

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique



Université des Frères Mentouri Constantine  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Animale

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة والحياة  
قسم بيولوجيا الحيوان

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie  
Filière : Sciences Biologiques  
Spécialité : Génétique

---

Étude de l'association du polymorphisme I/D du gène ECA avec la  
leucémie aigüe lymphoïde (LAL) chez l'enfant dans  
la région de Constantine

---

Présenté et soutenu par : *Merouani Amina*

Le 13/07/2021

*Merouani Meriem Aicha*

Jury d'évaluation :

Président : Dr BENHIZIA Hayet (MCA - Université des Frères Mentouri, Constantine 1).

Encadreur : Dr GAHRZOULI Razika (MCA - Université des Frères Mentouri, Constantine 1)

Examineur : Dr SEMMAME Ouarda (MCB - Université des Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire  
2020 - 2021

# *Remerciements*

Nous remercions **Dieu** le généreux qui a enseigné à l'homme ce qu'il ne savait pas et de nous avoir donné le courage et la patience pour achever ce travail.

Nous remercions notre encadreur Madame **Gharzouli Razika ep Fertoul**, pour son aide et ses précieux conseils dans le but de mener à bien notre mémoire de fin d'études, nos sincères remerciements.

A madame **Benhizia Hayet** d'avoir accepté de présider notre jury de soutenance. Nous remercions madame **Semmame Ouarda** pour avoir accepté d'examiner notre travail et nous avoir fait honneur de siéger au jury de notre soutenance.

Nous tenons à remercier madame **Sata Dalila** et monsieur **Rezgoune Mohamed Larbi** pour les efforts fournis durant nos années d'études, ainsi que tous les professeurs de la promotion Master1 et Master2 génétique qui étaient à la hauteur de cette lourde responsabilité, merci du fond du cœur.

Enfin, nous disons merci à tous ceux qui nous ont aidé et encouragé dans la concrétisation de ce mémoire. Qu'ils trouvent notre gratitude et nos sincères remerciements.

## *Dédicaces*

A la lumière de mes yeux : mes parents pour leurs invocations leur soutien et encouragements le long de mon parcours universitaire et professionnel que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux et votre soutien infaillible, merci d'être toujours là pour moi.

A ma sœur Amina ma moitié qui a partagé avec moi deux années d'études en Master, à mon adorable petite sœur Aya.

Je remercie mon cher frère et sa femme pour leur précieuse aide sans oublier leur petit ange Eline.

A Mme Nouar.S de m'avoir créer un climat professionnel agréable et à l'hauteur, pour son aide et sa générosité, merci du fond du cœur.

A mes deux grands-mères que Dieu les accueille dans son vaste paradis et à mon grand père que Dieu nous le garde.

## *Dédicaces*

Je dédie ce travail à mes chers parents qui m'ont soutenu durant mes années d'études qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.

A ma sœur aînée mon exemple pour ces deux merveilleuses années en Master.

A mon adorable petite sœur Aya que je lui souhaite la réussite dans ses études.

A mon frère et sa femme pour leurs efforts fournis durant ce travail et à leur adorable fille Eline.

A mon professeur de science en lycée Mme Laouar Souheila .

A mes très chères amies Amouni Z, Nermine B, Boutheina M et Hanene GH.

A mes deux grands-mères que Dieu les accueille dans son vaste paradis et mon grand-père que Dieu nous le garde.

# *Table des matières*

Remerciements

Dédicaces

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

**Introduction ..... 1**

## *Partie bibliographique*

**I. Généralité ..... 3**

I.1. Le sang..... 3

I.1.1. Le plasma..... 3

I.1.2. Les éléments figurés (Cellules) ..... 3

I.1.2.1. Les hématies ou les globules rouges ..... 4

I.1.2.2. Les polynucléaires Neutrophiles (PPN) ..... 5

I.1.2.3. Les polynucléaires Eosinophiles (PNE) ..... 6

I.1.2.4. Les Polynucléaires Basophiles (PNB)..... 7

I.1.2.5. Les monocytes (Mono)..... 8

I.1.2.6. Les lymphocytes (Ly)..... 9

I.1.2.7. Les plaquettes (Pq) ..... 10

I.2. La moelle osseuse..... 11

**II. Épidémiologie ..... 13**

II.1. Épidémiologie descriptive ..... 13

II.1.1. Leucémies aiguës lymphoïdes (LAL)..... 14

<b>II.1.1.1.</b> LAL de la lignée B.....	14
<b>II.1.1.2.</b> LAL de la lignée T.....	14
<b>III. Physiopathologie.....</b>	<b>15</b>
<b>III.1.</b> L'hématopoïèse.....	15
<b>III.1.1.</b> Lieu de l'hématopoïèse.....	16
<b>III.1.2.</b> Cellules de l'hématopoïèse.....	16
<b>III.1.2.1.</b> Les cellules souches pluripotentes (Stem cells).....	16
<b>III.1.2.2.</b> Les progéniteurs.....	16
<b>III.1.2.3.</b> Les précurseurs.....	16
<b>III.1.2.4.</b> Les cellules matures.....	16
<b>III.1.3.</b> Etapes de l'hématopoïèse.....	17
<b>III.1.3.1.</b> Hématopoïèse primitive.....	17
<b>III.1.3.2.</b> Hématopoïèse définitive.....	17
<b>III.2.</b> Leucémogénèse.....	17
<b>IV. Diagnostic et symptômes... ..</b>	<b>18</b>
<b>IV.1.</b> Aspects cliniques des leucémies aiguës de l'enfant.....	18
<b>IV.1.1</b> Symptômes liés à l'insuffisance médullaire.....	18
<b>A.</b> Un syndrome anémique.....	19
<b>B.</b> Un syndrome hémorragique (liée à la thrombopénie).....	19
<b>C.</b> Un syndrome infectieux lié à la neutropénie.....	19
<b>IV.1.2</b> Symptômes de l'infiltration tumorale.....	19
<b>V. Classification des leucémies aiguës.....</b>	<b>20</b>
<b>V.1.</b> Définition.....	20
<b>V.2.</b> Classification des LAL.....	20
<b>V.2.1.</b> Classification des LAL selon l'OMS.....	20

<b>V.2.2.</b> Classification franco-américano-britannique « FAB » .....	22
<b>VI. Anomalies génétiques retrouvées dans les LAL</b> .....	<b>23</b>
<b>VI.1.</b> Anomalies génétiques retrouvées dans les LAL-B.....	23
<b>VI.2.</b> Anomalies génétiques retrouvées dans les LAL-T.....	27
<b>VI. 3.</b> Pronostic.....	28
<b>VII. La prise en charge des leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL)</b> ... ..	<b>29</b>
<b>VII. L'enzyme de conversion de l'angiotensine</b> .....	<b>31</b>
VIII.1. Protéine de l'ECA.....	31
VIII.2. Structure de l'ECA.....	31
VIII.3. Rôle de l'ECA.....	32
VIII.4. Gène de l'ECA.....	32
VIII.5. Polymorphisme génétique de l'ECA.....	33
VIII.6. Expression de l'angiotensine II dans les tumeurs.....	34

*Patients et méthodes*

<b>IX. Patients et méthodes</b> .....	<b>36</b>
IX.1. Patients.....	36
IX.1.1. Recrutement de la population des patients.....	36
IX.1.2. Recrutement des témoins .....	36
IX.2. Méthodes .....	36
IX.2.1. Questionnaires et enregistrement des patients.....	36
IX.2.2 . Extraction d'ADN .....	37
IX.2.3. Recherche du polymorphisme de l'ACE .....	37
IX.2.4. Contrôle des produits de la PCR.....	39

*Résultats et Discussion*

**X . Résultats et discussion .....42**

**Conclusion.....45**

**Références Bibliographiques..... 47**

**Annexes**

**Résumé**

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Les hématies, (a) : sous microscope électronique à balayage; (b) : sous microscopie optique ..5	..5
<b>Figure 2</b> : Les polynucléaires neutrophiles sous le microscope optique.....7	..7
<b>Figure 3</b> : Les polynucléaires eosinophiles sous le microscope optique.....8	..8
<b>Figure 4</b> : Les Polynucléaires basophiles sous le microscope optique.....9	..9
<b>Figure 5</b> : Les monocytes sous microscopie optique.....10	..10
<b>Figure 6</b> : Les lymphocytes sous microscopie optique.....10	..10
<b>Figure 7</b> : Les plaquettes sous microscopie optique.....11	..11
<b>Figure 08</b> : Une pathologie qui affecte la production de cellules sanguines.....13	..13
<b>Figure 9</b> : Les mécanismes d'hématopoïèse .....15	..15
<b>Figure 10</b> : structure de l'ECA (Protein Data Bank).....32	..32
<b>Figure 11</b> : Locus du polymorphisme génétique de l'ECA.....33	..33
<b>Figure 12</b> : Photographie du profil électrophorétique des fragments amplifiés par PCR du gène <i>ECA</i> sur gel d'agarose à 2% .....42	..42

## *Liste des Tableaux*

<b>Tableau 1</b> : Cytologie LAL, classification « FAB » .....	<b>22</b>
<b>Tableau 2</b> : Préparation du MIX .....	<b>38</b>
<b>Tableau 3</b> : Programme utilisé au thermocycler .....	<b>39</b>

## Liste des abréviations

**ABL1** : Proto oncogène 1 d'Abelson

**ACF** : Facteur d'assemblage et de remodelage de la chromatine utilisant l'ATP

**ACPG** : Récepteur couplé aux protéines G

**AFF1** : Membre 1 de la famille AF4/FMR2 **ARA2** : Antagoniste des récepteurs de l'angiotensine

**AT1R** : Récepteur de type 1 à l'angiotensine II

**AT2R** : Récepteur de type 2 à l'angiotensine II

**BCR**: *Breakpoint cluster regions*

**BET**: Bromure d'ethidium

**CD** : Différentiation cluster

**CDKN2A** : Inhibiteur de la kinase dépendante de la cycline 2A

**CMF** : Cytométrie de flux

**CSH** : Cellule souche hématopoïétique

**DD** : Délétion/Délétion

**dTTP** : Désoxycytidine triphosphate

**ECA** : Enzyme de conversion de l'angiotensine

**ECP** : *Eosinophil cationic protein*

**EDTA** : Ethylène diamine tétra-acétique

**ERG** : *Ets related gene*

**ETP**: *Early T precursor*

**ETS**: *Ets related gene*

**ETV6** : *Ets variant 6*

**FAB** : Franco-Américano-Britannique

**FISH**: *Fluorescence in situ hybridization*

**HLF**: *Hepatic leukemia factor*

**HOX** : Homeo box

**IAMP21** : Amplification intrachromosomique du chromosome 21

**ICE** : Inhibiteur de l'enzyme de conversion

**I/D** : Insertion/Deletion

**IDM** : infarctus du myocarde

**IgE**: Immunoglobuline E

**IGH**: *Immunoglobulin heavy*

**IKZF**: *IKAROS family zinc finger 1*

**KMT2A** : Lysine methyltransferase 2A

**LA** : Leucémie aiguë

**LAL** : Leucémie aigue lymphoblastique

**LAL-B** : Leucémie aigue lymphoblastique de la lignée B

**LAL-T** : Leucémie aigue lymphoblastique de la lignée T

**LH\_LR** : Hormone de libération de la lutéinostimuline

**LY**: Les lymphocytes

**MBP**: *Myelin basic protein*

**MGG**: *May Grünwald Giemsa*

**MLL** : Leucémie de lignée mixte

**MLLT** : Leucémie de lignée mixte transloquée sur le chromosome

**MONO** : Les monocytes

**MRD** : Evaluation de la maladie résiduelle

**NK**: *Natural killer*

**OMS** : Organisation mondiale de la santé

**P**: Bras court du chromosome

**Pb** : Paire de base

**PBX1**: *Pre-B-cell leukemia homeobox 1*

**Ph LIKE**: Chromosome philadelphie

**PIK3** : PhosphoInositide 3 kinase

**PNB** : Les polynucléaires basophiles

**PNE** : Les polynucléaires eosinophiles

**PNN** : Les polynucléaires neutrophiles

**PQ** : Les plaquettes

**q** : Bras long du chromosome

**RAS** : Système rénine  
angiotensine

**RB1** : Rétinoblastome 1

**RPM** : Révolutions par minute du rotor

**RT** : *Reverse transcription*

**RUNX1** : *Runt-related transcription factor 1*

**SARS** : Syndrome respiratoire aigu sévère

**SDS** : Dodécylsulfate de sodium

**SNP** : *Single nucleotide polymorphism*

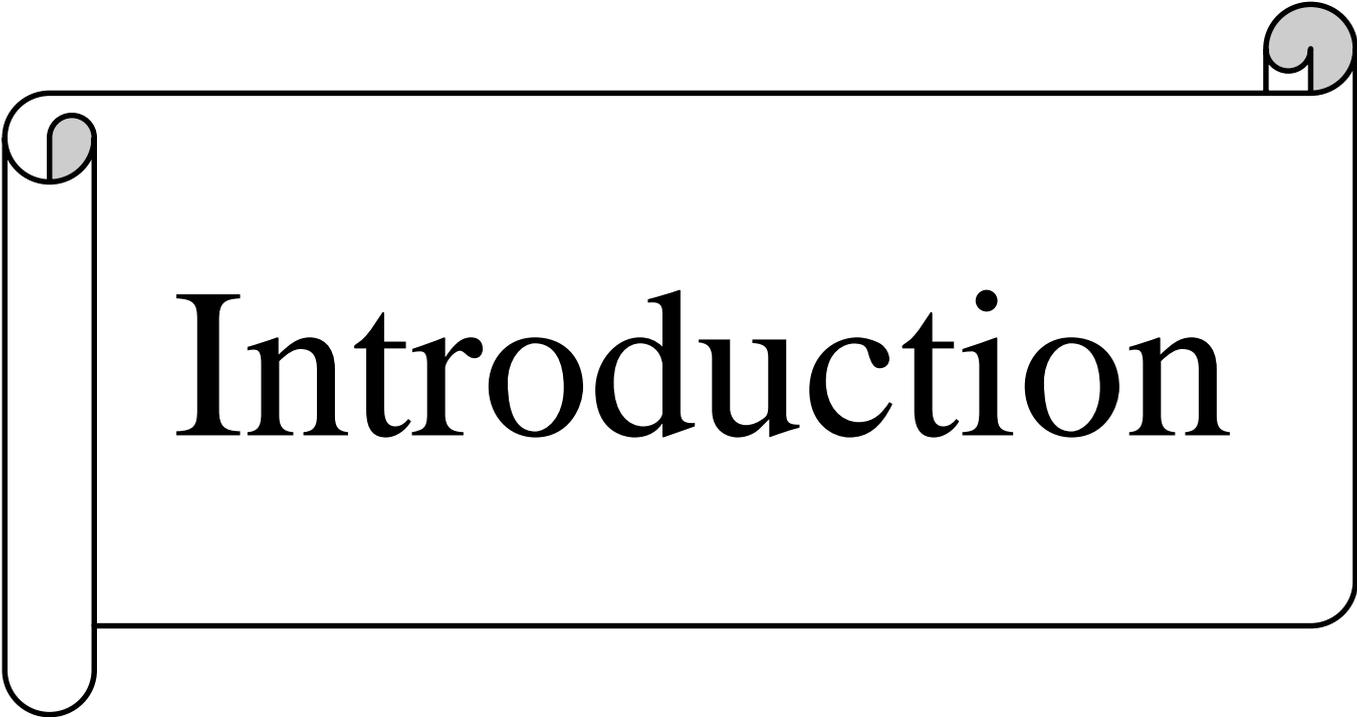
**t** : Translocation

**TBE** : Tris Borate EDTA

**TCF** : *Transcription factor*

**TE** : Tris EDTA

**TEL-AML1**: fusion génique dérivée d'une translocation chromosom



# Introduction

# Introduction

---

La première description d'une leucémie a été publiée en 1827 par l'anatomiste français

**Alfred Armand Louis Marie Velpeau** à la suite de l'examen du cadavre d'un homme âgé de

63 ans décédé suite à une maladie qui a duré 2 ans, pendant laquelle il présentait une distension abdominale. L'autopsie a objectivé une hypertrophie hépatosplénique (probablement une transformation aiguë d'un processus myéloprolifératif chronique).

La découverte de la fonction hématopoïétique de la moelle osseuse par **Ernst Neumann** en 1869 a conduit au concept de leucémie myélogène et à une classification en trois formes (myélogène pure, splénique et lymphatique avec trouble de la moelle).

**Otto Naegeli 1900** a permis par la suite d'identifier les « myéloblastes » précurseurs des myélocytes et les a distingués des « lymphocytes » et a décrit « la leucémie myéloblastique » une entité qui se substituait naturellement au diagnostic du mélange de deux leucémies. La classification des leucémies en une série de variétés distinctes s'est imposée du simple fait de leurs diversités cytomorphologiques.

Cette constatation a débouché sur la réunion d'un groupe de travail composé d'hématologistes français, américains et britanniques en 1974, leurs travaux ont conduit à la publication en 1976 de la classification franco-américano-britannique « FAB » fondée sur l'examen de lames colorées et l'emploi de réactions cytochimiques, et qui a permis de dissocier les leucémies myéloïdes des leucémies non myéloïdes « lymphoblastiques ».

En 2001, l'OMS a proposé une classification en ajoutant des données génétiques et cliniques sur les critères de la classification FAB, ainsi qu'une actualisation des données en 2008.(**Adnaoui, 2014**).

La leucémie aiguë est une hémopathie maligne caractérisée par une infiltration et une prolifération de cellules hématopoïétiques immatures qu'on appelle : blastes, la moelle osseuse, le sang et les tissus. On classe les leucémies aiguës selon l'origine des blastes lorsque les blastes sont d'origine de la lignée myéloïde on dit que c'est une LAM et lorsqu'ils proviennent de la lignée lymphoïde on dit que c'est une LAL.

La leucémie aiguë est la forme du cancer pédiatrique la plus fréquente qui couvre 30 à 35% des cas de pathologie maligne chez l'enfant. Les travaux biologiques notamment

# Introduction

---

dans la génétique moléculaire ont rapporté beaucoup de progrès dans la compréhension de la leucemogenese. Le taux de guérison des leucémies ne cesse de s'améliorer grâce aux techniques de biologie moléculaire qui ont permis de détecter les formes les plus persistantes de cette pathologie.

Dans notre travail nous nous sommes intéressés à la leucémie aiguë d'origine lymphoïde (LAL) chez l'enfant. Notre document est divisé en deux grandes parties : la première étant une étude bibliographique résumant les différents éléments de recherche évoqués dans la littérature, en traitant la clinique, l'épidémiologie, les physiopathologies y compris l'aspect génétique et les différentes anomalies responsables de l'apparition de cette pathologie. La deuxième partie est une étude moléculaire qui consiste à extraire l'ADN des patients et d'étudier l'implication du polymorphisme du gène *ECA* chez des enfants leucémiques.

Notre but est d'étudier la corrélation entre le polymorphisme du gène de l'ECA et la leucémie aigue lymphoïde infantile.

Le but général de cette étude reste l'apport d'un plus à la compréhension et à la familiarisation avec cette maladie pour une meilleure prise en charge des enfants souffrant de cette maladie.



*Partie  
bibliographique*

# Partie bibliographique

---

## I. Généralité

### I.1. Le sang

Le sang est un liquide organique mis en mouvement (aspiré et refoulé) par le cœur et qui circule dans toutes les artères, les veines et les capillaires. