

hémolyse.
mécanisme, méth d'étude.

I def

libération du contenu des gR, ph entraînant la libération des gR de la circulation sq.

hémolyse \rightarrow 2 faits \neq .

- physiologique, fin de vie des gR au bout de 120 j
- pathologique, résulte destruction inopérée des gR, $vi < 120$ j
"hyperhémolyse".

II hémolyse physiologique.

1) durée de vie des gR.

destruction au bout de 120 j, "vi" sur 4 mois.

siège de l'hémolyse au niveau de la m.o. (macrophages érythrocytaires).

atteinte faible % des érythroB médullaires avant maturation par destruction in situ. = érythropoïèse inefficace. (10%)

2) vieillesse

nbx altérations \neq , vi = usure des structures $\neq \rightarrow$ mb lipoprotidique, Hb, fraction hydrosoluble, Σ enz meé en métabolisme du gR.

ressources E fournies à 30% par la glycolyse anaérobie et

10% du squelette des pentoses phosphates.
 rimescence $\hat{=}$ modif physicochimique \rightarrow altérations
 structure et fonctions \neq .

- hb : avec perte de perméabilité, perméabilité, perte de la forme linéaire, \rightarrow charge électrique.
- \rightarrow transport de O_2 par Hb
- \rightarrow activité enz.

3) destruction.

captés par les MAC de la m.o., phagocytés puis
 digérés.

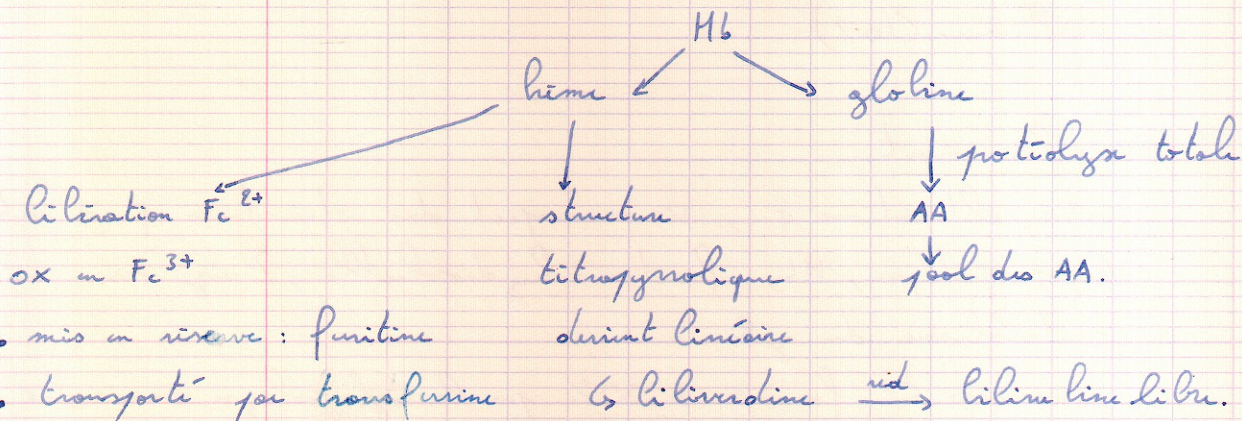
on ne connaît pas le mécanisme de l'hémolyse.
 libération du contenu des yR.

4) devenir des constituants

seul Hb est importante

- étape macrophagique médullaire
- ség
- hépatique
- digestive.

5) étape MAC + m.o.



b) étape sog

doit être lié à Alb car elle est insoluble.

est liposoluble \rightarrow se fixe au mir des ϕ du cerveau qd
conc trop forte \rightarrow myéhalopathie (MHNN)

c) étape hépatique.

métabolisme en 4 temps.

- transfert intra hépatocytaire
- fixation à une Pt cytoplasmique = protéine X
- glycosylation en présence glucuronyl transférase
 \hookrightarrow bilirubine conjuguée hydrosoluble.
- excrétion de voies biliaires, donne coloration jaune d'or.

d) étape digestive.

- de TD, ox et déconjuguée par entéro bactéries.
 \hookrightarrow sterc et urobilinogène.
 \hookrightarrow il \rightarrow cycle entero hépatique.
- urobiline éliminée de urine, donne coloration jaune.

\Rightarrow hémolyse physiolo = destruction quotidienne de $1/200^e$ de
la mass des gR, compensée par la production médullaire,
contrôlé par Epo.

III hémolyse pathologique.

destruction exagérée, liée à Δt vie des gR.

1) mécanismes.

selon intensité du processus responsable et l'altération des gR
on distingue 2 types: extravasculaire et intravasculaire.

ME

MI

→ HE

hémolyse chronique, de faible ou de moyenne intensité avec altérations globulaires modérées.

L'hémolyse s'étend à tous les organes qui contiennent des macrophages (rate, foie, m.o....).

on voit le catabolisme de Hb, mais très ↑. élimination biliaire lorsque capacités de conjugaison et élimination saturées.

↑ réabsorption par voie intestinale, ↑ uréolime de urine, ↑ stercobilinogène fécal.

b) HI

gR détrités de la vasoconstriction, de certaines circonstances. égressions sériques toxiques comme AsH_3 → libération de Hb de sé → catabolisme Hb ≠.

lyse intravasculaire → Hbémie.

Hb fixée par haptoglobine → formation complexe Hb-Hp tant que Hb < 135 mg Hb / 100 ml sé.

Le complexe Hb Hp est catabolisé en méthémalbumine hématine, méthHb. élimination rénale.

si Hb > 135 mg / 100 ml sé, le complexe est dégradé → Hbémie.

Les ϕ rénaux ou sont obstrués Fe^{3+} est désquamés

↳ hémoxidérémie (Fe^{3+} stocké en forme hémoxidérine).

e) causes.

L'gR typique de causes.

→ le gR porte en lui-même un défaut responsable de sa fragilité accrue. ≙ anémies hémolytiques vasculaires.

= patho mb, ou de Mb, ou d'un déficit enz → recouris-
siment de la $\frac{1}{2}$ vie des autoglobules marqués, celle des
alloglobules est normale.

→ possibilité hémolyse lorsque gR subit agression
extérieure qui entraîne sa destruction.

- facteur tonique
- " mécanique
- " thermique
- " immunologique

→ recourissement $\frac{1}{2}$ vie des auto et allo globules marqués.

3) conséquences

si hémolyse patho :] compensation médullaire =
érythroblastose médullaire ↑ → réticulocytes ↑.
compensation jusqu'à 7x la normale.

si compensation totale : hémolyse sans anémie.

si " partielle : " + anémie stable/progressive.

IV méthodes d'études.

en théorie, devant hémogramme → anémie normochrome normocytaire
ANN à rattacher à syndrome hémolytique.

une ANN possible = hémorragie, elle est soit connue.

en théorie, 4 gr de méth

- x authentifier hémolyse
- x type et siège de l'hémolyse
- x mécanisme
- x recherche d'étiologie.

1) authentification hémolyse.

a) recherche la régénération médullaire.

- x num réticulo sy \uparrow , si nb > 80 g/l.
- x myélogramme erythroblastique médullaire. \uparrow si $> 35-40\%$.
- x frottis sy, présence type et % des érythro B sy si présents.

b) recherche métabolisme acide.

- x dosage bili libre \uparrow si > 20 μ l/l
- x " Fu urique, \uparrow
- x stercobilinogène fécal \oplus
- x urobilinogène \oplus

c) exploration Δt in des g.R. (*)

- x méth \bar{a} la glycine marquée ^{14}C ou ^{15}N .
- x méth au ^{51}Cr qui se fixe sur la globine.
comptage routine \rightarrow det siège hémolyse. à réserver de
les cas complexes.

2) type et siège.

a) ME

- x \uparrow bili libre : dosage bili libre
- x urobilinurie \oplus
- x recherche stercobilinogène \oplus

b) MI

- x Hbémie \uparrow si > 20 mg / 100 ml sy
- x dosage Hp libre : \rightarrow (N = 0,3 à 2 g/l)
- x Hb uric et hémoxidurémie \oplus

3) micronisme

étude Δt vie des gR in allo ou/et auto transfusion avec gR marqués.

4) étiologies.

a) anémie corpusculaire.

- x étude frottis sz , recherche anomalies de forme
- x étude résistance globulaire (fragilité?) osmotique, micromique, acidité (test de HAD et CROSBY).
- x dosage Hb F (Σ de thalassémiques).
- x électrophorèse Hb (anomalie?)
- x dosage activité enz
H₂ déficite en G_6PD ou PK (pyruvate kinase)

b) anémie extra corpusculaire.

- x test Coombs direct
- x RACI (auto ou allo agglutinants)
- x titrage des agglutinins froids.

en pratique, le choix entre les \neq tests pour un patient donné est orienté par:

- x circonstances découverte anémie (brutale, chronique, intermittente)
- x importance de l'anémie.
- x signes cliniques associés. (ictère, splénomégalie...)
- x interrogatoire du sujet: ethnique, ATCD familiaux, contacts avec toxiques, prise de médicaments, \exists transfusions antérieures, etc...

les méth les + complexes ne st jamais faites en début du bilan.

1^{er} = hémogramme complet (num, indice, proctis)

+ en complément : num réticulo.

+ dosage hili libre.

puis les autres examens.

ds les rares cas où il n'y a rien pour orienter, \exists bilan d'hémolyse proposé par certains labos.

1 tube \rightarrow +ieurs tests.

dosage Mb plasm, Hp libre, étude résistance globulaire,

test Coombs indirect, RACI, agglutinations froides,

screening pour voir si déficit en G₆PD ou PK.

si \subset hémolyse \exists lors positivité d'un des tests parmi ceux-ci.

le diag étio = étape la + importante.

hémolyse convasculaire.

I def

lyse anormale des gR liée à un défaut constitutionnel le + surv
de nature congénitale. (≠ acquise par anémie extravascul.)
↳ regarder âge du patient.

II site / classification.

site concerné par le défaut: mb, Mb, enz.

1) anomalies de la mb.

arguments indirects: anomalies de forme des gR (po)
et ↑ fragilité globulaire (épreuve de "résistance globulaire
perturbée").

étude biochimique mb: alarder anomalies directement.

structure: 2 syst fonctionnels.

x couche lipidique de laquelle flotte des Pt intégrales
x à l'int: le cytosquelette, qui maintient la rigidité
et la forme du gR → maillage protéique.

(spectrine, ankirine, Pt 1-4)

x protéines d'ancrage: en brime

ds la majorité des cas, les anomalies st défauts
d'interaction avec la spectrine.

l'electrophorese sur le gel de PAA permet l'etude anormales fonctionnelles des \neq Pt.

analyse moleculaire et recherche mutation
↳ anomalies congenitales,] acquises.

a) congenitales.

→ spherocytose hereditaire.

= maladie de Rickovskii-Chauffard.

est la + Hz, touche Hs les races mult la blanche. affection autosomale dominante.

maladie hereditaire a revelation precoce: enfant ou jeune adulte presentent hemolyse et anemie chronique legere, splenomegalie, et retard statural-ponderal.

le diag est fait lorsque complications, lors pousses de hemolyse ou de lithiase biliaires.

donnees du diag: ictere, galeur, splenomegalie

biologie: signes de hemolyse, ANN

↑ reticulo,

↑ erythroB medullaire si myelogramme

↑ stercobilinogene fecal.

signes specifiques: presence de spherocytes sur frottis.

test d'autohemolyse ↑: destruction ↑ in vitro apres incub 37°C pdt 24h.

evolution: chronique

complication: troubles du dex, crise de deghelation aiguë favorisee par infection ou lithiase biliaire.

] cas de mutation de novo.



III: \emptyset , mutation pas connue. anomalie de la structure ou de son interaction avec les autres PT de structure.

III possible: splénectomie $\hat{=}$ suppression du site de destruction (ou délai de sons).

→ Elliptocytose héréditaire.

plus de 15% des gR st de forme elliptique. 3 formes.
toucher race blanche ou noire.

maladie latente. anomalie de structure au PT 4-1

→ sphérocytose héréditaire

diag fait lorsque 10 à 20% de gR $\hat{=}$ forme sphérique.
anomalie biologique associée: $\alpha\beta$ lipoprotéïnémie.

→ stomatocytose.

3) Acquises.

→ Hb une parasystique nocturne

= maladie de Marchiafava - Micheli.

lié à une hypersensibilité des gR. action hémolytique du complément.

chez adulte: poussées hémolytiques parasystique aiguë fait suite à la suite d'une infection ou une transfusion.

clinique: splénomégalie inconstante. ANN. pépinière.

test au sucrose \oplus

test de HAD \oplus (lyse en sérum acidifié)

évolution sur le mode chronique, Δ , poussées hémolytiques spontanées ou déclenchées. III: transfusion de culot de gR lavés

→ acanthocytose acquise.

visible sur frottis de cirrose éthylique avec insuffisance hépatof grave.

e) anomalies de Hb.

regroupent nbx anomalies congénitales qui atteignent certains races, certaines régions.

l'origine ethnique oriente le diag, qui est confirmé par électroph de Hb. anomalies de 2 types:

- défaut du syst de régulation de la synthèse protéique de la chaîne de globine
 - ↳ syndromes thalassémiques
- remplacement d'1 ou + ions AA → anomalies de structure
 - ↳ Hb anormales.

biochimie: modif charge électrique de la molécule.

↳ migration électroph modifiée → test diag important.

clinique: ictère car hémolyse H₂.

génétique: transmission autosomale, récessive ou dominante
⇒ prévenir formes graves par diag prénatal.

a) syndromes thalassémiques.

concerne chaîne α ou β de la globine.

→ β thalassémies

≡ formes les + H₂, répartition géo géographique particulière: le bassin méditerranéen.

formes clinique: 2 types, sévère ou mineure.

x forme majeure (homozygote) = maladie de Cooley.

anémie chronique sévère avec ictère apparaissant > 6^e mois.

biologie : anémie hypochrome microcytaire.

pu rénale : N ou ↑.

lectroφ : présence Hb F (foetale).

III : transfusion à vie (pb car effort Fe → surcharge)
avec dilatation de foie, + splénectomie (enlever site
de destruction).

possibilité réalisme diag prénatal.

* forme minime (hétérozygote)

anémie modérée ou polyglobulie minime.

lectroφ : Hb A₂ ↑

évolution asymptomatique.

→ α thalassémies.

région : extrême orient.

l'aspect clinique dépend du nb de gènes présentant
la mutation.

délétion des 4 α : incompatible avec vie ⇒ anasarque du
fœtus-placenta (= œdème).

3 α : Hb ou H

2 α : thalassémie minime

1 α : forme silencieuse.

↳ Hb anormale.

→ drépanocytose

sur chaîne β : Glu remplacé par Val en 6.

↳ précipitation Hb si pO₂ ↓

↳ gélification Hb, prend forme d'une faux.

région : sujets de race noire.

transmission autosomale récessive.
2 formes cliniques.

x forme homozygote.

clinique : subictère (hémolyse), urins dou lourens
(vese occlusions) lorsque \rightarrow pO₂, g R falciformes qui
passent mal de les capillaires.

biologie : anémie hémolytique.

. drépanocytes

. Φ cells 

. électroph : présence Hb S.

si urins répités : transfusions

handicap \rightarrow possibilité diag prénatal.

x forme hétérozygote.

presque asymptomatique.

test de falciformation \oplus : 1 gtl ség + 1 gtl de réduction
(métalesulfite de Na), les ovalocytes denturex devissent
des drépanocytes.

conseil génétique si union.

\rightarrow Hbons rares.

x Hbons C/D/E

= remplacement d'1 AA par un autre.

répartition géographique particulière

diag par électroph. peu de retentissements cliniq.

x Hb instables (structure III) favorise par prin médic.

x Hb Π = metHbémie ($\hat{=}$ Fe³⁺)

3) enzymopathie

C⁻E produite de gR = glycolyse, se déroule suivant voie Embden Meyerhoff ou voie des pentoses.

∃ 2 types enz. se défiant d'une enz → voie bloquée, → E et vieillissement accéléré → hémolyse accrue.

2 types déficients: pentose P ou voie normale.

a) déficient enz touchant voie des pentoses.

résumé à → G₆PD.

∃ défiant il provoque des agents oxydants, médicaments, etc... → sont capables déclencher hémolyse pathologique chez ces sujets.

Mg. touche 100 ∅ individus → risque.

ethnies touchées: race noire, juifs, bassin méditerranéen.

transmission: mode récessif lié au sexe.

symptômes: épisodes hémolytiques aigus déclenchés par facteurs oxygénés (infections, acidoles, ingestion de fèves).

∃ ≠ aspects cliniq. gravité ∆.

diag: ethnique, ATCD familiale, race ♂, notion de facteur déclenchant.

biologie: ANN

prise de corps de Heidys sur frottis, avec coloration au bleu de Neils.

dosage act enz par spectre

complète par étude du K_m et stabilité.

éventuellement, ∃ 2 variantes

x A, sujets noirs

x B, méditerranéens.

3 autres anomalies enz : glutathion oxydase
" réduction
" synthétase.

b) voie d'Embelen-Peyer-Hoff.

la plus répandue = \rightarrow PK (pyruvate kinase).

c'est le + Hz après celui en G₆PD.

G₆ anémie congénitale chronique.

déficit PK \rightarrow \rightarrow ATP intrag_R

Hz et répartition : 99 millions, sans spécificité raciale.

transmission autosomale récessive.

sympto : hémolyse hémique \bar{e} très grave

lio : fragilité osmolaire \uparrow , autohémolyse \uparrow qui est corrigée par apport d'ATP. aut enz PK \downarrow .

III : splénectomie si hémolyse importante.

3 autres : isokinases, 3 glycérophosphate kinase.

hémolyse extracorporelles.

lyse accrue des gR due à une agression extérieure.

la plus svt de nature acquise

classification: - non immunologique.

- immunologique.

I formes non immunologiques.


1) anémie hémolytique mécanique.

hémolyse due à un traumatisme des gR liés à des anomalies circulatoires.

x caractérisé par hémolyse intravasculaire:

- Hbémie libre

- Hb uric

- altération mb, formes schizocytes =  morceau de gR.

anomalies circulatoires diverses: présence corps étrangers intra-vasculaire (prothèse cardiaque), passage sv de pompes, tubes d'hémodialyse.

possibilité et atteinte des gR par plaque de fibrine néo formée.

2) anémies hémolytiques toxiques.

en dehors de tt déficit enzym et de toute sensibilisation des gR, lyse directe des gR sous effet substances ou médicaments exogènes.

x subst non médicamenteuses:

- métaux lourds.

. hydrogène arsénieux (H_3As)

. Cu (sel de cuivre des viticulteurs)

. Pb (hémolyse modérée si intoxic chronique = saturnisme
(hémolyse aiguë, accidentelle).

- sels métalliques, chlorate de Na, nitrobenzène, aniline.

- venins de serpents.

x subst médicamenteuses: destruction directe par
action oxydative sur Hb.

- phénacétine

- phénytoïne.

3) anémies hémolytiques d'origine infectieuses.

rare en France, liées aux toxines bactériennes, les
septicémies avec germes anaérobies (*Clostridium perfringens*),
staph, staph, E coli...

ou parasitaires: paludisme avec *P falciparum*, hémolyse
du parasite ou de la quinine chez un patient traité
de longue date.

II formes immunologiques

1) hémolyse liée à allo-immunisation.

x avec Ac neutralisants anti A ou anti B lors d'accidents
transfusionnels.

x liés à apparition ACI lors polytransfusion, grossesse...

x en rapport avec Ac anti rhésus (anti D) → Γ HNN. cliniq =
hémolyse intravasculaire massive ou retardée intratissulaire.

c) hémolyse liée à une auto-immunisation non médicamenteuse.

destruction γR d'un sujet par des Ac synthétisés par le sujet lui-même, dirigés \neq un déterminant Ag du γR sur érythrocytaire présents sur ces γR .

ces Ac sont produits à la suite anormale du fonctionnement du syst immun / tissu lymphoïde.

mise en évidence : test de Coombs direct (Ac présents sur γR)

lavage à 37°C, gardent en suspens mais que les autoAc fixés

ces Ac sont reconnus par des immuns sérums anti-globulines

polyvalents ou spécifiques (Ig G, Ig M, C)

+ élution : libère les Ac anti γR .

↳ confronte à panel de γR de type antigénique connu, et détermine spécificité et identité de ces Ac.

il est possible d'utiliser enz protéolytique pour neutraliser le test.

on peut déterminer l'activité thermique de ces Ac.

Ac chauds (37°C) ou froids (0-25°C) suivant amplitude thermiq.

production clinique \rightarrow forte anémie hémolytique intravasculaire

\rightarrow faible " " " " " "

sur le mode chroniq ou aigu

étiologies:

x idiopathiques ou primitives, isolées. 40% des cas.

x liée à maladie sous-jacente, au cours de Σd lymphoprolifératif.

- LLC

- lymphomes = atteintes ganglionnaires malignes.

↳ lymphome malin non Hodgkinien.

↳ maladie de Hodgkin.

maladies infectieuses virales (PNI, grippe, HIV)
+ divers : lupus, cirrhose, PR.

3) hémolyse liée à une autoimmunisation médicamenteuse.
↑ consommation médic → ↑ effet iatrogène.
donne 2 types d'hémolyse.

x elles liées aux autoAc d'origine médicamenteuse dirigés
≠ Ags appartenant à la mb des gR, définissent un
processus auto immun.

1 seul médic : α méthyl dopa (hypotenseur)

x elles liées aux Ac anti-médicaments (ou leurs métabolites).
ces Ac st témoin état immuno allergique.
↳ pénicilline, phénacétine...

l' hémolyse auto immune type α M. dopa touche 1 à 2%
des patients traités par ce produit avec forte posologie.
les autoAc mis en évidence par test de Coombs direct
et st type Ig G. ils apparaissent après +ieurs mois ou
années. ces Ac st dirigés ≠ les Ags du syst rhéus.
⇒ effets retardés.

l' hémolyse immuno allergiq : les Ac se dev après prise + ou
prolongée. provoque lors réabsorption l'état hémolytique
aiguë qui régresse dès l'arrêt du III.

2 mécanismes d'hémolyse

x le médic se fixe et combine sur le gR → dev Ac
anti (médic + gR = Ac) → lyse gR.

x mécanisme complexe immunitaire : le médic doit être couplé

Pen, céfotaxime, strepto
tétracycline.

paracétamol, oxygène
quinine, sulfamides.

est une prot (A1b). formation Ac anti(médic + A1b) → formation
complexe AgAc immunologique absorbé rapidement par
le gR → entraîne sa destruction par activation du C.
⇒ test de Coombs direct type complément ⊕.

clinique: hémolyse aigüe ou subaigüe = prédominance vasculaire.
importante de l'interrogatoire, arrêt du médicament = guérison
intérêt à avoir reconnu le médicament allergène.

modes de transmission
des caractères héréditaires.

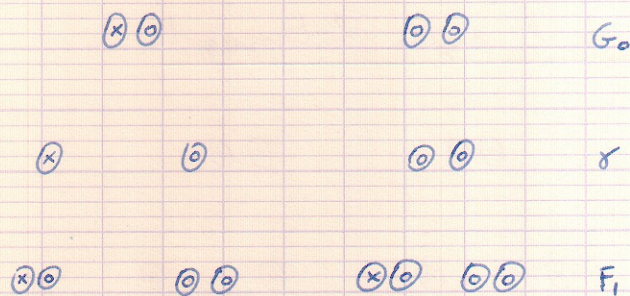
I transmission sur le mode dominant autosomique.

Le dev de l'anomalie est lié à la présence sur 1 seul des 2^e paire donnée du gène muté.

(x) allèle muté (o) allèle normal

le porteur est atteint car présence d'1 seul allèle muté suffit.

1) union porteur atteint + porteur sain.



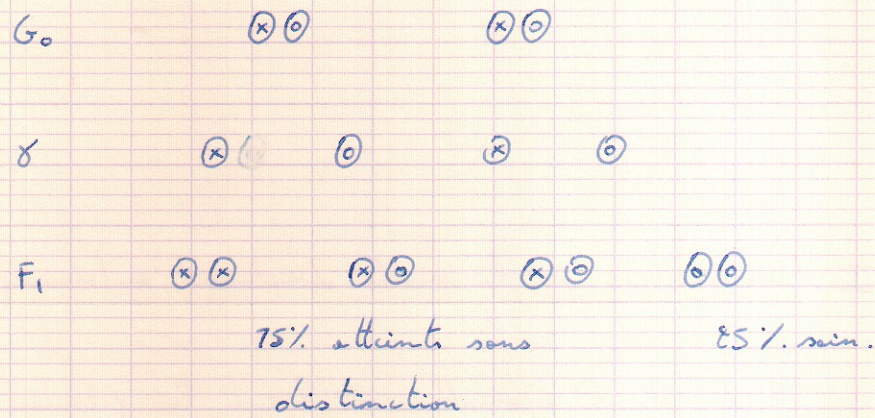
50% atteint 50% normaux.

à chq naissance, les chances st égales d'avoir 1 enfant sain ou atteint. le sexe n'intervient pas. l'anomalie est éliminée de la descendance des sujets sains.

protique : généralement pas de 50/50, rôle du hasard ex:

Pinkowsky Chauffard (20% de mutation de novo).

2) union de 2 porteurs du gène muté.



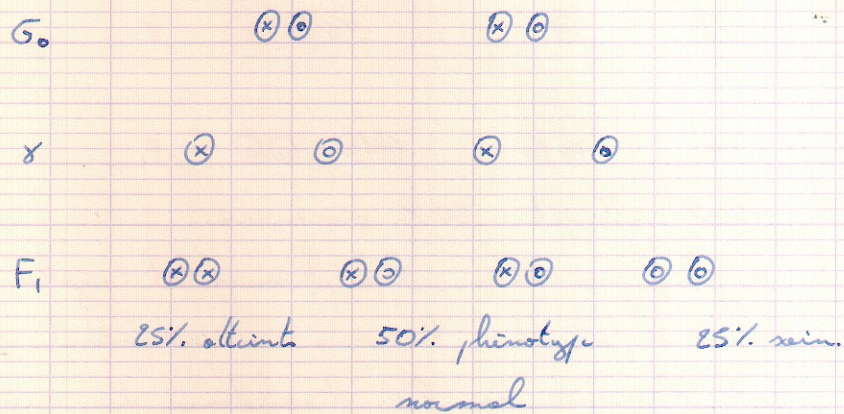
II transmission récessif autosomique.

il est nec qu'il soit présent sur les 2 chrs de la paire.

homozygote $\otimes \otimes$ présence du gène en double \rightarrow porteur atteint

hétérozygote $\otimes \otimes$ porteur phénotypiquement normal.

1) union de 2 sujets hétérozygotes



$\bar{\alpha}$ à chaque naissance, 25% enfants atteints alors que parents normaux
 en pratique, ph de hasard donc tous les enfants peuvent être normaux ou malades.

2) union d'un homozygote et d'un sujet sain.

G₀ (x)(x) (o)(o)

g (x) (x) (o) (o)

F₁ (x)(o) (x)(o) (o)(x) (o)(o)

100% sujets porteurs, phénotypiquement normaux.

3) union d'un homozygote + d'un hétérozygote.

G₀ (x)(x) (x)(o)

g (x)(o) (x) (x) (o)

F₁ (x)(x) (x)(x) (x)(o) (x)(o)

50% malades

50% phénotype normal.

4) union entre 2 homozygotes.

↳ 100% de malades.

plusieurs règles: un sujet atteint d'une maladie récessive.

- mère de parents d'apparence normale.

- frères et sœurs atteints de la même maladie.

- descendants d'apparence normale.

- qd il se marie avec partenaire atteint de la même maladie, il n'a que des enfants malades.

- H_z issu d'un mariage consanguin.

Rq: si gène connu no affecté = état hétérozygote → dominant.
 homozygote → récessif. (P)

en pratique, ∃ 1 hérédité intermédiaire.

ex: drépanocytose, les hétérozygotes non rigoureusement normaux.
 chez eux, anémie exceptionnelle, qui présente ph de polycythémie
 ↳ ils présentent le "trait drépanocytaire"

ex: β thalassémie homozygote → forme majeure
 hétérozygote → " mineure

∃ formes intermédiaires: pb des gènes à pénétrance variable

III Transmission de l'hérédité liée au sexe.

un de gènes st transmis par le chr XY.

trois nbx gènes de maladie st transmis par le chr X.

trois cas de maladies liées = X liée à un gène dominant.

pb mental: gène récessif lié à X.

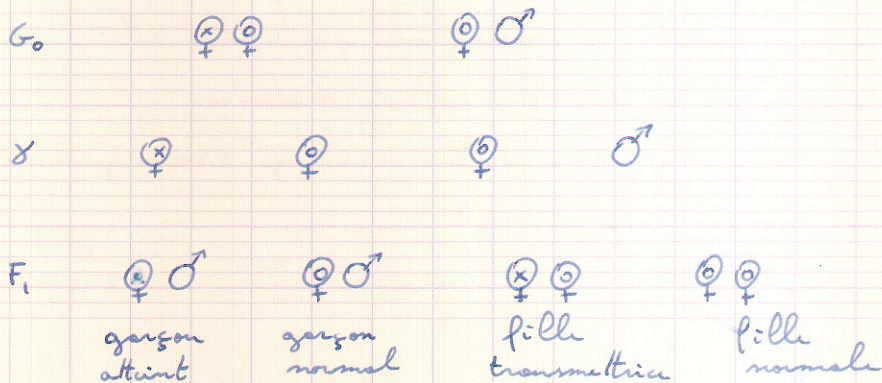
ex: portuse d'un gène normal.

⊗ ⊗ ex-gène récessif, dominé par le gène normal
 correspondant.

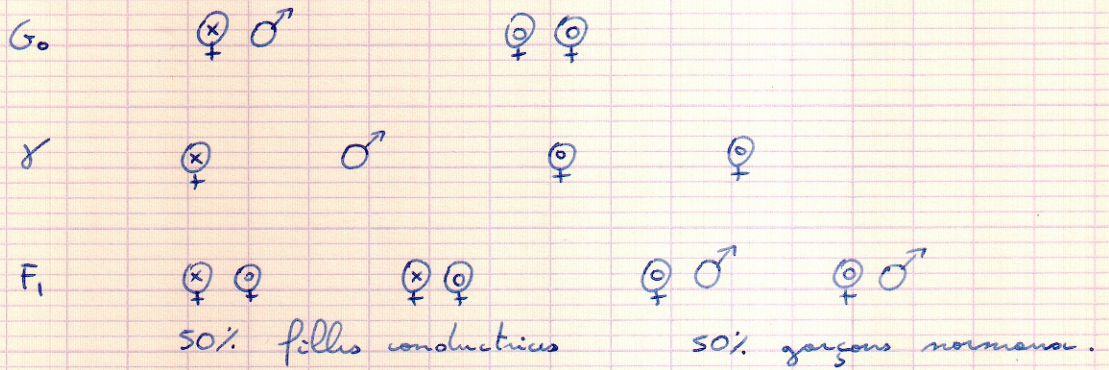
↳ ♀ portuse phénotypiquement normale.

= transmettrice ou vectrice de la maladie.

1) union d'une ♀ portuse avec ♂ normal.

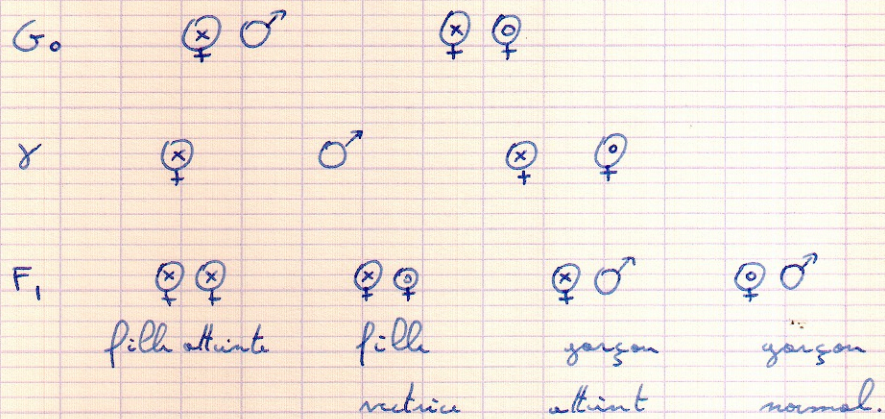


2) union d'un ♂ atteint avec ♀ normale.



↳ un maldade ne peut naitre d'un maldade mais seulement d'une conductrice.

3) union ♂ maldade et ♀ conductrice.



cas: hémophilie (reine Victoria)
déficit G_x PD.

le caryotype.

usom : établie formule chrS . ne avoir q un mitose et stade de la métaphase.

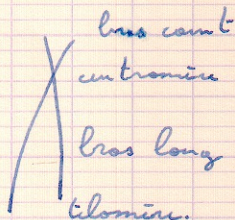
ne active avec produits mitogènes . utilisation de tissus à forte activité mitotique permettant étude directe q un mitose (cas de la m.o.)

caryotype sq

guler 4 à 5 ml sq . stérilement sur héparine.

mitogène = PHA → ST des lgt. incubé 72h à 37°C.

- résultats :
- blocage mitose en métaphase avec colchicine
 - dispersion chrS par choc hypotonique
 - fixation chrS
 - étalement
 - coloration, non p.c⁻
 - photo, classement.



amélioration de la classification par marquage.

intérêt de recherche caryotype anormal

ex: trisomie 21

chrS Philadelphia (partie du 22 sur le 3).

Bilan d'hémostase pré opératoire.

I introduction

2 objectifs:

- x prévention de l'accident hémorragique. recherche d'une anomalie déficitaire, héréditaire ou acquise entraînant un risque.
- x prévention de l'accident thrombo embolique chez les malades prédisposés (ATCO familiaux ou personnels, interventions favorisant les thromboses cad type orthopédique).

les tests à pratique doivent être:

- simples et rapides à réaliser.
- sensibles et peu coûteux.
- demandés en nb limité (on cible les tests).

→ prescription rationnelle, basée sur éléments apportés par l'interrogatoire et l'examen clinique, sur les caractéristiques de l'intervention chirurgicale.

II interrogatoire et cas clinique

1) épisodes hémorragiques antérieurs

- affection relevant de l'hémostase: cirrhose, hémophilie.
- prise d'AVK.

- consommation d'aspirine.
- contraception orale.
- ATCD accidents thrombotiques
- ATCD familiale générique.

e) signes évocateurs.

ecchymoses, purpura, splénomégalie, état veineux.

III examen biologique de dépistage d'une anomalie de l'hémostase

1) le temps de saignement.

exclusivement selon technique de Ivy. incision définie à l'avant-bras avec dispositif commercial, sans pression contrôlée par brassard à tension.

on note le temps au bout duquel le saignement s'est arrêté.

3 mesures (en 3 pts : RT1)

T_s normal ≤ 6 min.

T_s anormal $\hat{=}$ anomalie hémostase primaire (éliminer éventuelle prise d'aspirine).

→ anomalie des pq (adhérence, aggrégation ...)

- quantitative (pq génie)
- qualitative

→ facteurs plasma anormaux.

- f. Willebrand
- fibrinogène.

→ facteurs vasculaires si insuffisance rénale chronique.

2) numération des pq

comptée par aspect des pq.

$N = 150 - 400$ G/l

aggrégation des pq avec ses capillaires seulement (pas d'anticoag).

$n \leq 30$ G/l implique T_s allongé

$n = N + T_s$ allongé $\hat{=}$ anomalie qualitative pq (mb, granules).

3) temps de Quick = " temps de prothrombine "

explore la voie intrinsèque de la coag plasmatique.

↳ VII V X II (fib par influence).

us factures st synthétisés par hépatocyte en présence Vit K (sauf le V).

trouvé en secondes, exprimé en % $N = 80 \pm 100\%$

exprimé en INR (pour III anticoag).

TP anormal (en dehors III AVK ou insuffisance hépat) $\hat{=}$

- dosage différentiel de la voie prothrombinique VII V X II.

- temps de thrombine

- dosage fib.

- présence d'un anticoag circulant.

4) temps de céphaline activée

explore voie intrinsèque cod XII XI IX VIII X V II

(fib acutairement).

$N = 30 \pm 50$ s en fonction des réactifs et appareils.

le temps du patient ne doit pas dépasser de plus de 6 à 10 s

le temps du témoin.

TCA allongé $\hat{=}$

- déficit d'1 des facteurs voie intrinsèque : IX ou VIII = hémophilie.

- présence d'un inhibiteur ; refaire le test sur mélange plasmas témoin + malade. si correction du TCA \rightarrow déficit d'un facteur. si pas de correction \rightarrow inhibiteur présent.

5) comparaison TP - TCA.

\rightarrow TCA \uparrow , TP = N

- déficit XII, XI, IX, VII, (préthrombine, kininogène)
- inhibiteur spécifique d'un facteur ou d'une séquence.

\rightarrow TCA = N, TP \downarrow

- déficit VII.

\rightarrow TCA \uparrow , TP \downarrow

- trouble au mixe rare commun : X V II.

\hookrightarrow compléter par temps de thrombine et dosage fib.

IV détection des anomalies biologiques prédisposant aux accidents thrombotiques.

chez sujet jeune, avec ATCD thrombose veineuse récidivante.

on dose AT III

PT C (\neq CRP)

PT S

autres marqueurs et en cours d'étude : - thrombine - AT

- fibrinogène Act B.

V conclusion

normalité des 4 tests \rightarrow il avec bonne sécurité, risque accident hémorragique si anomalie, combinaison tests permet diag, confirmé par test plus spécifiques.

chez enfant, bilan révèle déficit congénital mineur latent.

l'émophilie.

I def, généralités.

la + 1/2 des maladies génétiques. 5000 cas en France.
affection hémorragique héréditaire due à \rightarrow on absence d'activité
coagulante d' un ou plusieurs facteurs de la coagulation plasmatique.
l'existence de 2 facteurs anti-hémophiliques A et B permet de faire
deux types d'émophilie.

- hémophilie A (anomalie du VIII, 85% des cas).

- hémophilie B (" IX, 15%).

ces 2 hémophilies ont un caractère

- mode de transmission (récessif lié à X)

- symptomatologie = Σ d'hémorragique.

- révélateur biologique fondamental: retard de la coag.

ces 2 hémophilies diffèrent par caractères biologiques des 2 facteurs
incriminés \rightarrow ne III substitutif spécifique.

II caractères des facteurs VIII et IX

1) facteur anti-hémophilie A.

- activité coagulante (f VIIIc): absente ou \rightarrow .

- déterminants antigéniques spécifiques (f VIII Ag).

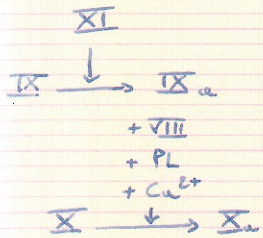
glycoprotéine avec 3 domaines structuraux A, B, C

synthèse ds hépatocyte, probablement ganglions, reins, rate.

associé ds le sérum au facteur de von Willebrand (PF porteur) synthétisé
par la $\&$ endothéliale.

interface de coag intrinsèque, cofacteur de l'activation
 enq du facteur X par le XI_a en présence de
 phospholipides et Ca²⁺.

facteur labile (t_{1/2} vie = 16h), présent de plasma, absent de
 sérum.



2) facteur antihémophilique B

- activité coagulante (f XI_c) : absente ou ↓.
- déterminants antigéniques spécifiques (f XI_{Ag}).
- glycoprotéine.
- synthèse de hépatocyte sous dépendance Vit K.
- interface de coag intrinsèque comme activateur de X
 après avoir lui-même été activé par XI_a.
- facteur stable (t_{1/2} vie = 24h), présent de plasma et sérum.

III symptomatologie clinique.

1) diversité d'expression.

Les hémophilie A et B provoquent hémorragies → ≠ expressions
 cliniques en rapport avec hétérogénéité primaire de
 l'anomalie.

2) selon l'activité résiduelle du f VIII_c ou f XI_c, on
 distingue 3 formes.

- hémophilie majeure A ou B, taux de facteur < 1% N
- " modérée " " " 1 à 5% N
- " mineure " " " 5 à 30% N.

b) le même complémentaire de l' A_2 (f VIII A_2 ou f IX A_2), on différencie 2 gr selon qu'il y a ou non ph immunoréactif.

CRP = cross reacting material

- hémof A CRP \oplus = rare

- " CRP \ominus .

- hémof B CRP \oplus = $\frac{1}{3}$ des cas

- hémof " CRP \ominus .

2) manifestations hémorragiques.

hémorragies spontanées ou provoquées (par traumatismes mineurs) surviennent rarement en période néonatale, habituellement au cours du 2^e semestre de vie.

si forme mineure, révélation plus tardive.

peuvent être cutanées ou se produire à l'int des tissus.

- cutanées : plaie spontanée, des muqueuses.

hématomes

hémorragie digestive.

saignement, vésicules hémorragiques

- non cutanées (beaucoup plus graves) : hémarthrose.

hématomes.

IV données génétiques.

récif lié au sexe. \rightarrow sujets atteints = σ

\rightarrow ϕ porteurs de \ominus \times muté = conductrices.

ds 30% cas, affection sporadique (de novo).

les gènes codant VIII et IX st isolés, situés sur le bras long du chr X (gène pour f Willebrand sur le 12).

séquence de ARN_m connue.

mirant les cas, hémophilie due à anomalies géniques à type mutation ponctuelle, insertion ou délétion.

I diagnostic biologique de l'hémophilie.

1) diagnostic de l'hémophilie.

a) circonstances.

demande motivée par la clinique : accidents hémorragiques ou génétique : concerne sujets ♂ de ces familles.
à l'occasion d'un bilan systématique, on peut découvrir hémophilie majeure ou mineure, anomalie de la voie intrinsèque. VIII ou IX.

b) les tests.

perturbation voie intrinsèque de la coag.

↳ allongement du TCA (> 100 s).

TP, fib, temps thrombine, T_s → normaux.

dosage spécifique VIII et IX

↳ mesure activité coag : →

↳ " " antigénique : → ou non, si les cytoges sont touchés ou non par la mutation.

c) diag différentiel.

x \exists hémophilie A acquise par auto-immunisation contre le VIII, (globe post partum, maladies AI, certains cancers).

x penser au pb maladie de Willebrand :

↑ TCA (déficit VIII coagulant)

↑ T_s (déficit Willebrand, stade adhésion de hémostasie primaire).

à transmission autosomique dominante : ♀ ou ♂.

x concernant hémophilie B, \exists acquis par auto-immunisation contre le IX

e) recherche des conductrices.

a) ♀ à risque

en fonction analyse arbre généalogique: 2gr.

x conductrices obligatoires = filles d'un ♂ hémophile.

x conductrices potentielles = ♀ ayant hémophile de famille maternelle (en: tante), ou mère d'un seul enfant hémophile (mutation de novo).

b) tests

x biologiques (étude phénotype)

- conductrices hémophilie A

• dosage f_{VIIIc} (détect 40 à 50% chez les conductrices)

• " $f_{VIIIc} + f_{\text{Willibrand Ag}}$ → rapport qui permet détect 80% des conductrices.

• dosage $f_{VIII Ag}$.

- conductrices hémophilie B

• dosage IXc : détect 40 à 50% conductrices.

• $f_{IXc} / f_{IX Ag} < 0,7$.

impossible d'affirmer qu'une ♀ n'est pas vectrice hémophilie.

x étude DNA des chromosomes X (étude génotype).

repérage des X porteurs de la mutation fondée sur la mise en évidence des polymorphismes de restriction (utiliser comme marqueurs) intra ou extra-géniques.
résultat: évaluer probabilité qu'une ♀ a dû être conductrice.

informez risques pour sa descendance

↳ $\frac{1}{2}$ ♂ hémophile, $\frac{1}{2}$ ♀ conductrice.

3) diag prénatal.

2 approches : analyse expression des gènes (phénotype)
" DNA (génotype).

↳ upon sur activité enzym et antigénique de VIII et IX.
matériel = sang fœtal prélevé in utero au delà de la 10^e sem. result à comparer à la valeur de ref trouvée sur un fœtus de m^e âge gestationnel sans hémof.
(on pique sur le vein du cordon à l'endroit où il s'insère sur le placenta).

↳ analyse directe du DNA par Southern Blot.

" indirecte par RFLP (longueur des gènes par polymorphismes de restriction).

matériel = ϕ prélevés par amniocentèse à 15-17 sem ou les ϕ trophoblastiques par ponction villositaire chorionale (11^e sem)
en plus, diag new in utero \rightarrow caryotype, mais les σ bénéficient étude DNA.

