

# L'ÉVOLUTION ACTUELLE DE LA CYTOGÉNÉTIQUE ET SON APPLICATION À L'HÉMATOLOGIE

Comunicació presentada el dia 17 de març de 1964 pels doctors

**J. RUFFIÉ**

Professor a la Facultat de Medicina.  
Director del *Centre Régional de Transfusion sanguine  
et d'Hématologie*. Tolosa de Llenguadoc.

i

**A. M. SALLES - MOURLAN**

Cap de Laboratori al *Centre Régional de Transfusion sanguine  
et d'Hématologie*. Tolosa de Llenguadoc.  
Col·laboradora tècnica principal a la Facultat de Ciències, Alger

La découverte par LEJEUNE de la trisomie mongolienne fut le point de départ d'importantes découvertes qui conduisirent à la description de nombreuses maladies par aberration chromosomique. Les plus fréquentes concernèrent au début les dysgénésies gonadiques.

Les techniques d'études des chromosomes qui se faisaient alors à partir de cultures de tissus furent rapidement appliquées à l'étude des tumeurs dans lesquelles elles révélèrent d'importantes malformations chromosomiques. Peu après, la technique de culture cellulaire et d'analyse du caryotype fut appliquée aux cellules du sang. Cette voie allait se montrer particulièrement féconde, puisqu'elle permit de mettre en évidence certaines anomalies chromosomiques caractéristiques dans diverses hémopathies malignes montrant ainsi leur origine cellulaire, puisque ces anomalies chromosomiques n'atteignent que la lignée malade respectant les clones cellulaires normaux et n'intéressent jamais les autres tissus du malade. Ces syndromes réalisent donc, du point de vue cytogénétique, de véritables mosaïques somatiques.

Bien que ces études soient à leur tout début, leur importance est déjà grande pour la compréhension de l'étiologie et de la pathogénie des leucoses. Mais cette recherche du défaut génétique macroscopiquement visible ne doit être qu'une étape entre les études cytologiques de l'hématologie classique et l'exploration moléculaire qui commence déjà — par la mise en évidence de «déviation» métaboliques dans la cellule malade— à révéler tout son intérêt.

Après avoir évoqué les techniques d'études des chromosomes humains, nous citerons les différentes aberrations que l'on peut constater dans les leucoses et nous essaierons de préciser comment, en l'état de nos connaissances, on peut envisager les rapports existants entre ces anomalies et le processus leucosique.

#### TECHNIQUES

Nous ne pouvons ici donner le détail des différentes méthodes utilisées que l'on peut trouver dans nos publications antérieures (1, 2, 4, 7, 12).

Nous rappellerons seulement la marche générale de ces techniques qui sont différentes suivant que l'on s'adresse à l'étude du sang périphérique ou à celle de la moëlle osseuse.

#### ÉTUDE DU SANG PÉRIPHÉRIQUE

Il s'agit ici d'une *véritable culture cellulaire* qui se déroule d'une manière rigoureusement stérile et où les mitoses sont excitées artificiellement par la phyto-hémagglutinine et bloquées en pseudo-métaphase par l'action de la colchicine au bout de 72 heures si l'on étudie les cellules normales et dans des délais plus brefs s'il s'agit de cellules malignes.

Un choc hypotonique est alors réalisé pour faire éclater les cellules et libérer les chromosomes qui se détachent ainsi très nettement les uns des autres et peuvent être étalés sur des lames porte-objet.

Après fixation et coloration de ces préparations les mitoses sont photographiées sur papier ce qui permet ensuite de découper les chromosomes et de les classer selon la nomenclature de DENVER qui permet l'établissement de caryotypes bien standardisés.

Cette technique de culture a été décrite pour la première fois par HUNGERFORD et collaborateurs en 1960, améliorée par LEJEUNE et modifiée par nous-mêmes sur quelques points de détail. On peut également utiliser la technique de HASTINGS et collaborateurs qui séparent les granulocytes en leur faisant phagocyter de minuscules grains de limaille de fer et en les retirant de la préparation grâce à un champ magnétique; les autres temps étant semblables à ceux de la technique d'HUNGERFORD.

#### ÉTUDE DE LA MOELLE OSSEUSE

*Il ne s'agit plus ici d'une culture cellulaire.* On se contente de bloquer par la colchicine, dès le prélèvement, les mitoses qui se produisent spontanément in vivo dans la moëlle. Ceci présente un intérêt considérable et révèle en pratique davantage d'anomalies dans les hémopathies malignes que la technique utilisant le sang périphérique.

Par ailleurs, les autres temps: choc hypotonique, fixation et coloration sont les mêmes que dans la méthode utilisant le sang périphérique.

#### CLASSEMENT DES CHROMOSOMES

Chez le sujet normal, on obtient ainsi 22 paires d'autosomes et une paire d'hétéro-chromosomes (chromosomes sexuels XY chez l'homme, XX chez la femme).

Les autosomes sont classés suivant trois critères: la taille, la position du centromère, la présence ou l'absence de satellites. On peut distinguer ainsi quatre groupes comme le montre la figure 1 que nous avons établie avec quelques modifications de détails d'après un diagramme dressé au Galton Laboratory de Londres par le Professeur PENROSE (classification de DENVER).

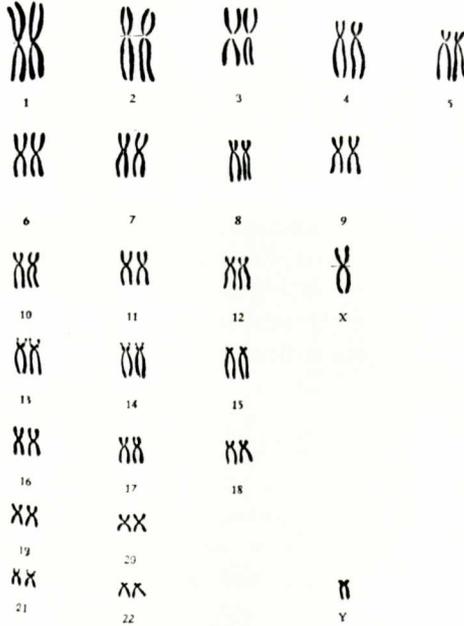


FIG. 1. — Schéma du caryotype normal masculin.

— Le premier groupe correspondant aux cinq premières paires est formé de grands chromosomes, les paires 1, 2, 3 comprenant les plus grands chromosomes de l'espèce humaine. Les 1 et 3 sont médiocentriques, les 2 sub-télocentriques. Les paires 4 et 5, de taille inférieure aux précédents, sont nettement télocentriques.

— Le deuxième groupe est formé de chromosomes moyens. Il comprend les paires 6 à 12 qui sont plus difficiles à identifier, mise à part la paire 6 télocentrique nettement plus grande que les autres: ils sont rangés par taille décroissante. Les 7, 9, 11 sont presque médiocentriques, les 8, 10 et 12 télocentriques.

— Le troisième groupe ou groupe intermédiaire comprend trois paires acrocentriques dont les 13 et 14 portent des satellites.

— Avec le quatrième groupe, on arrive aux chromosomes de petite

taille. Il comprend plusieurs sous-groupes: la paire 16 médiocentrique, les paires 17 et 18 télacentriques dont la taille va en diminuant; deux paires médiocentriques 19 et 20; deux petits chromosomes acrocentriques, les numéros 21 possédant deux satellites généralement assez visibles et les 22.

En ce qui concerne les hétérosomes, les chromosomes X sont difficiles à distinguer des autosomes 6, alors que le chromosome Y est très caractéristique, de petite taille, acrocentrique, formé de deux grands bras épais à peu près parallèles.

## RÉSULTATS

Nous envisagerons tout d'abord les altérations chromosomiques puis les rapports qui peuvent exister entre ces altérations et les modifications de groupe sanguin observées au cours des leucoses. Nous terminerons par quelques considérations sur la signification et le rôle de ces altérations chromosomiques dans la genèse des leucoses.

### 1. LES ALTÉRATIONS CHROMOSOMIQUES

Nous les décrirons successivement dans les processus chroniques puis dans les processus aigus en insistant tout particulièrement sur celles que l'on rencontre au cours de la leucémie aiguë myéloblastique en raison des problèmes qu'elles soulèvent.

#### *Leucémie myéloïde chronique*

C'est NOWELL et HUNGERFORD qui en 1960 décrivent dans le sang d'un sujet atteint de leucémie myéloïde chronique un petit chromosome anormal acrocentrique du groupe 21-22 auquel ils donnèrent le nom de chromosome Philadelphie. Il semble être produit par une délétion d'un petit acrocentrique normal, la partie cassée étant perdue ou peut-être transloquée sur un autre chromosome où elle pourrait passer inaperçue en raison de sa petite taille. Le chromosome Philadelphie est présent pendant les poussées évolutives dans les granulocytes du sang périphérique et de la moëlle osseuse. Il est absent des lymphocytes, ce qui explique le faible pourcentage de chromosome Philadelphie observé dans les cultures du sang périphérique. Après traitement, TOUGH a pu montrer que si le chromosome Philadelphie est également absent des tissus sains du malade il est par contre présent dans les mégacaryoblastes et très vraisemblablement

blement dans les érythroblastes. Ce fait est important car il apporte un argument de poids à la théorie faisant descendre l'érythroblaste et le myéloblaste d'une même cellule souche (Figure 2).

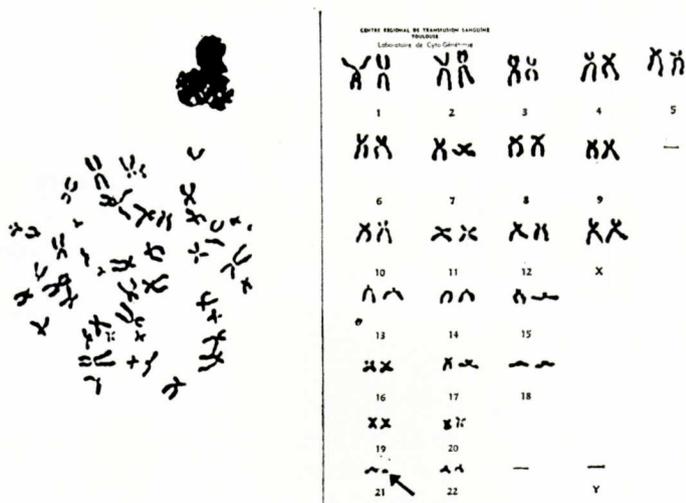


FIG. 2. — Leucémie myéloïde chronique. Le chromosome Philadelphie est marqué par une flèche.

Le chromosome Philadelphie disparaît du sang périphérique pendant les périodes de rémission induites par la thérapeutique mais pourrait persister alors dans la moëlle. Certains auteurs pensent également qu'il disparaît lors de la transformation terminale aiguë de la leucémie myéloïde chronique, mais cela n'est pas démontré.

Il est difficile d'évaluer avec certitude la fréquence de cette anomalie chromosomique bien qu'une centaine de cas aient été jusqu'à présent étudiés. HUNGERFORD la considère comme très fréquente (25 fois sur 35 cas), mais il utilise surtout une technique de culture de moëlle qui, nous l'avons vu, donne des résultats plus souvent positifs. BAIKIE et COURT BROWN, par contre, n'observent pas de chromosome Philadelphie sur 5 cas de leucémie myéloïde chronique étudiée. Nous-mêmes avons rencontré trois fois cette anomalie sur 6 malades ayant donné des caryotypes interprétables, une fois sur une culture de moëlle, deux fois sur une culture de sang périphérique (Les 3 cas négatifs avaient été étudiés uniquement sur sang périphérique).

