une affection maligne qui se produit pluripotente ou d'un progéniteur qui a des capacités d'autore nouvèlement plus limitées. Ainsi une prolifération anormale,une expansion clonale et une diminution de l'apoptose conduisent à une diminutiondes éléments sanguins normaux et/ou au passage éventuel des cellules malignesdans le sang.Les leucémies sont classées comme aiguës ou chroniques : selon le pourcentage de blastes ou de cellules leucémiques dans la moelle osseuse ou le sang et classées comme myéloïdes ou lymphoïdes : selon la lignée prédominante des cellules malignes.Et bien évidemment les caractéristiques de la maladie et la prise en charge thérapeutique diffèrent significativement entre la leucémie lymphoïde chronique (LLC) et la leucémie myéloïde chronique (LMC). Dans notre recherche nous nous sommes intéressés tout particulièrement à la leucémie myéloïde chronique.

Implication des microARN dans la leucémogenèse:

Plusieurs travaux montrent une implication claire des microARN dans la régulation de l'hématopoïèse et des voies métaboliques de la CSH. C'est donc tout naturellement que se justifie l'intérêt d'étudier leur implication dans l'oncogenèse d'unmodèle de cancer de la cellule souche tel que la LMC.

Par ailleurs,les dérégulations d'expression de tumeurs suggérant que ces molécules pourraient être utilisées comme de véritables biomarqueurs tumoraux.

A noter queles micro-ARN sont exprimés durant tousl les stades de la différenciation hématopoïétique et influentsur la détermination des cellules souches hématopoïétiques, la différenciation, la prolifération et l'apoptose. Leur expression reste indispensable.En effet,des près quelques jours et présentent un défaut de CSH multipotentes.En revanche les cellules de souris partiellement déficientes en cette endonucléase sont incapables de se différencier (37).

Quelques micro-ARNont un rôle clef dans la différenciation.Par exemple l'expression de miR-150 privilégie la différenciation megacaryocytaire aux dépens de la lignée erythroblastique, ce micro-ARN joue égalementun rôle important dans la lymphopoïèse(36) .

L'érythropoïèse également est favorisée par les miR-451,miR-16et miR-144 mais inhibée par les miR-150,miR-155, miR-223. Le miR-223 est spécifique de la lignée granuleuse,sonnive au d'expression augmente lors de la maturation.La fait intervenir les miR-424 et miR-17-92.(37).

Les miRNA surexprimés dans les LMC

La surexpression releur activité potentiellement oncogénique. Les récentes études d'analyses par microarrayont montré qu'à ce jour un petit nombre de microARN sont surexprimé dans la LMC.Parmis les plus rapportés, on retrouvemir- 17-92, miR-21et miR-155(38).

Le miR-17-92 est le mieux caractérisé dans la LMC. Sa surexpression ad'abordété démontrée par Venturini et al en 2007 sur des lignées modèles de LMC(38) et confirmé plus tard dans l'étude Fallahetal.Dans les prélèvements des angpériphérique de patients LMC(39)..La question des asur expression commemarqueurs de l'évolution de la LMC vers la crise blastiquer est eencore à clarifier compte tenu des résultats contradictoires rapportés à ce sujet (39,40). D'autre part,l'analyse par microarray de Jurkovicova et al. en 2015 suggère que son expressionest d'autant plus forte chez les patients résistants aux ITK (inhibiteurs tyrosineskinases)(38).

En ce qui concerne les microARN miR-21 et miR-155 les deuxsont reconnus pourêtre des oncogènes dansplusieurs modèles(41). Cependant, très peu d'études à cejour se sont focalisées sur leurrôle potentiel dans la leucémogenèse. En effet, les analyses deMachovà et al. effectuées sur des échantillons de sang périphérique de patients LMC résistants montrent que leur

surexpression semble associée à la réponse de résistance aux traitements ITK(40).D'autre part quelques études suggèrent que leur surexpression semble importante pour la survie des cellules LMC (41).