VI traitement.

1) objectif

stopper hémorragie, limiter leurs séquelles, les répercussions socio-psychologiques de la maladie, permettre l'intervention chirurgicale.

2) méthode.

essentiellement : III substitutif général sachant que le III local doit être utilisé le plus souvent possible.

a) critère requis.

- conc. suffisante en Pt coagulants, intérêt à avoir un produit de forte conc.

conc. exprimée en UI/ml de produit reconstitué.

1 UI = act. coag. de 1 ml de plasma frais humain normal.

- degré de purification suffisante, par rapport à d'autres contaminants comme les α glob. ou fib.

s'exprime par act. spécifique \equiv nb unités de facteur par mg de Pt.

- répondre aux méth. d'inactivation virale. III par \neq solvants détergents efficaces \neq HIV 1, HBV (non A non B?).

b) fractions riches en VIII

- concentré de f VIII très haute pureté (LFB liotec)

- concentré de f VIII immunopurifié ("Hemofil" Baxter)

- facteur VIII recombinant préparé par génie gén. en France depuis 83. ("Recombinat" de Baxter, "Kogenate" de Bayer).

c) fraction riches en IX

- concentré de f IX très haute pureté de LFB.

- PPSB (prothrombine, proconvertine, Stuart, antihémophilique).

d) schéma théor. pour diverses situations

- arrêt du saignement

- éviter sa reprise

- empêcher survenue d'hémorragies (prophylaxie).

- intervention chirurgicale.

LFB = Laboratoire

français

de liotec)

e) complications

- mineurs = rx allergiq, hémolyse si pb gr sq.
- majeurs = • infectieux, HIV, hépatite B; non A, non B.
aucun vaccin anti HBV.
- procédure inactivation virale → → risque.
 - complications liés aux anticorps circulants
 - ↳ Ac anti Pt coag VIII ou IX
 - 10 à 15% des hémophiles font Ac type IgG₁.
 - ↳ facteurs du complexe prothrombinique actifs
 - ↳ facteurs recombinants.

3) autres thérapeutiques.

- III local avec compression.
- mastic qui ↑ libération de VIII ("Minirin" = désaminé-D-norépinephrine)
- vaccinations
- antalgiques, A1, anti fibrinolytiques ("Hémocaprol").

VII conclusion

importance de suivre H₂ les 3 à 6 mois de centre spécialisé.
bilan cliniq, bio, radio.
recherche anticorps Ac circulants, trans A, IgG, hémogramme
rapport $\frac{CD4}{CD8}$, séro HIV (si ⊕ → surveillance mensuelle).

importance particulière centre d'hémophilie.
transport de centre spécialisé si: traumatisme violent
hémorragie
infectieuse.

syndromes prolifératifs.

chroniques ou aigües
myéloïdes ou lymphoïdes.

I syndromes chroniques.

1) myéloprolifératifs.

profil anormal de ϕ normaux \in à 1 des lignées myéloïdes avec conservation d'une certaine maturation.

- lignée granulocytique: LLC, splénomégalie myéloïde.
- lignée myéloblastique: polyglobulie de Vaquez.
- lignée mégacaryocytaire: thrombocythémie essentielle.

2) lymphoprolifératif

profil anormal de ϕ normaux \in lignée lymphoïde avec conservation d'une certaine maturation (Ly B mult. que Ly T).

- LLC (Ly B)
- myélome (plasma)
- macroglobulinémie primitive = maladie de Waldenström
- leucémie à tricholeucocytes.
- syndrome de Sezary
- lymphomes malins non Hodgkiniens (profil ganglionnaire)
- maladie de Hodgkin
- lymphomes et leucémies à Ly T de l'adulte.

II syndromes aigüs

prolifération de ϕ anormaux (blastos = ϕ jeunes) avec peu ou pas de maturation.

bloqueo töt dans l'évolution.

touche les lignées

- myéloïdes \rightarrow LA (Π_1 à Π_7)
- lymphoïdes \rightarrow LA (L_1 à L_3).

splénomégalie
myéloïde.

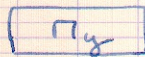
I def

syndrome myélogérolifératif caractérisé par myélofibrose évolutive.
↳ métaplasie myéloïde de la rate (et du foie).
absence de chr 5 Philadelphia (≠ avec LMC)


fœtus


adulte sain


splénomégalie myéloïde.

 m.o.

 m.o.

 rate

 rate

 rate

la moelle osseuse devient fibreuse, de rate: reprise activité myéloïde → grosse rate myéloïde.

II circonstances de découverte.

myéi adulte > 50 ans, ♀ ou ♂, à la suite d'un Σ d'hémorragique, ou crise de goutte (hyper gBou → lyse \neq → \uparrow ac urique), ou lors hémoграмme systématique.

clinique: ostéinie
splénomégalie
hépatomégalie.

III données biologiques.

1) hémogramme.

Hb N en défaut

gB ↑ mais < 20 G/l.

pq N en ↑

frottis: anomalies morpho des gR: anisocytose, poikilocytose, schizocytose, gR fusi formes, gR à granulations basophiles et érythroB.

- myélocytose modérée, éléments granuleux immatures
- pq géants.

2) myélogramme

os fibreuse, dure, aspiration difficile voire impossible.

3) biopsie médullaire.

aspects ≠ selon le degré et ancienneté de la maladie.

↳ classification histo montrant l'évolution de la fibrose.

4) autres examens.

x recherche chr5 Philadelphia = ⊖.

(chr5 est dilaté par translocation sur le 3)

x mesure PAL des gB: N en ↑

x ac unique ↑

x Vit B12 ↑.

IV évolution

sur tous cas, 3 complications: splénomégalie (↑ taille géante), insuffisance médullaire (anémie), autotoxicité ou LPA.

V traitement

répond mal.

- transfusion ≠ les insuffisances médullaires.
- chimiothérapie mal tolérée (prescrite si transfo en LPTA)
- hydropisie urée (→ volume rate).
- corticothérapie (≠ hypertension)
- splénectomie

polyglobulie primitive de Vaquez.

I def

profil non controlé de l' Σ des lignées myéloïdes avec prédominance lignée érythroblastique.
 Σ cl. myéloprolifératif.

II physiopathologie.

dérèglement des progéniteurs myéloïdes d'étiologie inconnue.
taux d'Epo Non \downarrow : autonomie des précurseurs vis à vis de Epo.

III étiologie

patients > 60 ans avec discrète prédominance σ . à la suite examen hématologique ou demandé si \exists signes cliniques ou fonctionnels liés à l'hypoxémie σ .

clinique:

- signes cutanéomuqueux: érythème facial, prurit à l'eau chaude.
- signes neurologiques liés à hypoxémie σ : céphalée, vertiges, bourdonnement d'oreilles.
- manifestation CV et thromboc.
- splénomégalie chez 70% des patients.

IV diagnostic biologique.

à partir de la clinique.

- anémie faciale → hémogramme → si ↑ γR , on évoque pg.
- puis faire V globulaire totale → élimine fausse pg.

3 contiente : thalassémie hétérozygote (hypochromie microcytaire)

↳ pseudo pg ethnique.

- élimine pg secondaire.

↳ pg vraie = de Vaquez.

1) hémogramme.

$\gamma R = 6 \text{ à } 8 \text{ T/l}$

$Hb = 180 \text{ à } 250 \text{ g/l}$

$Ht = 0,55 \text{ à } 0,75$

$\gamma B \uparrow < 25 \text{ G/l}$

$pg \uparrow$ modérée

frottis : présence éléments granuleux immatures (↑ PNE & PNB)

) → pg normochrome normocytaire.

2) mesure VGT

par méth isotopique. VGT ↑ si $> 36 \text{ ml/hg } \sigma$

$> 32 \text{ ml/hg } \text{♀}$

3) myélogramme

le + est normal, mais difficile à établir. complète par biopsie.

4) VS, hém visc. nulle. à cause hyperviscosité.

↑ ac urique

↑ Vit B12, ↑ transcobalamine III

↑ score PAL

Epo Non ↓

V critères de diagnostic.

aucun symptôme biologique ou clinique n'est pathognomonique
le diag fait après élimination fausse pg et pg secondaire, en
s'appuyant sur faisceau d'arguments.

Egr de critères

gr A: $A_1 = \text{VGT} \geq 36$ chez σ ou 32 chez f (m.l/hg)

$A_2 = \text{saturation art} > 92\%$

$A_3 = \text{splénomégalie.}$

gr B: $B_1 = \text{thrombocytose } \text{pg} > 400 \text{ G/l}$

$B_2 = \text{leucocytose } \text{gB} > 12 \text{ G/l}$) critères si absence

$B_3 = \text{score PAL} > 100$) d'infection.

$B_4 = \text{Vit B12 sérique } \uparrow > 300 \text{ pg/ml.}$

diag pg vrai si $A_1 + A_2 + A_3$ ou $A_1 + A_2 + 2$ critères de B.

VI évolution, traitement.

espérance de vie: sans TTT 18 mois

avec TTT 12 ans

complications: thrombose ou hémorragie, possibilité de
myélofibrose, transfo leucémique (LA) ou myélodysplasie.

TTT suivant évolution et âge. E possibilité.

- retirer excès gR par saignées.

- contrôle au moyen d'un TTT myélompreneur.

→ saignées en urgence si $\text{Ht} > 0,55$ ou en TTT de fond. la déglutition
en fer limite la prolifération érythroblastique.

1 saignée $\hat{=}$ 300 à 400 ml sg.
si insuffisant, on est saigné + ontimétalolés.

→ III myélocytopressure, agit en bloquant & souche → rémission complète qui peut durer 2 à 4 ans.

x ^{32}P à 0,1 mCi/kg, dose unique ou inj IV
↳ 35% de rémission complète. bien toléré cliniquement.
nul pb: semble favoriser survenue de leucémies.

x "Pisullon" (busulfan), agent alkylant. retiré mais
encore utilisé sous dérogation (pb de pharmacotique)
une d'attaque de 0,1 mg/kg/j
risque d'aplasie grave, risque leucémogène.

x "Myochia" (hydroxyurée), efficace, le risque leucémique →
troubles digestifs. risque insuffisance rénale surveillance
hémato stricte.

chez sujet > 65 ans: myélocytopression avec ^{32}P + busulfan.

< 65 ans: saignés + HO usé (pas de facteur de risque
important.

→ III symptomatique

x allopurinol pour la goutte

x anti H_2 pour le punit.

x antiagrégants pp de la cas de thrombose.

comis avec IFN α .

Plasmocytome.
maladie de Kahler.

I def.

Ed lymphoprolifératif chronique.

maladie à profil plasmocytaire maligne à localisation prédominante. responsable synthèse Ig monoclonale avec \rightarrow Igs normales (sur la synthèse).

maladie de l'adulte ♂. (moins pour ♀). d'évolution fatale.

II circonstance de découverte.

fractures spontanées, manifestations rénales (PteV) \uparrow
douleurs osseuses, découverte fortuite lorsque VST.

III signes cliniques.

manifestations osseuses au 1^{er} plan: douleurs, fractures spontanées.
radio: images de décalcification lacunaires: "géoiles".

signes rénaux: insuffisance.

signes neurologiques: \uparrow PteV.

signes d'insuffisance médullaire \rightarrow infections.