Il est probable que le chromosome Philadelphie peut être décelé dans la majorité des cas de leucémies myéloïdes chroniques, si on le recherche dans de bonnes conditions, c'est-à-dire soit dans la moëlle osseuse, soit

dans le sang périphérique en période évolutive, en dehors de tout traitement.

Il est maintenant démontré que l'ADN chromosomique agit sur le métabolisme cellulaire per l'intermédiaire de diastases. Toute anomalie chromosomique perturbera donc la synthèse diastasique de la cellule. Malheureusement, les connaissances des biochimistes sont encore peu avancées dans ce domaine (15). Toutefois, l'exemple des variations du taux leucocytaire des phosphatases alcalines au cours de diverses anomalies chromosomiques mixtes mérite d'être cité: les mongoliens qui possèdent trois chromosomes 21 ont un taux des phosphatases alcalines dans un rapport de 3 à 2 pour le sujet normal qui lui ne possède que deux chromosomes 21 ; les leucémiques chez lesquels on constate fréquemment soit une altération d'un chromosome 21 (Phi), soit une perte complète de l'un de ses éléments ont un taux des phosphatases alcalines égal à la moitié de celui des sujets normaux (taux 1 à 1,5, si 2 représente le taux du sujet normal).

Il est donc possible que le gène contrôlant la synthèse des phosphatases alcalines soit situé sur un chromosome 21.

Nous verrons plus loin que ce chromosome intervient peut-être dans le contrôle génétique des groupes sanguins du système ABO.

ATKINS et TAYLOR ont rencontré chez un malade atteint de leucémie myéloïde chronique, en plus du chromosome Philadelphie, une disparition complète d'un petit acrocentrique. TOUGH et coll. ont également décrit des cas semblables, et pensent que le chromosome manquant est peut-être le chromosome Y.

#### *Splénomégalie myéloïde avec myélofibrose*

Cette affection n'a pas fait l'objet d'un grand nombre de publications. NOWELL et HUNGERFORD ont rencontré une fois l'absence d'un chromosome du groupe 6-12 dans un certain pourcentage de caryotypes provenant d'un malade atteint de cette affection.

COURT-BROWN a fait des constatations similaires dans trois cas sur 15 étudiés.

#### *Maladie de Waldenstrom*

Quatre auteurs ont décrit un chromosome supplémentaire de taille anormalement grande, mais à la position du centromère variable suivant le cas.

— BOTTURA a observé un centromère subterminal, ce qui réalise une image très particulière à laquelle DE GROUCHY devait donner ultérieurement le nom de chromosome  $K_2$ .

- PFEIFFER rencontre un centromère submédian.
- GERMAN et BENIRSCHKE un centromère médian.

D'après PATAU, il est possible qu'il s'agisse là d'un isochromosome formé à partir du chromosome 2.

### *Myélome multiple*

Nous n'avons trouvé qu'une observation dans la littérature se rapportant à cette affection, celle de BOTTURA et FERRARI qui ont constaté dans la culture de moëlle d'un tel malade un tiers de cellules normales et 2/3 de cellules à 45 chromosomes par perte d'un petit acrocentrique du groupe 21-22 ou peut-être Y.

### *Leucémie lymphoïde chronique*

Nous n'avons pas relevé de publications mentionnant des altérations chromosomiques dans cette affection. Nous-mêmes avons obtenu des caryotypes analysables chez 4 malades de ce type sans observer d'anomalie.

### *Leucémie aiguë myéloblastique et hémocytoblastique*

A ce jour, ce sont les mieux étudiées. Mais le plus souvent, les caryotypes observés sont normaux, comme ce fut le cas 14 fois sur 18 dans nos propres études. Dans quelques cas, il y a coexistence chez le même malade de cellules à caryotype anormal et de cellules présentant 46 chromosomes normaux, ce qui évoque la prolifération de clones pathologiques. Les anomalies elles-mêmes sont très différentes les unes des autres, contrairement à ce que nous avons rencontré dans la leucémie myéloïde chronique on observe des anomalies systématisées et des anomalies non-systèmeatisées par lesquelles nous commencerons.

— *Les anomalies non-systèmeatisées* peuvent elles-mêmes se subdiviser en deux groupes: les anomalies numériques et les anomalies de structure que nous envisagerons successivement.

Les anomalies numériques ont été décrites par BAIKIE et coll. Il s'agit de variabilités d'apparence anarchique ce qui ne permet pas d'isoler de clones cellulaires autonomes et sur lesquels nous n'insisterons pas en raison de leur atypie.

Les anomalies de structure ont été vues en premier par HUNGERFORD dans les leucémies myéloblastiques de l'enfant. Il s'agit de délétions et de translocations pouvant parfois aboutir à la constitution de chromosomes présentant un aspect particulier et auxquels DE GROUCHY a donné

plus tard le nom de  $K_1$ . Nous reviendrons plus loin sur ce point. Toutes les paires chromosomiques peuvent être touchées par ces altérations, mais elles portent plus fréquemment sur des chromosomes du groupe 6-12.

Dans la grande majorité des cas elles sont variables chez un même malade d'une cellule à l'autre et ne paraissent pas appartenir à des cellules constituant des clones homogènes. Leur fréquence et leur diversité peut augmenter avec la durée de la maladie et les diverses thérapeutiques. Il est donc possible que ces anomalies apparemment anarchiques aient un caractère accidentel et soient provoquées par la thérapeutique, au moins en partie.

— *Les anomalies systématisées* peuvent porter soit sur un chromosome de la paire 21, soit sur un chromosome du groupe 6-12.

a) Les anomalies portant sur la paire 21 ont été décrites par nous pour la première fois avec J. LEJEUNE chez 4 malades présentant dans le sang périphérique des cellules à caryotype normal et des cellules à 45 chromosomes par perte d'un petit acrocentrique probablement de la paire 21 (3, 9, 15) (figure 3).

Par contre, les caryotypes obtenus à partir d'une biopsie cutanée étaient normaux, ce qui montre bien que l'anomalie chromosomique ne concerne que les cellules pathologiques.

Ces observations sont à rapprocher de celle de FORTUNE et coll. qui avaient rencontré un chromosome Philadelphie, spécialement petit dans un cas de leucémie aiguë myéloblastique également.

Il faut également insister sur le fait que les cellules anormales poussent plus vite et moins longtemps que les cellules normales. Un blocage de mitoses effectué dans des délais normaux, c'est à dire 72 h, peut ne révéler que des cellules normales alors qu'un blocage plus précoce, par exemple au bout de 24 h, décèle un pourcentage important de cellules pathologiques (8).

De même le pourcentage de cellules anormales décroît rapidement chez le malade traité comme on l'avait déjà observé pour le chromosome Philadelphie dans les leucémies myéloïdes chroniques. Ceci est donc en faveur d'une certaine spécificité de ce type particulier d'altération chromosomique et l'oppose aux altérations non systématisées que nous venons de voir et qui paraissent augmenter au contraire avec les agressions thérapeutiques.

Il est donc important de faire les cultures au début de l'affection, avant tout traitement, et de pratiquer un blocage précoce si l'on veut saisir le maximum d'anomalies chromosomiques.

b) Les anomalies portant sur le groupe 6-12 ont été mises en évidence par divers auteurs qui notent le plus souvent une surnumération d'une

paire de ce groupe. Nous discuterons plus loin la signification de ce processus. Dans d'autres cas, il s'agit d'anomalies de structure.

Deux observations méritent d'être étudiées à part, parce que ces malades n'avaient pas été traités avant l'étude chromosomique, que l'anomalie

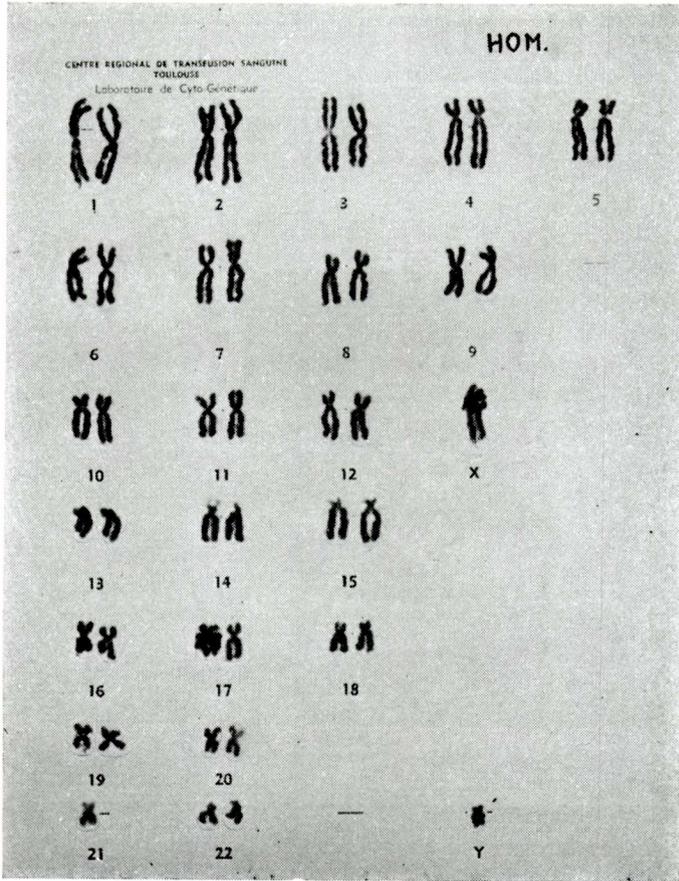


FIG. 3. — Leucémie aiguë. Haplosomie du chromosome 21.

s'y trouve particulièrement nette et qu'enfin on pouvait observer simultanément une modification des antigènes ABO érythrocytaires.

Le premier cas a été observé par LEJEUNE qui, étudiant le caryotype une délétion des bras longs d'un chromosome du groupe 6-12. SALMON a pu mettre en évidence deux populations d'hématies chez ce malade, l'une du groupe A<sub>1</sub> correspondant au groupe ABO initial, l'autre présentant un antigène A modifié.

Le deuxième cas a été étudié par nous-mêmes (11): il s'agissait d'un sujet atteint d'une leucémie aiguë myéloblastique dont la culture de moëlle révélait 50 % de cellules à caryotype normal et 50 % de cellules présentant des altérations caractéristiques.

— constriction siégeant sur le bras long d'un chromosome du groupe 6-12 pouvant aller jusqu'à la délétion complète (Figure 4).

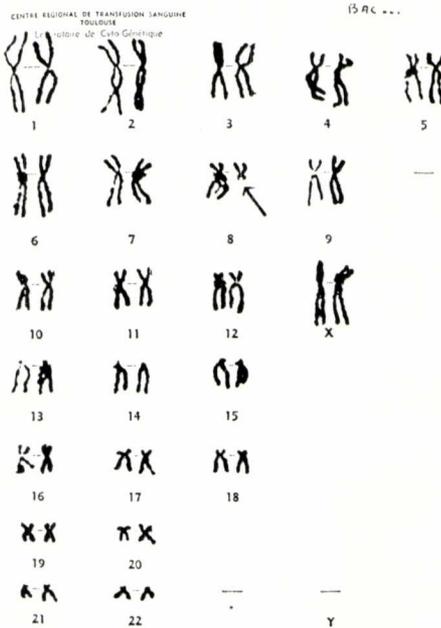


FIG. 4. — Leucémie aiguë. La délétion chromosomique est indiquée par une flèche.

— présence d'une altération analogue d'un chromosome 4-5 dans certaines cellules seulement.

— Présence dans certaines cellules d'éléments acentriques surnuméraires semblant correspondre aux parties détachées du chromosome 6-12 (Figure 5).

Ce malade présentait également deux populations d'hématic:

— 3 à 5 % d'entre elles étaient du groupe A.

— 95 à 97 % étaient modifiées: elles n'étaient pas agglutinées par les sérums anti-A mais étaient capables de les absorber complètement et d'éluër les anticorps anti-A.

Elles n'étaient pas non plus agglutinées par les anti-H et ne les absorbaient que partiellement.

*Leucémies aiguës lymphoblastiques*

Dans un certain nombre de cas, on a observé ici des anomalies non systématisées comparables à celles dont nous avons parlé plus haut mais

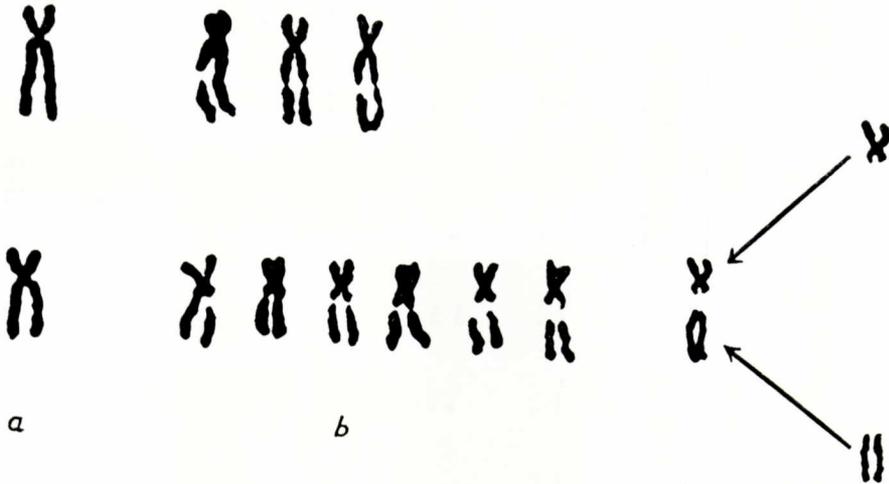


FIG. 5. — Diverses étapes de mêmes altérations chromosomiques observées dans plusieurs caryotypes appartenant à un malade atteint de leucose aiguë myéloblastique.

DE GROUCHY et M. LAMY ont décrit un cas plus intéressant où il existait un clone cellulaire présentant une délétion du bras long d'un chromosome moyen 6-12.

Ceci ressemble tout à fait à ce que nous avons observé dans un cas de leucémie aiguë myéloblastique mais il est particulièrement intéressant de noter que dans ce cas où l'altération porte sur la lignée lymphoïde il n'y a pas de modification de groupe sanguin.

*Leucémies aiguës à monoblastes*

Chez un malade atteint de leucémie aiguë à monoblastes M. J. BERNARD et TANZER auraient observé un chromosome anormal de grande taille, peu différent de ceux que ont été décrits dans la maladie de Waldenstrom (16).

*Leucémies aiguës à cellules réticulaires*

Nous avons eu l'occasion d'étudier un malade atteint de leucémie aiguë à cellules réticulaires dont l'étude chromosomique a révélé un grand nom-

bre d'anomalies non systématisées parmi lesquelles on notait dans certaines cellules la présence d'un chromosome  $K_1$  et dans d'autres un chromosome  $K_2$  selon la nomenclature de DE GROUCHY (11) (Figure 6).

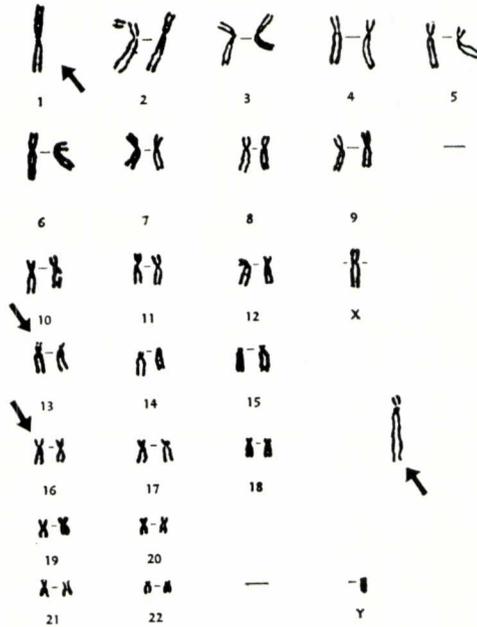


FIG. 6. — Leucémie aiguë à cellules réticulaires. Présence d'un chromosome  $K_1$ .

Cet auteur avait en effet décrit de tels chromosomes d'une part dans des cellules cancéreuses provenant soit d'un cancer de l'ovaire, soit d'un cancer du sein et d'autre part dans des cellules normales irradiées *in vitro*. D'autres anomalies non systématisées étaient également rencontrées dans ces conditions.

Fait important à noter, notre malade était radiologiste et sa leucose vraisemblablement provoquée par des radiations auxquelles il était professionnellement exposé.

En résumé, de nombreuses anomalies chromosomiques ont été observées dans les leucoses mais il faut noter qu'il n'a pas été possible d'en mettre en évidence chez tous les leucémiques et que, chez un malade, toutes les cellules ne paraissent pas atteintes:

— dans le sang périphérique seuls certains clones cellulaires correspondant probablement aux cellules pathologiques portent l'anomalie, les autres cellules étant normales.

— dans les tissus on n'observe jamais d'anomalies chromosomiques contrairement à ce que l'on peut voir chez les sujets porteurs d'aberrations chromosomiques congénitales.

La leucose réalise donc bien une véritable mosaïque somatique, la «mutation» chromosomique n'intéressant que certaines cellules sanguines.

Si l'on observe parfois des anomalies difficiles à classer, *d'autres par contre paraissent plus caractéristiques* et peut-être plus spécifiques, elles atteignent :

— un chromosome de la paire 21 qui diminue de taille, c'est le chromosome Philadelphie des leucémies myéloïdes chroniques, ou qui peut même disparaître, c'est l'aplosomie 21 des leucémies aiguës myéloblastiques.

— un chromosome du groupe 6-12 qui peut être le siège soit de constriction soit de délétion à moins qu'on n'observe au contraire un chromosome supplémentaire de cette paire. Ces variations opposées s'observant toutes deux dans la leucémie aiguë myéloblastique.

## RAPPORT ENTRE LES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES ET LES MODIFICATIONS DE GROUPES SANGUINS

Très tôt, on a été tenté de relier entre eux trois faits :

— la synthèse des antigènes des groupes sanguins qui se fait dans l'érythroblaste sous contrôle génétique.

— les modifications des groupes sanguins ABO qui sont fréquentes dans les leucoses.

— les anomalies chromosomiques chez ces mêmes malades. Nous envisagerons successivement ces trois points.

### 1. SYNTHÈSE DES ANTIGÈNES DE GROUPES SANGUINS DU SYSTÈME ABO

Ces antigènes sont formés à partir d'une substance fondamentale : un mucopolysaccharide synthétisé selon un mécanisme inconnu. Comme le montre la figure 7 un système génétiquement indépendant du locus ABO et composé de deux gènes allèles X et x transforme ce substrat initial en substance H. Les gènes du locus ABO interviennent alors :

— Le gène O est «silencieux», il ne provoque sans doute aucune transformation de la substance H qui s'accumule dans les globules rouges du sujet qui est alors de groupe O.

— Le gène B transforme cette substance H en totalité ou en partie en antigène B, le sujet est alors B (ou AB s'il porte aussi le gène A).

Les gènes A ( $A_1$ ,  $A_2$ ,  $A_3$ , etc....) transforment le substance H en totalité ou en partie en antigène A et le cas échéant en  $A_1$  selon le phénotype du sujet comme le montre le graphique.

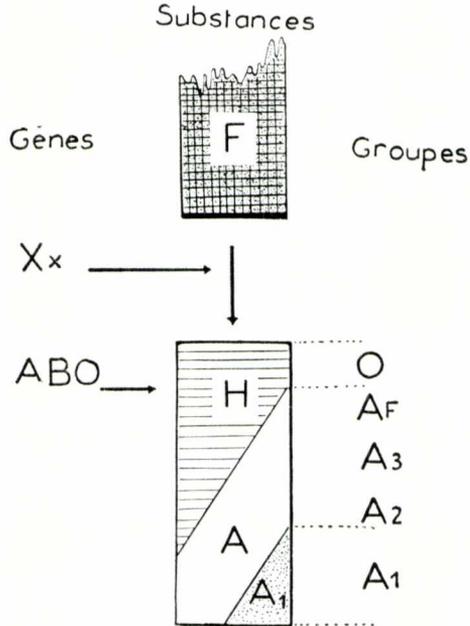


FIG. 7. — Synthèse des antigènes de groupe sanguin.

## 2. MODIFICATION DES GROUPES SANGUINS DANS LES LEUCOSES

Dans tous les cas, il s'agit d'une modification portant sur un antigène du système ABO. Elle peut exceptionnellement être associée à une modification du système Rhesus, MN ou Lewis.

Les anomalies de groupe sanguin n'ont pas été reconstrées avec la même fréquence dans tous les types de leucose. Le plus souvent, il s'agit de leucémies atteignant la lignée granulocytaire; si l'on relève les cas signalés dans la littérature, on trouve en effet:

- 8 leucémies aiguës
- 15 leucémies aiguës myéloblastiques
- 1 leucémie myéloïde chronique
- 1 leucémie à éosinophiles.

Deux fois seulement, il s'agissait de leucémie lymphoïde chronique.

Signalons également le pourcentage élevé de formes aiguës (23 sur 27).

Dans tous les cas, il s'agit d'une diminution qualitative ou quantitative ou même de la perte d'un antigène A, B ou H.

Par exemple, un sujet  $A_1$  devient A faible ou même O, ou bien il s'agit d'un sujet O dont la quantité de substance H érythrocytaire paraît décroître.

En aucun cas, cela ne peut s'expliquer par l'intervention d'un facteur extérieur aux globules rouges car :

— très souvent la maladie n'a pas été traitée,

— si l'on injecte des globules rouges  $A_1$  à un leucémique ayant subi une modification de groupes, ses globules restent inaltérés pendant plusieurs semaines en sont toujours  $A_1$  comme l'a démontré SALMON.

— Enfin, dans ces modifications de groupe ABO, les antigènes érythrocytaires ne sont pas seuls touchés il y a également modification de la structure des anticorps réguliers comme l'a démontré SALMON en étudiant les propriétés thermodynamiques des anti-B de ces malades. Ceci implique l'intervention d'un facteur génétique intervenant lors de la synthèse des antigènes de groupes sanguins ou de leurs précurseurs.

### 3. RAPPORT ENTRE LES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES ET LES MODIFICATIONS DE GROUPES SANGUINS

Certaines constatations permettent de soupçonner que le chromosome 21 renferme peut-être le locus des gènes ABO :

— les mongoliens qui ont 3 chromosomes 21 au lieu de 2 ont une fréquence de groupe A supérieure à celle des sujets normaux comme l'ont montré SHAW et GERHOWITZ.

— SHAW a décrit une famille présentant une translocation d'un chromosome 21 sur le chromosome 13 et a montré que le groupe ABO était toujours hérité avec le chromosome anormal.

Les altérations du chromosome 21 pourraient expliquer une partie des modifications de groupes sanguins observés dans les leucoses. En effet, le chromosome Philadelphie a été retrouvé aussi bien dans les globules blancs que dans les globules rouges des sujets atteints de leucémies myéloïdes chroniques et l'on peut en déduire qu'une atteinte de la lignée granulocytaire s'accompagne d'une malformation érythroblastique. Celle-ci pourrait se traduire aussi par la perte d'un chromosome 21 dans les haplosomies 21 décrites au cours des leucoses aiguës myéloblastiques.

Si nous représentons par  $21^A$ , le chromosome portant le gène A et par  $21^O$  le chromosome portant le gène O, on peut écrire le génotype

d'un sujet homozygote  $21^A-21^A$ . Si l'un des ces chromosomes est perdu au cours du processus leucémique, le deuxième portant également le gène A, il n'y a pas de changement de groupe. Mais il en serait autrement dans le cas où le sujet est hétérozygote  $21^A-21^O$ . Si c'est le chromosome  $21^O$  qui est perdu ou modifié (transformation en Phi) le génotype devient alors  $21^A-$  ou  $21^A$ -Phi, le groupe ne change pas. Si par contre, c'est le chromosome  $21^A$  qui est perdu ou transformé en chromosome Philadelphie, le génotype deviendrait  $21^O-$  ou  $21^O$ -Phi, et dans ce cas, le sujet changerait de groupe et deviendrait O.

Mais cela ne peut expliquer les transformations du groupe A en groupe A faible ou les diminutions de substance H observées chez les sujets O; par ailleurs on n'a jamais constaté simultanément chez un même malade des modifications de groupes sanguins ABO et des altérations d'un chromosome du groupe 21.

Les altérations d'un chromosome du groupe 6-12 ont récemment retenu notre attention car les 2 seules observations de leucémie aiguë myéloblastique présentant cette anomalie avaient également une modification de groupe sanguin alors que le seul malade atteint de leucémie lymphoblastique présentant la même délétion chromosomique n'avait pas de modification des antigènes érythrocytaires. Ceci peut n'être qu'une coïncidence mais il est intéressant de souligner que le changement de groupe se produit seulement dans une atteinte de la lignée granulocytaire qui paraît s'accompagner toujours de modifications érythroblastiques.

Dans ces deux cas, la modification du groupe sanguin  $A_1$  de ces deux malades n'était pas une transformation en groupe O; en particulier le cas que nous avons étudié révèle un trouble de synthèse de la substance H. Ceci suggère fortement que le locus portant les gènes X x responsables de la synthèse de la substance H se trouve peut-être sur un chromosome du groupe 6-12, le 8 probablement, sur lequel nous avons observé la délétion.

#### RAPPORTS ENTRE LES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES ET LE PROCESSUS LEUCÉMIQUE

C'est un problème d'actualité mais qui doit être abordé avec prudence. Aussi, nous limiterons-nous à en rappeler certains faits qui permettent de soulever des hypothèses mais non de leur fournir une réponse en toute certitude.

1) Les anomalies chromosomiques n'ont pas été mises en évidence dans tous les cas de leucose.

Peut-être cela provient-il d'insuffisances techniques: blocage trop tardif des mitoses ou cultures pratiquées sur du sang alors qu'il serait sans doute préférable d'étudier les caryotypes sur des prélèvements médullaires.

Peut-être aussi certaines anomalies sont-elles trop minimes pour être décelées par nos techniques; produites à l'échelle moléculaire c'est par des techniques nouvelles qu'elles devront être recherchées.

Le fait que les anomalies chromosomiques n'ont pas été décelées dans tous le cas étudiés est donc insuffisant à notre avis pour dire qu'elles n'interviennent pas dans tous les cas de processus leucosique.

2) Les anomalies chromosomiques peuvent être reproduites par les agents capables d'induire les leucémies.

*Les radiations ionisantes* ont un rôle leucémigène bien connu non seulement chez l'animal de laboratoire, mais aussi chez l'homme: une plus haute fréquence de leucoses a été constatée aussi bien chez les radiologistes et les malades soumis à des irradiations nombreuses que chez les survivants d'Hiroshima et de Nagasaki.

L'irradiation de certains territoires osseux (radiothérapie ou radio-diagnostic) y provoquent l'apparition de cellules présentant des anomalies chromosomiques, de même que l'irradiation in vitro de cultures leucocytaires crée des malformations chromosomiques typiques comme l'a bien démontré DE GROUCHY.

*Les virus* ont un rôle leucémigène bien connu chez l'animal et qui peut être soupçonné chez l'homme.

Or, SHEIN et ANDERS, KOPROXSKI et collaborateurs ont montré que l'infestation de cultures de cellules humaines par un virus, le virus SV<sub>40</sub> provoque des modifications chromosomiques et en particulier une haplosomie 21 telle que nous avons pu la constater dans quatre cas de leucose myéloblastique.

Signalons enfin que NICHOLS et collaborateurs ont observé des cassures chromosomiques chez 8 sujets atteints de rougeole, ce qui illustre bien l'action possible des virus in vivo chez l'homme.

*Certaines substances chimiques* ont un rôle leucémigène bien prouvé: pour certaines d'entre elles, CONEN et LANSKY ont montré qu'elles pouvaient être aussi capables d'entraîner des aberrations chromosomiques qu'elles soient administrées in vivo ou mélangées in vitro aux cultures cellulaires, c'est le cas par exemple des moutardes à l'azote.

Il paraît donc y avoir association fréquente entre *malformation chromosomique et leucémie*.

Sont-elles la cause ou seulement la conséquence de la leucémie? Ou bien la cause qui provoque la leucémie provoque-t-elle aussi la malformation qui ne serait alors qu'un épiphénomène?

Un dernier point mérite d'être discuté: quel est le processus qui déclenche («l'explosion leucosique») à partir d'une anomalie chromosomique accidentelle (simple cassure chromosomique survenant sous l'effet du hasard, lors d'une mitose d'une cellule jeune de la lignée sanguine, ou même perte d'un chromosome de petite taille)?

Pour les leucoses myéloïdes chroniques, le processus leucosique paraît bien être lié, au moins dans la grande majorité des cas, à la cassure d'un 21. Dans les leucoses myéloblastiques aiguës, le processus semble s'accompagner parfois d'une absence de 21, ou d'une cassure d'une paire 6-12. LEJEUNE a émis une hypothèse au terme de laquelle une anomalie portant sur le 21 entraînerait un processus de surnumération chromosomique atteignant peu à peu chaque paire. Ce processus fut bien mis en évidence par cet auteur chez une jeune malade mongolienne atteinte de leucose aiguë. Quand l'anomalie atteindrait une certaine paire du groupe 6-12, il y aurait brusquement apparition du phénomène leucosique proprement dit. Dans ce cas, on pourrait penser que la leucose apparaît en deux temps:

- 1) Anomalie sur un chromosome 21 créant un déséquilibre génétique entraînant une évolution clonale de surnumération chromosomique.
- 2) A un certain moment de cette évolution, atteinte d'un certain chromosome d'une paire 6-12 qui contrôlerait peut-être la leucopoïèse et à partir de laquelle éclate le processus leucémique. Chez certains malades, comme celui dont nous rapportons l'observation, une atteinte se produisant d'emblée sur la paire privilégiée 6-12 pourrait entraîner l'apparition de la leucose aiguë en dehors de toute intervention du chromosome 21. C'est là une simple hypothèse qui doit servir de base aux travaux ultérieurs.

#### BIBLIOGRAPHIE

1. J. RUFFIÉ: *L'étude des chromosomes de l'homme. Techniques et résultats*. Conférence faite en Chine à Peking, Tien-sin, Changai, Canton.
2. J. RUFFIÉ: *Méthode de recherches des chromosomes humains dans les cellules du sang circulant. Application à l'étude des hémopathies*. «Maroc Médical», 444: 514, 1962.
3. J. RUFFIÉ, J. LEJEUNE: *Deux cas de leucose aiguë myéloblastique avec cellules sanguines normales et cellules haplo-21 ou 22*. «Revue Française d'Études Cliniques et Biologiques», 7: 644, 1962.
4. J. RUFFIÉ: *Les techniques d'études des chromosomes dans les cellules du sang circulant*. «Toulouse Médical», 63: 207, 1962.
5. J. RUFFIÉ: *Les maladies par aberrations chromosomiques*. «Toulouse Médical», 63: 223, 1962.
6. J. RUFFIÉ: *Les chromosomes des cellules du sang au cours des hémopathies*. «Toulouse Médical», 63: 249, 1962.
7. J. RUFFIÉ: *Los métodos de estudio de los cromosomas de las células de la sangre y la aplicación en las hemopatías*. «Revista de Hematología y Hemoterapia», 3: 13, 1962.
8. J. RUFFIÉ: *Modification des chromosomes dans les cellules des leucémies aiguës*. «Nouvelle revue française d'hématologie», 3: 830, 1963.

9. J. RUFFIÉ, J. LEJEUNE, A. M. SALLES-MOURLAN: *Sur les anomalies chromosomiques rencontrées au cours des leucémies aiguës*. IXe Congrès International d'Hématologie, México, 1962.
10. J. RUFFIÉ, P. MARQUES, A. M. SALLES-MOURLAN: *Étude cytogénétique de deux tumeurs cancéreuses*. «C. R. Acad. Sciences» (A paraître).
11. J. RUFFIÉ, J. DUCOS, R. BIERME, Y. MARTY, AM SALLES-MOURLAN, P. COLOMBES: *Modification de groupe sanguin dans un cas de leucose myéloblastique; études immunologique et chromosomique*. «Nouvelle Revue Française d'Hématologie» (A paraître).
12. J. RUFFIÉ, P. COLOMBES: *Étude cytogénétique des cellules du sang*. «Transfusion» (A paraître).
13. J. RUFFIÉ, R. BIERME, A. M. SALLES-MOURLAN, P. COLOMBES: *Anomalies chromosomiques multiples découvertes au cours d'une hémopathie chez un malade ayant présenté un cancer cutané et exposé professionnellement à l'action des radiations ionisantes*. «Société d'Hématologie», Séance de Mai, 1964.
14. J. RUFFIÉ: *Cytogénétique de cellules du sang*. «Encyclopédie médico-chirurgicale Sang», 3-1963, 12 000 K 10.
15. H. JÉROME: *Chromosomes et enzymes*. «Ann. Biol. Clin.», 22: 59, 1964.
16. H. JÉROME: *Communication personnelle*.
17. R. SOREL, J. RUFFIÉ, J. DUCOS, A. DALOUS, R. BIERME: *Observation d'un cas de leucose myéloblastique à deux populations de cellules sanguines (cellules normales et cellules haplo-21 ou 22)*. «Toulouse Médical», 63: 259, 1962.
18. M. SENDRAIL, J. RUFFIÉ, L. GLEIZES, A. SENDRAIL: *Les dysgénésies gonadales par anomalie numérique des chromosomes sexuels*. «Toulouse Médical», 63: 265, 1962.