Une surexpression des micro-ARN dans les cellules souches hématopoïétiques (miR-125,miR-196B), ainsi que ceux impliqués dans la différenciation erythroblastique (miR-145 et miR-451), a été décrite également (42.43) . Aucune corrélationn'apuêtre mise en évidence entre l'expression des micro-ARN déréguléet la charge allélique JAK2. La relation entre ces surexpressions et l'expansion clonale ou l'orientation vers une lignée en particuliern'est pas encore claire (42)..

Notons également que miR-142-3p est exprimé à un niveau plus élevé dans lescellules mononucléées du sang périphérique des patients atteints d'une LMC parrapportàcelles des individus sains (43)..

L'expression de cemiARN est dépendante de la protéine de fusionBCRb (reak point cluster region)/ABL(Abelson)[1]à la fois invitroetin vivo.L'inhibitionde l'activité kinase de BCR / ABLpar le mésylate d'imatinib(Glivec®)ou par un small hair pinRNA(shARN)dirigécontre le transcrit codant pour BCR /ABL induitune sous
-expression de miR-142-3pdans deux lignées cellulaires sur trois arborant la translocation chromosomique(:9;22).

Chez ces patients,après14jours de traitement avec l'imatinib,une baisse d'expression du miARN dans les cellules mononucléées est observée, avec une tendance à la normalisation de son niveau d'expression. Un niveau d'expression élevé de miR-142-3p dans les cellules mononucléées des patients est donc cohérentavec une fonction oncogénique de cemiARN.

2/Les microARNsous-exprimés dans la LMC

L'utilisation de la technologie d'analyse du niveau d'expression de microARN parmicroarray anotamment permis de mettre en évidence trois cas desous-expression de microARN dans la LMC. Plusieurs études démontrent d'abord clairement par miRT-qPCR et analyses microarray quelemiR-150 semble sous-exprimé dans les cellules primaires de patients LMC en phase chronique, suggérant un rôle de celui-ci dans la leucémogenèse(39,42).L'étude de Flamant et al.,en 2010 confirme ces données et démontrent également que miR-150 ne

constituepas un marqueur de distinction entrela phase chronique et la phase blastique de lamaladie206. En revanche, les conclusions fonctionnelles de ces trois études mettenten évidence unepossible utilisation du miR-150 comme biomarqueurs de suivi de laréponse aux ITK.Les résultats de l'étude d'Agirre et al. suggèrent également quemiR-10a est sousexprimé dans 71% des cas de LMC(42). Cette sous-expression semble corréléeavec l'augmentation de USF2 (un facteur de prolifération cellulaire.Son expression aberrant esemble par ailleurs associée à l'évolution de la LMC vers sa phase blastique.L'étu de de Flamant et al.met d'autre part enévidence un lien derégulation possible entreBCR-ABL1(gène responsable deLMC)et miR-10apuisque leur analyse microarraymontre que son expression est restaurée lors dutraitementdes patients par les ITK(43).

.Enfin,le cas de miR-29a/best particulièrement intéressant.Majoritairement rapporté pour son rôle dans le maintien des propriétés des CSH,peu d'études montre son rôle potentiel dans la physiopathologie de la LMC(45). En effet, les travaux de Liet almontrent en 2013 que sa surexpression artificielle dans les lignées de LMCconduità un blocage de la prolifération et à une entrée en apoptose des cellules,suggérant sonrôle protecteur dans la LMC(45). D'autre part, San-josé Enèriz et al. et Machòva et al.montrent que la régulation négative de miR-29 semble associée aux profils de patients résistants aux ITK(40,46).

Notons également que miR-142-3p,impliqué dans la différenciation myéloide,voit son expression diminuée lors du traitement par imatinib.Il semblerait que le niveau

d'expression de ce micro-ARN,avant traitement,soit corrélé au score de Sokal(47). Une sous-expression du miR-328 a été décrite lors de la phase blastique des LM

C ,entraınant la non differenciation des cellules. En revanche la réintroduction de ce micro-ARN permet l'inhibition du facteur de survie PIM1(provirus intégration site for Moloney murine leukemia virus),ainsi que la ré expression du facteur de transcription CEBPa (CCAATen hancer-binding protein alpha). L'ensemble a pour conséquence la reprise de la différenciation et un retour en phase chronique(48).

A travers notre recherche bibliographique nous constatons que la dérégulation des miARN par sur exprssion ou sous expression miARN semble participé positivement à la survie des LMC et comme indiqué précédemment que ces dérégulation peuvent sur venir suite à des aberrations chromosomiques,des régulations transcriptionnelles particulière soudes altérations

de la voie de biogenèsedes microARN.

Dans la régulation transcriptionnelle ,les facteurs de transcription les plus largement étudiés dans la régulation des microARN sont c-myc et p53. O'Donnell etal., sont les premiers à montrer que la surexpression du cluster miR-17-92 est transcriptionnellement régulé par c-myc(49).Plustard,l'étude générale de Chang etal. sur la caractérisation de microARN régulés par c-myc est fonctionnels dans la car cinogenèse démontre que ce facteur de transcription inhibe directement l'expression de plusieurs microARN(miR-15a,miR-26,miR-29,let-7)potentiellement capables decibler des transcrits de gènes suppresseurs de tumeur(38).

L'ensemble de ces travaux montrent le rôle déterminant de c-myc dans la régulation de l'expression de plusieurs microARN important dans la survie, la prolifération, les modifications épigénétiques ou la prolifération.

Les econd facteur important dansl'oncogenèse et lié aux microARN est le suppresseur de tumeur p53, connu pour être inactivé par mutation ou bien non exprimé.

Par ailleurs la dérégulation des éléments de la biogenèse des microARN est logiquement corrélée avec la dérégulation de l'expression de ceux-ci.Dans le cas des tumeurs Wilms(tumeurs des reins chez l'enfant),la mutation par substitution/délétion d'un nucléotide Drosha est directement responsablede la diminution significative del'expression de let-7a et de miR-200, deux microARN impliqués fonctionnellement dans le mécanisme de ces tumeurs(50).

D'autre part, l'étude de Melo et al., souligne l'importance de maintenirl'intégritéd'expression des différents acteurs de la voie de biogenèse des microARN puisque ses résultats semblent démontrer que l'expression de la formetronquée de l'exportine-5 (par mutation inactivatrice du gène) conduit ainsi à une accumulation nucléique de pre-miRs dans le noyau des cellules de tumeurs modèles, Ces travaux suggèrent également que la restauration de l'exportine5 sous sa forme active permet d'inverser ce phénomène et contribue même au mécanisme de suppression de la tumeur.Concernant les mécanismes de régulation épigénétiques de l'expressiongénique peuvent être regroupés dans deux catégories(51).

*La méthylation de l'ADN (sous l'action d'ADN méthyltransférases), qui concerne certaines cytosines localisées dans les ilôts CpG des régions promotrices des gènes et qui conduit au silencing de ceux-ci.

*Les modifications post-traductionnelles des histones favorisant l'expression génique,dans le

cas des acétylations(produites par les histones acétyltransférases),ou induisant un silencing des gènes dans le cas des méthylations(action d'histones méthyltransférases).

Ainsi de très nombreuses études proposent un lien entre régulation épigénétiqueset carcinogenèse. Les gènes dont l'expression est affectée par ces mécanismespeuvent être des suppresseurs de tumeurs ou des oncogènes(51), mais égalementdes gènes de microARN, comme cela a été fréquemment démontré. L'étude Saito etal. montre en effet dès 2006 que ces

la régulation de l'expression des microARN(52): le traitement de cellules decarcinomes de la vessie par des inhibiteurs des enzymes de méthylation de l'ADN et d'acétylation des histones conduit à la surexpression de 17 microARN parmi les 313 étudiés dans cemodèle.

Ces résultats sont également confirmés par les travaux de Scott et al. montrant que le traitement de lignées cellulaires de cancer du sein par des inhibiteurs des enzymes d'acétylation des histones conduit à une modification rapide du profilmicroARN.Ainsi,le silen cing de microARN suppresseurs de tumeurs tels que miR-34b-coumiR-145-5pont par exemple été associé à la progression des cancers colorectaux,des mélanomes et des glioblastomes.L'étude de Lujambio et al.montrent également que ce silencing de miR-34b-c est associé à la progression métastasiquedans ces modèles expérimentaux (53).

A travers notre recherche on a également constaté que les micro-ARN constituent potentiellement des outils thérapeutiques, soit en modulant un gène implique dans la maladie,soit en ciblant directement un micro-ARN dérégulé,afin de permettre une diminution de la prolifération, et de favoriser la différenciation et l'apoptose.

D'ailleurs différentes études sur des lignées ou des modelés animaux ont montré la possibilité de réintroduire un micro-ARN sous-exprimé par l'utilisation de micro-ARN le mimant (miRNA mimics) ou au contraire d'inhiber la sur expression d'un micro-ARN par l'utilisation d'un « antagomiR » ou « antimiR ». L'introduction deces micro-ARN (agonistes ou antagonistes) pourrait être réalisée par des vecteurs viraux ou non,liposomes, nanoparticules..).(54).

Au-de là du nombre élevé des étude seffectuées sur les micro-ARN et qui ontcontribué à la compréhension des mécanismes physiopathologiques à l'originedes hémopathies. Les rôles précis des miRNA ne sont pas encore bien définis ; lesdérégulations sont-elles les causes ou les conséquences des pathologies ? Des études fonctionnelles sont nécessaires à fin d'identifier leurs utilisations potentiellescomme biomarqueurs oucibles thérapeutiques.

Conclusion et perspectives

Les miARN correspondent à une catégorie particulière de petites moléculesd'ARN endogène capables de moduler l'expression des gènes au niveau transcriptionnel ou au niveau traductionnel. Les miARN sont impliqués dans divers processus majeurs : au cours du développement, lors de la différenciation cellulaire,de la prolifération ou encoredel'apoptose.

Au cours de la différenciation myéloïde, certains miARN semblent occuper une place primordi ale, selon le cas, ces miARNs peuvent jouer comme des suppresseurs de tumeurs ou, au contraire, comme des éléments favorisant l'oncogenèse.Si la fonctionnalité des miARN n'est que partiellement élucidée,l'implication de ces molécules au cours de la pathologie cancéreuse apparaît de plus en plus évidente,avec soit une sur-expression soit une sous-expression permettant ainsi d'évoquer une véritable"signature"tumorale dans le domaine des hémopathies.

Par ailleurs, les dérégulations de niveaux d'expression des miARN semblent étroitement liés à des mécanismes épigénétiques, des aberrations chromosomique ou des défauts de biogenèse des miARNs.Les anomalies d'expression de certainsmiARN au cours du cancer laisse envisager la mise au point de nouvelles stratégies thérapeutiques.I la ainsi été proposé de restaurer l'expressiond'un miARN suppresseur de tumeur per due par les cellules tumorales ou au contraire des'opposer à l'expression d'un miARN favorisant l'oncogenèse.

Dans cette optique, il est envisagé de concevoir des oligonucléotides capables des'apparier aux miARN oncogéniques et de les inactiver.Il s'agit des AMO(anti-miARN oligo-nucleotides), des LNA (locked nucleic acids) et des "antagomiRs"dirigés contre des miARN oncogéniques. Malheureusement cette stratégie se heurteà certaines limitations telles que le problème de délivrance, l'effet hors cible et toxicitédes molécules vecteurs.

1. SorelN,CayssialsÉ,BrizardF,ChomelJC.Actualisationdestraitementsetdusuivimolécu lairedanslapriseenchargedelaleucémiemyéloïdechronique.AnnBiolClin2017;75(2):129 -45doi:10.1684/abc.2017.1233

2. Eliasson L, Clifford S, Barber N, Marin D. Exploring chronic myeloid leukemiapatients' reasons for not adhering to the oral anticancer drug imatinib as prescribed.Leuk Res.2011;35(5):626–630.

3. FinouxAL,ChartrandP.Micro-ARN:oncogènesetsuppresseursdetumeurs.MedSci(Pari s)2008;24:1049–54

4. www.medecenesciences.org.dz.5.https://images.app.goo.gl.

6. https://www.hematocell.fr/index.php/enseignement-de-lhematologie-cellulaire/leucoc ytes-et-leur-pathologie/23-hematopoiese.

7. Slideplayer.fr.LesCELLULESSOUCHESHÉMATOPOÏÉTIQUESHUMAINESNOR MALES

: RÉGULATION ET MÉTHODES D'EXPLORATION S. Fichelson, 17 Juin2004.

8. chagnon-choquet,J.(2014).L'impact des cellules dendritiques dans la dérégulationdescellulesBdansuncontexted'infectionauvirusd'immunodéficiencehuma ine.

9. Colditz G.A .Sellrs T.A.Trapido E.2006 épidémiologie –identifying the causes andpreventabilityofcancer?.Nat.Rev.cancer.

10. RobinK.UlrichC,M.5,10–Methylenetetrahydrofolatereductasepolymorphismsandle ukemiarisk :2003.

11. Pr.Paulcoppo,fonctionnelleshématologueàl'Hôpitalsoit-Antoine(paris).

12. T.Leguay,F-X.Mahonleucémiemyéloïdechronique:Chronicmyelogenousleukaemia, 2005.

13. Thèse de Doctorat en Sciences Médicales,INTÉRÊT DE LA QUANTIFICATION PARLA QRT-PCR DANS LE DIAGNOSTIC ET LE SUIVI MOLÉCULAIRE DE LA MALADIERÉSIDUELLECHEZLESPATIENTSATTEINTSDELEUCÉMIEMYÉLOÏDECH RONI QUE TRAITÉSPARIMATINIBMESYLATE.Le17décembre2017parDocteurNACHIMourad.

14. Ebert MS, Sharp PA . Roles for MicroRNAs in conferring Robustness to BiologicalProcessesCell.2012.

15. GoldbergAD,AllisCD,BernsteinE.Epigenetics:ALandscapeTakesShape. Cell.2007.

16. Hanahan D, Weinberg RA .Hallmarks of cancer : The Next Generation .Cell .2011.17.PengY,CroceCM.TheroleofMicroRNAsinhumancancer.Signal Transdust .Target.Ther.2016.

18. SuzukiH,MaruyamaR,YamamotoE,KaiM.DNAmethylationandmicroRNAdysregulation incancer.Mol.Oncol.2012.

19. RamassoneA,PagottoS,VeroneseA,VisoneR.EpigeneticandMicroRNAsincancer.Int. J.Mol.Sci.2018.

20. Lago-Quintana,M.IdentificationofNovelGenesCodingforSmallExpressedRNAs.Science.2001.

21. Lau,N.,Lim,L,P.,Weinstein,E,G.&Bartel,D.P.AnaboutandclassoftinyRNAswithprobable regulatoryrolesincaenorhabditiselegans.Science2001.

22. Kim,V.,Han,J.&Siomi,M.C.BiogenesisofsmallRNAsinanimals.Nat.Rev.Mol .CellBiol.2009.

23. Mathelier,A.&Carbone,A.Largescalechromosomalmappingofhumanmicro RNAstructuralclusters.NucleicAcidsRes.2013.

24. Borchert,G.M.,Lanier,W.&Davidson,B.L.RNApolymeraseIIItranscribeshumanmicroRNAs.Nat.Struct.Mol.biol,2006.

25. Cai, X.HumanmicroRNAs

areprocessedfromcapped,polyadenylatedtranscriptsthatcanalsofunctionasmRNAs.RNA,2004.

26. Ozsolak,F.etal.chromatinstructureanalysesidentifymiRNApromoters.Genes Dev,2008.

27. Ameres,S.L.&Zamore,P.D.DiversifyingmicroRNAsequenceandfunction.Nat .Rev.Mol.CellBiol2013.

28. Du,T.&Zamore,P.D.microPrimer:thebiogenesisandfunctionofmicroRNA.Dev .Camb.Engl.2005.

29. Mu,P.etal.GeneticdissectionofthemiR-17-92clusterofmicroRNAsinMyc –inducedB-celllymphomas.GenesDev.2009.

30. Lund,E.NuclearExportofMicroRNAPrecursors.Science2004.

31. Han,J.etal.MolecularbasisfortherecognitionofprimarymicroRNAsbytheDrosha–DG

CR8complexCell, 2006.