IV diagnostic biologique.

double aspect : mise en évidence anomalies hématologiques
(profil plasmocytaire) et anomalies Pt (\equiv Ig monoclonale)
1^{er} bilan \rightarrow suspecter
2^e bilan complémentaire \rightarrow affirmer le myélome.

1) premier bilan.

hémogramme : ANN non régénérative
leucocytes avec PNV ou neutropénie.
Pq \rightarrow ou N.

frottis : rouleur formation des  gR.

éléments favorisent cette rouleur formation : fib et Igs.

si fib \uparrow : rouleur formation discrète.

si Ig \uparrow : " forte lors myélome et
maladie de Waldenström

VS avec anticoag \rightarrow les gR s'empilent et laissent
surnatant le plasma

pour myélome, les gR ne mettent de suite en
surtout \rightarrow VS importante (> 60 par exemple).

Pt ség : hyperprotidémie (Pt ≥ 100 g/l).

lectroφ sur acétate de cellulose \rightarrow pic étroit d'Ig
qui pointe vers myélome, le + fort au niv de la
fraction γ , moins fort sur β , rarement sur α .

recherche PEU \rightarrow Pt thermostable de Bence Jones
(monomère ou dimère de chaînes légères).

VS N < 10 min.

principi = froid, dissout = chaud.

c) second bilan.

mise en évidence plasmocyté et caractère monoclonal.

x myélogramme → montre infiltration plasmocytaire.
(infiltration > 15%).

↳ plasmocytos matures = normale
immatures = plasmoblastes.
dystrophiques

le critère le plus important est quantitatif.

x rarement biopie médullaire.

permet de définir caractère diffus ou en nœuds de l'infiltration.

x immunoelectrophorèse: caractérise Ig monoclonale.
définir son caractère antigénique: G > A > D/E
type: K ou λ.

x compléti par immunoelectrophorèse urinaire
(dosage chaînes légères). → PtU sur 24h.

dosage Ig anormales: pas nec.

dosage Igs normales: ↓.

recherche caractère cryoglobulinique.

NB: cas de myélomes non sécrétants → mise en évidence Ig monoclonale au niv des plasmocytos → étude en IF.

si diag myélome établi → recherche d'autres paramètres.

ca étude métabolisme Ca Phos → hyper Ca séq.

fonction rénale → IR.

hémostasie → p₁ + fi brinofornation perturbée

bilan lipidique → chol + lipides ↓.

problèmes.

→ myélome vrai ou Σ d apparenté?

- myélome non sécrétant, pas de PEU.
- leucémie à plasmocytes, \uparrow plasmogly + m.o.
- plasmocytomes solitaires osseux ou non osseux (diag par radio ou par biopsie).

→ en cas de manifestations initiales atypiques.

lors de dysglobulinémie sans plasmocytome évident.

↳ myélome? dysglobulinémie monoclonale non myélomatueuse.

certaines cas = autres Σ d LLC et maladie de Waldenström, cancers épithéliaux, cirrhose, etc...

dysglobulinémie chez sujets âgés \rightarrow surveillance.

→ si plasmocytome médullaire sans dysglobulinémie.

début malacique ou plasmocytome réactionnelle?

↳ = 20% lors hépatite, cirrhose, cancers.

V Classification biochimique.

si diag \oplus : on détermine le stade. DURIE et SAUVIN tiennent compte du volume tumoral, niveau bio (% Ig) importance de l'anémie et hypercalcémie.

↳ 3 stades : I II III

chaque classe en A ou B

A : Cr < 177

B : Cr > 177

VI évolution : 3 phases.

- asymptomatique
 - prolifération plasmocytaire → lésion osseuse → III
altération de résons qui révolues. Δt vie : qq mois à
1 dizaine d'années.
 - phase terminale liée à un envahissement plasmocytaire
↳ paucytogénie ou 116 ou complication de hyper Ca sé.
- complications : infections (lgs normaux \rightarrow + PNN génie)
• hémorragies
• complication neuro liée aux hyperprotéinémie plasma.

VII théra

difficile, on ne connaît pas étiologie

prolif: lg B à stade préplasmocytaire

116 \rightarrow rôle important \rightarrow essais Ac anti 116

altération osseuse liée à facteur ostéoclasique inconnu.

III symptomatique : transfusions, antihés ; III hyper Ca sé
reposent sur hyperhydratation et diurèse forcée
recours à des plasmaphéreses ; III insuffisance rénale.

III de fond : chimiothéra

→ mono chimio conventionnelle en cure

- Melphalan + Prednisone
- cyclophosphamide

→ essais poly chimio

- Melphalan, cyclophosphamide, vincristine, nitrosouée, anthracyclines

avec surveillance, nec contrôle
sujet en rémission si $1q \rightarrow$ on se stabilise et lorsque
les plasmoc \rightarrow au niv médullaire.
surveiller risque possible d'aplasie.
rechutes inévitables.

→ chimiothéra massive

- Melphalan à forte dose
résultats $>$, on risque d'aplasie \uparrow
nec utiliser facteurs de croissance hématopoïétiques.

→ tech de greffe

- allo greffe de m.o. \rightarrow forme réfractaires si donneur
compatible et sujet < 50 ans.
- autogreffe de \neq souches en dev.

→ IFN α

ass à chimiothéra. \uparrow chances rémission complète
ou III d'entretien et une réponse induite par chimio domiquon.

Macroglobulin de Waldenström

I def

macroglobulin primitive
profil Ig B médullaire produisant Ig Π monoclonal. ($\geq 5g/l$)
touché adulte ≥ 50 ans de pref σ (70%)

II circonstances de découverte

adénopathies ou à la suite vs très augmentée - oculaire.
snt : asthénie, gâlem, infections à répétition
syndrome hémorragique cutanéomuqueux.

III signes cliniques

ophtalmologie
adénopathies superficielles et profondes
hyperviscosité si Ig $\Pi \geq 30g/l$. \rightarrow vertiges, céphalées.
anomalies du fond de l'œil.

IV diag bio

\hookrightarrow investigation hémato + bio, idem myélome

hémogramme:

- infiltration ly
- ANN non régénérative
- $gB \approx N$
- $pg = N$
- formule : parfois hyperlysose
- rouleur formation

myélogramme:

- infiltration ly polymorphes de maturation Δ et basophile \neq : ly , lympho plasmoc, plasmoc frais...
si mélange \rightarrow de Waldenström

étude IF avec anticorps \rightarrow mise en évidence IgM \pm la surface de tous les \neq ly qui ne présentent qu'une seule chaîne légère. présence aussi dans cytoplasme pour les éléments les + matures.

ls prolif monoclonale de lyB .

biopsie osseuse indispensable.

- infiltration de ly particelle ou diffuse
- myélofibrose réactionnelle Mz .

biologie:

- vs élevée
- Prot \uparrow $> 80 g/l$
- électroph : pic étroit au niveau β_2 ou γ
- immunoelectroph : mise en évidence d'une zone de précipitation anormale \rightarrow IgM anormale k $l + svt$, moins de type λ .
- évolution toward IgM anormale par trace électroph ou

exacte par ultra centrifug serum.

- Ig Π normales \rightarrow
- recherche caractéristique cryoglobulinémique (précipité à froid) ou pyroglobulinémique (précipité à chaud).
- Prot mie? faible. généralement présente dans la plupart des cas de la prot de Bence Jones (75% cas). possibilité d'y retrouver Ig Π normale.

en pratique : 1 pic à électroph + Ig Π monoclonale.

recherche Ac anti γ R car \exists autoAc qui font précipité à froid (agglutinations froides).

hémostasie I : anomalies, et anomalies de fibrinoformation.

étude viscosité sq.

étude fonction rénale.

bilan phosphocalcique perturbé.

IV évolution, III.

spontanément longue ds nbx cas.

\exists complications : hémorragies, infections, insuffisance rénale ou médullaire.

III symptomatique :

- échanges pour glomérulose.
- corticoïdes lorsque ANN (Ac anti γ R), pour \neq asthénie.
- splénectomie ds cas AMAI ou si hypersplénisme.

chimiothère :

mono : chlorambucil 4 à 10 mg/j avec parfois Prednisone.

surveillance car risque splénie : hémogramme Hs les 15j

contrôle efficacité III : si correction anémie, \rightarrow Ig Π (par

dictio q successores), \rightarrow viscontē.

les leucémies aigües

I def

prolif clonale, prouvent transfo maligne et un précurseur myéloblaste ou lymphoïde se transformant par un envahissement de la m.o. puis des org périphériques et de un ou plusieurs autres sites de l'organisme (ex: méninges). \exists types particuliers.
disposition des ϕ normales de la moelle.
LA classés selon caractères cytologiques de la pop dominante

II circonstances diag et sympto

toucher les 2 sexes, à tte les âges rare, avec Hz chez enfant et jeune.
facteurs favorisants: benzène, radiations ionisantes, \exists Σ de myéloblaste prolifératif ou dysplasique, déficience immunitaire primitive...

sympto: ces signes insuffisance médullaire (anémie, infections, hémorragies) et tumorales (organes envahis)

Δ suivent type cytologique. traduit et aboutit infiltration des zones hématopoïétiques (rate, foie, ganglions) puis autres organes (méninges).

III diag

hémogramme:

- ANN + réticulocytes.
- Pq \rightarrow riche
- γ B: \uparrow ou N ou \rightarrow
- formule présence d'éléments atypiques en % Δ type "blastis".

myélogramme:

indispensable pour affirmer diag: enrichissement blastique,
préciser le type cytologique;
 \hookrightarrow moelle riche en norme par éléments type blastique.

biopsie osseuse:

pratiquée lorsque moelle pauvre.

\hookrightarrow infiltration blastique avec hyperplasie myéloïde et tendance à la myélofibrose.

biologie:

- ac unique \uparrow
- si Π_3 : risque CIVD \rightarrow bilan hémostase.

IV classification

se pose pour préciser éléments atypiques: reconnaître atypic.

blastis = ϕ qui présente $N/p \uparrow$ = signe jeune.

basophilie cytoplasme

fine chromatine

nucleoles de noyau

quis précise origine blastis: myéloïde ou lymphoïde.

↳ LAL et LA non L

∃ sous groupes. rattacher éléments par classification groupe de FAB = France, Amérique, Grande Bretagne. classer sur bases bio et cyto, complété par cytogénétique et immunologie.

1) critères morpho.

→ LAL: rx myéloperoxydase ⊖. 3 types $L_1 \text{ à } L_3$.

- L_1 = pop homogène de petits blastis. chez enfants (85%).
- L_2 = pop hétérogène petits + gros blastis. plutôt chez adulte.
- L_3 = type Burkitt, plus rare; rappelle les ϕ de lymphome de Burkitt (vacuolisation + hyperbasophilie cytoplasmique).

→ LA non L. 7 types. $\Pi_1 \text{ à } \Pi_7$

- Π_1 = ϕ peu ou pas précises, sans maturation granuleuse visible
∃ act peroxylasique. tech cytochimiq + sensible que p.o.
- Π_2 = maturation granuleuse, certains jusqu'à PN.
- Π_3 = forme à promyéloblastes. blocage à ce niveau. forme très granuleuse. granules → aspect anormal. impression "bitonnets d'Auer". nbx bitonnets + granulation.
- Π_4 = myélomonocytair e composantes (∃ Π_4 éosinophile).
- Π_{5a} = éléments monoc indifférenciés
- Π_{5b} = " " différenciés.
- Π_6 = > 50% mythroblastes, > 30% blastis granuleuses: rare.
- Π_7 = à mégacaryoblastes, confirmé par études ultrastructurales et immuno.

rx cytochimiques:

- myéloperoxydase: activité peroxydase présente ds les granulocytes \pm des lignées granulocytaires et monoC: $\Pi_1 \rightarrow \Pi_5$
- esterase, inhibée par NaF, reconnaître caractère monoC des blastes: $\Pi_4 + \Pi_5$.

2) critères cytogénétiques.

caractéristique: $> 50\%$ d'anomalies.

$L_3 = t(8; 14)$ etc, défavorable si $t(4; 11)$

$\Pi_2 =$ sans groupe avec $t(8; 21)$

$\Pi_3 = t(15; 17)$ etc.

\exists autres particularités.

3) critères immun.

avec Ac monoclonaux, recherche Ag m \pm portés par ces blastes \rightarrow origine myélo ou lympho, et déterminer le stade (bloccage).

→ LAL: 15 à 20% Ly T

• la plupart de Ly B, 80% à blasté pré-B de cette catégorie et porteurs d'Ag CALLA (CD10), 1 à 2% de B matures.

• les LAL "nulls" très rares.

→ LANL: classif plus délicates.

intérêt utiliser Ac monoclonaux pour \neq avec Ag myéloblaste/myélocyte.

V evolution, III.

1) evolution

marquée par complications.

- initiales, liés à infiltrations leucémiques.
- liés à l'hyperblastique de forme tumorale et hypergoutte
↳ hyperuricémie : goutte.
- liés à splénie thés (inj) et infections)
- hémorragiques (pq p₁)

évolution que si III est +
obtenir rémission complète et éviter rechutes.

2) III

→ symptomatique

- corriger anémie par transfusions.
- prévenir infections : isolement, hygiène stricte.
- antibio si infection
- prévention hémorragie ou si $p_1 < 20 \text{ G/L}$: conc p₁.
- hyperuricémie de forme Π_3 (CIVD).
- troubles métaboliques : hypersténurie alcaline.
urico éliminatoire.
hypoglycémiant.

→ chimiothérapie

3 phases : induction, consolidation, entretien.

produits ≠ selon LAL ou LANL.

- LAL → induction : polychimio est vincristine, procarbazine, L-asparaginase, anthracycline... → rémission complète = disparition blastes sur hémis et myélogramme. prévention

atteinte cérébro-méningée par méthotrexate
et irradiation crâne.

→ consolidation: chimio théra lourde mais si forme à
mauvais pronostic.

→ entretien: → tous rechutes. doses + faibles, si pas de
rechutes, on poursuit 3 ans.

L₁: > 50% RC, > 50% en 1^{er} RC en bout de 5 ans.

L₂: résultats bons.

• LANL → induction: anthracyclines, daunorubicine, cytarabine
arabinoside...

ou tous ritimique de forme P₃.

→ consolidation: à choques, 1 à 3 cycles.

→ entretien: protocole variable, soit 3 à 4 cycles mensuels,
daunorubicine, ARA C ou intensification
de la chimiothéra puis arrêt.

3) greffe de moelle.

→ LAL

allogreffe si possible, sinon autogreffe

en 1^{er} RC si L₂ ou L₃

en 2^e RC si L₁

→ LANL

allogreffe si possible, plus favorable si < 40 ans, sinon autogreffe.

me précis, en 1^{er} RC

Alb

I généralités

Alb humaine fait partie PSS = prot. sé. stables (\neq labiles) =
fract ϕ , conc pq , PGR, plasma frais)

Alb préparée et distribuée par CTS jusqu'à loi du 4 jan 93 qui
définie nouvelle organisation transfusion sé.

rigueur actions collecte et fractionnement

les PSS et Alb st issus du fractionnement du plasma \rightarrow statut
de médicament \rightarrow soumis à leurs règles (AMM).

en France, organisme créé : Labo français de fractionnement et de
biotech (LFB) qui a l'exclusivité du fractionnement et qui
distribue PSS.

certaines firmes comme Baxter Immuno préparent PSS et Alb
et collecté hors de France.

depuis jan 95, PSS délivré par les pharmaciens des hôpitaux sur
prescription personnalisée, selon un protocole sous contrôle médical.
gestion de leur traçabilité par centres et hémovigilance.

II caractéristiques physico.

synthèse par le foie

60% des Prot : 40 à 45 g/l

5 régions de site de liaison \rightarrow ass à nbx produits mols et réagins :
possibilité fixation produits et libération

responsable à 80% du pouvoir oncotique du sé.

III préparation du LFS

isolé à partir de plasma donneur par précipitation + précipité à l'alcool, puis par ultrafiltration.

sécurité virale assurée pour stratégie combinée, sélection donneur, analyse sé collectée, inactivation virale : fraction alcoolique : éliminer HIV puis pasteurisation (10h à 60°C phase liq pour éliminer HBV).

IV conservation

sol aqueux + stabilisant = caprylate de Na

2 conc :
• sol isotonique 4%
• sol conc 20%.

V essais et contrôle

proposé par pharmacopée

LFS + autres → demandent APD où ils proposent les leurs.

non officiel, selon type de produit. "conformes au fabricant".

VI indications

- hypovolémie plasma sé : hémorragie, état de choc, brûlures étendues.
- déficits oncotiques (IR, IH)
- échanges de plasma (DHNH)
- circulation extra-corporelle (dialyse rénale, chirurgie cardiaque).

VII posologie, précautions d'emploi.

Δ suivant indication dose ALB.

env 100 à 500 ml/j pour ALB conc.

1 à 3 l/j " diluée.

en cas adm massive : risque hémodilution : → fact wag + pg génic.

surveiller TA, diurèse, Mt, ions.

effets indésirables : manif cutanées allergiques

" fébriles.

fact coag.

I généralités

1) def

fraction plasme qui renferme un ou plus fact de hémostasie ss forme active ou non active.

2) modalité lysée

idem Alb

3) préparation

tech de fractionnement. obtenu par cryoprécipitation et ≠ procédés physicochimiques

sécurité vis-à-vis 3 niv.

inactivation vis-à-vis utilise méth solv détergent

(TNBP = tri n butyl phosphate + Tween 80).

II fib

1) appel physi

fact plasme $\hat{=}$ fact I coag. constituant soluble transformé en fibrine insoluble par thrombine.

synthèse hépatique

2 $\hat{=}$ 4,5 g/l

t $\frac{1}{2}$ vie = 4 $\hat{=}$ 5 j.

2) préparation

= constituant préparation fraction I de Cohen. obtenu par précipitation à l'alcool à -2°C pH = 7,3. le précipité est dissous ds sol citraté, stérilisé par filtration et lyophil. inactivation virale par solv/détachants.

3) présentation

poudre lyo 1 à 3 g ds 100 ml eau Δ .
 voie IV lente. 1 seule fois.

4) indications

exceptionnelles (2):

- afibrinogénémie
- fibrinogénies congénitales
 - fibrinogénie acquise
 - CIV
 - fibrinolyse
 - adjuvant.

5) posologies

Δ suivant ind

déficit primaire: 2 à 4 g.

défibrinations aiguës: 2 à 10 g.

VI fact VIII

1) conc d'origine plasmatique.

→ préparation

extrait plasma par cryoprécipitation puis purification par tech physicochimiques / chromat pour éliminer

contaminants protéiques. → conc VIII de très haute qualité
préparé par LFB ou immunopurifié (chromato immuno
affinité par Ac monoclonaux).

"Hemofil P" (Boehr)

"Plonolatu P" (Armon)

III antirésol à triple stratégie solv/détergent.

b) indication

appel hémophilie A

III et prévention hémophilie A

auto III possible.

c) utilisation

lyophilisat à reprendre par conc Δ, puis inj IV lente

t_{1/2} vie = 10 h en absence Ac anti VIII

inj 1 UI → ↑ VIII plasma de 2%.

dos à adm = 20 à 30 UI/kg. éventuellement renouveler
en fonction contact ou gravité.

} Ac anticoag circulant → pers + importante

} monographie à photoc 35.

e) produit par génie génétique.

non dérivé du sé. obtenu à remplacer le fractionnement car en
principe dépourvu de risque viral. 2 formes de prot recombinantes:

"Recombinat" (Boehr)

"Kogenet" (Boyer)

V fact IX

conc fact IX de haute qualité du LFB

immunopurifié de Armon (monoclonaux)

lyophilisat à reconstituer. +ieurs formes et doses

ind = III et prévention hémophilie B.

utilisation : isoler fact VIII, $\frac{1}{2}$ vie + longue.

VI fractions plasma utilisées chez patients avec inhib

patients hémophiles ou non ayant Ac anti VIII ou IX traités par concentrés congelés prothrombiniques.

type FEIBA (Immuno) = factor eight inhibitor bypassing activity.

F II IX X non act + F VII act.

ou F VII activé recombinant.

ou F VII purin.

VII fact de Willebrand, conc VIII spécial Willebrand. THPSD.

1^{er} produit : fact Willebrand seul, ob le déficit.

2^e produit : " " + VIII, lorsque hémorragie, effet complémentaire, le VIII est à donner lors 1^{er} adm (indispensable).

fact de Willebrand : forme recombinante et un fragment $\hat{=}$ site de liaison aux plaquettes.

VIII PPSB

fraction cong contient les fact Vit K dépendants = prothrombine, proconvertine, stuart, B.

à conc Δ selon fact. péicé sur le placen.

ind : tous déficits constitutionnels en II ou X, manif hémorragiq sévère liée à hypovitaminose K, surdosage AVK, insuffisance hépatique sévère.

peuche à dissoudre ppi, voir IV anti.

peux Δ suivant ind, 25 à 30 UI/kg parfois à renouveler.

IX conc VII

ind: rare déficit constitutionnel en VII.
• III curatif ou préventif hémorragies.
présentation: idem. poudre ppi. voie IV lente
présentation d'emploi: risque thrombotique. nec surveillance bio.
[VII recombinant. pas encore commercialisé.

X AT III

principal inhib coag

ind: • déficits constitutionnels
• déficits acquis (CIV)

présentation: poudre ppi, adm IV lente. 500 à 1000 UI

usage: suivant ind = prévention thrombose veineuse ou III CIV.

adm doit permettre maintenir taux plas > 75%.

XI conc Prot C.

inhib coag

destiné aux déficits révers en prot C (déficit homozygote avec purpura fulminans)

XII fact recombinants

→ activateurs du plasminogène (rtPA)

→ hirudine (inhib de la thrombine).

utilisation des sondes de détection mutations

I def

localiser gène + présence ou non mutation = motif particulière seq
génomique

seq d'ARN ou ADN monocaténaire et la seq complémentaire et à étudier
hybridation du complexe : formation duplex
doit être facilement identifiable = marqué.

ADN monocaténaire \leftrightarrow ARN

ADN monocaténaire \leftrightarrow ADN monocaténaire.

ADN nucléaire = intron + exons

sonde \rightarrow sur intron ou exons. si sa structure a été synthétisée de façon
complémentaire.

si ADN recombinant \rightarrow que les exons : la sonde s'hybride + on - lien.

II principe d'utilisation.

permet le repérage seq ADN par hybridation
utilisation syst marqué par traceur radioactif ou marquage enzym.
l'ADN nucléaire doit être fragmenté & ϕ en utilisant enzym de restriction.
frag isolés obtenus par électroph. sur le gel on applique la sonde \rightarrow
 \hookrightarrow hybridation.

agarose = gel mou, transfert sur plaque rigide de nylon.

electrotransfert en contact par pression.

Le contenu passe sur le support de nitrocellulose.

plusieurs frag contenant portion du gène à identifier.

long variable selon est env restriction, qui est ttes hybridables
(pas la m place en electro q)

en parallèle: marqueurs, témoins de PN épis.

III préparation et une sonde

plusieurs sources

frag DNA humain, extrait et préparé grâce à endonucléases de restriction
d génome humain.

ls isoler, purifier, même déterminée en electro q.

puis marqué → sonde. à long Δ et longues.

prépare DNAC

RNA_m isolé ou dT, synthèse par transcriptase inverse.

hybridation possible qu'avec ceux.

très longue → difficiles à marquer

sondes courtes 20 à 30 dnt de synthèse.

I synthétiseurs de DNA. neu modèle, structure de départ.

dt ne courte

conserve non marquée (* → altération = radiolyse), par réinsertion de
plasmide ou cosmide → introduit ds bact hôte → amplification

2^e façon → ds phage → contamine bact → X_{ca}Ø, moins utilisé.

3^e procédé: PCR. consiste à amplifier par intermédiaire de la
Taq polymérase concernant une seq double brin.

cycles. ØC élevée puis basse → réplique DNA puis hybridation

brin néosynthétisés.

30 cycles \rightarrow $\times 10^6$ la sq initiale.

erreur: anomalie de transcription.

haute efficacité.

marquage sonde.

entre 5'P entre 3'OH

5'P \uparrow _____ 3'OH en ajoutée à 3'OH: dNTP^{*} ^{32S}.
5'P dNTP^{*} _____ 3'OH \downarrow didéoxyadéosine phosphatée.

marquages faibles

N° pour marquage entre lui à un enzyme comme phosphatase ou guanylate.
pb de gêne stérique. Le prot enz de marquage très encombrant
important.

marquage à la digoxine: partie aglycone. révélation par Ac anti
digoxine marquée.

incorporer histine sur un dT. biotinyle par avidine (prot blanc
d'œuf) marquée.

de + en + syst revêl faibl.

IV préparation DNA à analyser.

à partir de ϕ , tissus pathologiques.

maladies héréditaires \rightarrow sur cultures ϕ . fibroblastes de peau. ϕ D de
sujets malades.

létions génomiques sur les ϕ . pas de ces tissus concernés.

RFLP = restriction fragment length polymorphisme.

à DNA étudier / ADN témoin \rightarrow m enz restriction. mutation sur site de
restriction \rightarrow frag obtenu mra + long chez le malade que sur sujet sain.

V application

• ADN Southern & tracé électrophorétique
en spot: technique de DOT blot: diag mucoviscidose.
sur papier buvard. pas d'électroφ → mutation gène en prénatal ou
sg fœtal.
φ fœtales de sg maternel → localiser lésions sur ces φ.

oncologie, recherche mutation oncogène = contrôle de copie
1 mutation = dérégulation gène → φ transformé.
mutation sur anti-oncogène empêche et participe au contrôle des
oncogènes (p53).

base du génie gén.

I introduction.

gène gén = un groupe ss ce terme l'Σ des tech
dépendant de l'imm⁰ de génome de ϕ vivante d'un
segment DNA + ou - long qui partage la destinée
de l'ADN de la ϕ hôte, se réplique, et transcrit
et traduit comme lui, ce qui permet produire un pol
Q ADN, ARN et pol correspondants aux segments
introduits.

mith \rightarrow industrie

modif génome individuel à des fins correction \rightarrow climen-
tation humaine, plantes d'ornement, etc.

moléculaire: cf doc.

repose sur biochimie d'expression et analytique du DNA.

hybridation moléculaire \rightarrow sondes. unific⁰ de 2 brins.

hétérogènes.

longues: consensus DNA + ou - long à l'int organisme

vivants \rightarrow X⁰ et récipr⁰ ultérieure.

Southern, Northern

\hookrightarrow hybrida⁰ DNA \hookrightarrow RNA. utilis⁰ sondes.

bon gène. Il gène s'exprime par $\text{RNA}_m \rightarrow$
d'abord par ARN_m qui va maturer, quite séquences
non codantes introns. $\rightarrow \text{RNA}_m$.
notion transcrit, traduction.

$\hookrightarrow \text{DNA} \rightarrow \text{RNA}$

$\hookrightarrow \text{RNA} \rightarrow \text{prot.}$

\hookrightarrow code génétique avec
dégénérescence (2 codons sur 3)

voir gène \rightarrow prot.

voir prot \rightarrow gène

utilisable de gène gène.

on préfère partir gène \rightarrow prot.

car structure $\text{DNA} =$ simple 4 lettres.

\hookrightarrow prot = 20 correspondants en AA.

longue génome, seq à exprimer. prot?.

pb: il faut y avoir quelque seq codantes.

jamais longue vouloir. quelque aléatoire.

\hookrightarrow récupérer RNA_m par poly A. à la fin.

\hookrightarrow récupérer sur poly dT par hybridation.

sur ribosome, AA, RNA_T , ATP....

inversement: on part prot.

\hookrightarrow séquençage prot.

\hookrightarrow construire oligo d'acide \rightarrow mat de sonde.

sonde amplifiée. pêche de longue donnée par

tech hybridation la seq gène correspondante.

\hookrightarrow localiser sur S.

autres travail = seq restriction.

50 000
ou min 100 000 prot
de corps humain.

E. coli: 2000 prot.

objectif : modifier génomique espèce pour modifier qualité, compartiment, etc.

cas des plantes (ex : PA, résistance au froid, aux maladies)

cas des animaux (de l'ovine : ↑ prod lait, qualité viande)

corriger lésion génomique chez l'homme. remplacement gènes déficients. thérapie génique.

lorsque maladie grave ponctuelle. 1 d'N° précis → porte à la protéine ses fonctions.

mucoviscidose : due à déficit grave modifier sécrétion mucus. déficient gène à cl. fonctionne avec protéine CFTR. 100 gènes mutés (la + Hz Δf 507). + de 400 mutations ≠.

↳ vecteur = adénovirus, admin par voie pulmonaire.

sement au site pulmonaire. ne va être fonctionnel que de sphère pulmonaire.

durée vie gène introduit = 100 j.

II principes méthode clonage gène.

disposer totalité gène et lui permettre de s'exprimer.

DNA recombinant = DNA préparé + utiliser transcription reverse à RNA_m. contient He l'info gène ne à synthétiser protéine.

≠ par rapport gène : il n'y a que les virus.

deux vecteurs clonage = support au vecteur sur DNA à X_{in}.

virus, plasmide, cosmide, lambda.

virus → ne + liste.

réaliser clonage: sélectionner clone. culture & dériver d'un seul & même patrimoine génétique.

certains produits du clonage.

certain ADN & ϕ mais difficilement utilisable.
on retrouve DNA entier ou sur longues ϕ .

par clonage: DNA_c . préparé par synthèse de RNA_m qui aura été préalablement isolé sur une colonne contenant oligo dT: qui sert d'amorce, permet à transcriptase reverse de synthétiser brin ADN complémentaire RNA_m .

les syst enz in vitro ont difficulté à synthétiser très grds longueurs.

2000 d'N. en termes: difficile.

puis isoler et identifier DNA_c , électro ϕ + sonder.

choix vecteur de clonage.

seq DNA qui sert de support aux fragments DNA à cloner.

doit être pas trop encombrante et facilement intégrable ds ϕ hôte

syst vecteur + seq DNA greffé doit pouvoir se reproduire facilement par division ϕ hôte.

→ plasmides.

seq amz consiste DNA circulaire chez bact $\hat{=}$ unité autonome replica. double brin à 10000 p bases.
résistance aux antibiotiques \rightarrow synthèse enz aux antibiotiques.
DNA facilement extractible.

lact doit se Xir rapidement
capacité du plasmide à se Xir au sein lact.

↳ jusqu'à 3000 copies par ϕ .

obtenir si traité pte phage croissance avec lact par
inhibe synthèse prot tel que le chloramphicol.
inconv: ne permet que clonage seq courtes.

→ phages (bactériophages T_1 , T_2 , T_3 , λ)
contaminants des lact.

X θ chez E. coli. filament histonin. infectent ϕ
en libérant à l'int ϕ lact leur DNA qui s'incorpore
de génome lact.

phage λ : DNA = 50.000.000 Pn.

incorpore seq génome. mais supérieure, n'attire que
15 à 20 kb.

ph contaminant θ = transduction.

si phage se Xir après avoir infecté ϕ . → cycle lytique
si " s'incorpore à DNA lact et seq dissimule pte
certains temps cycle lysogène.

→ cosmides.

structures partiellement artificielles. extrémités cos
des phages mono-caténaires ou prop adhésives
ou cosmide avec DNA plasmidique et une part entre 400
à 2500 pb sans syst comportant DNAP + extrémités cos
ou provenance phage.

ce syst capable incorporer DNA linéaire humain, la seq
DNA incorporable est de 35 à 45 kb.

→ *Lactococcus*.

seq très importantes 1000 kb de *Lactococcus*.

→ $XbaI$ du DNA humain.

choix & hôte.

doit posséder caractéristiques:

- facilement cultivable, σ $XbaI$ rapide. *E. coli*: 30 min.
- doit héberger les λ de lact.
- non pathogène, sensible aux antibiotiques, génome connu. (environnement gène de régulation).
- Le lact doit pouvoir donner colonies facilement isolables *E. coli*, *B. subtilis*, *Strepto*.

préparation vecteur.

& vecteur isolé.

plasmide extrait, coupé par un λ de restriction.

un λ restreint pour couper DNA à greffer. une introduction de vecteur | seq promoteur provenant autre génome (phage λ). | seq DNA permettant voir qualité | seq DNA \rightarrow complexe initié λ traduction.

une gène marqueur \rightarrow permet identifier & qui ont le plasmide recombinant \rightarrow gène à un λ \rightarrow rx coloré.

structure lancée par ligase. et réintroduit le plasmide de lact.

culture et dosage.

lact isolé soumis à plasmides modifiés. cela de ce pour faciliter perméabilité au lact aux plasmides.

culture \leftarrow hôte \leftarrow étr.

du lact \rightarrow dose &.

repiquage clones. → culture en flacon ou culmenzyme.

caractériser produit clone.

↳ on s'adresse au produit expression du gène.
analyse par électrophorèse ou Ac.

IV exemple clone:

domaine santé.

pour chq espèce lorsque DNA génomique → étude expression des gènes

accord mondial pour étude génome humain.

gène qui appliqué à homme thème génomique → implique connaissance maladie et remplacer gène. corriger défaut gène.
conséquence lésion génomique sur gamète → pb éthique. [non].

utilisé pour produire protéine à utiliser thème.

→ insuline, 1 gène → syst simple.

(→ LH, protéine 2 chaînes PPI = 30000 originaire de 2 gènes ?)

→ f VII IX

→ α₁ anti cholestérol