32. Gwized,C.etal.Minihelix–containingRNAsmediateexportin-5-dependen

nuclearexportofthedouble-standardRNA-bindingproteinILF3.J.Biol.Chen. 2004.

33. Gwizedek ,G. et al . Minihelix –containing RNAs mediate exportin

-5-dependentnuclear export of the double – standed RNA- binding proteinILF3.J.Biol

.Chem.2004.

34..Zeng , Y.& Cullen ,B.R . structural requirements for pre-microRNA binding andnuclearexportbyExportin5.NucleicAcids.Res.2004.

35. MacFrarlane.L.-A&Murphy,P.R.MicroRNA:Biogenesis,FunctionandRoleinCancer.Cu

rr.Genomics.2010.

36. [LawrieCH.MicroRNAsinhematologicalmalignancies.BloodRev2013;27

:143-54..(33)Quelquesmicro-ARNontunrôlec.

37. Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, et al. Frequent deletions and down-regulationof micro- RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chroniclymphocytic leukemia.ProcNatlAcadSciUSA2002;99:15524-9.

.38.Venturini,L.etal.ExpressionofthemiR-17-92polycistroninchronicmyloide

leukemia(CML)CD34+cells.Blood2007.

39.Fallah,P,etal.ExpressionpatternofkeymicroRNAsinpatientswithnewlydiagnosedchronic myloide leukemia in chronic phase . Int .J .Lab. Hematol

,2015.40.MachovàPolàkovà,K,etal.ExpressionpatternsofmicroRNAsassociatedwithC

MLphasesandtheirdiseaserelatedtargets,Mol.Cancer,2011.

41..Wang,W,-Z.etal.SilencingofmiR-21sensitizesCMLCD34+stem/progenitor

cellstoimatinib-inducedapoptosisbyblockingPI3/AKTpathway.Leuk.Res.2015.

42.ZhanH,CardozoC,RazaA.MicroRNAsinmyeloproliferativeneoplasms.BrJHaematol20

13;161:471-83.Et

43.Mi S, Lu J, Sun M, et al. MicroRNA expression signatures accurately

discriminateacutelymphoblasticleukemiafromacutemyeloidleukemia.ProcNatlAcadS

ciUSA2007;104:19971-6.

44..[VenturiniL,BattmerK,CastoldiM,etal.ExpressionofthemiR-17-92polycistron in chronic myeloid leukemia (CML) CD34+ cells. Blood 2007 ; 109 :4399–4405.(41).Chez cespatients,après

45. Agirre,X.etal.Down-regulationofhsa-miR-10ainchronicmyloideleukemia CD34+cellsincreasesUSF2-mediatedcelgrowthMol.CancerRes.MCR,2008.

46. Flamant,S,etal .Micro-RNAresponsetoimatinibmesylateinpatientswith chronicmyloideleukemia.Haematologie,2010.

47. GordonJE,WongJJ,RaskoJE.MicroRNAsinmyeloidmalignancies.BrJHaematol2013;162162-76(44)

48. EiringAM,HarbJG,NevianiP,etal.miR-328functionsasanRNAdecoytomodulate hnRNP E2 regulation of mRNA translation in leukemic blasts.Cell 2010 ;140:652-65

49. Medina ,P , P., Nolde , M . & Slack , F , J, OncomiR addiction in an in vivo modelofmicroRNA-21-inducedpre-B-celllymphoma,Nature,2010.

50..Zhu , H , Han , C, & Wu , T, MiR-17-92 cluster promotes hepatocarcinogenesis ,2015.

51. Hayes,J.,Peruzz,P,P,&Lawler,S,MicroRNAsincancer:biomarkers,functionsandtherapyTrendsMol.Med.2014.

52. Saitoetal.,2006.

53. Madison,B,B,.etal.Let-7RepressesCarcinogenesisandastemCellPhenotypeintheIntestineviaRegulationofHmga2.PLOSGenet.11,e1005408,2015.

54. YiZheng(ed.),RationalDrugDesign:MethodsandProtocols,MethodsinMolecularBiolog**OI10.1007/978-1-62703-008-3_15,©SpringerScience+BusinessMediaNewYork2012.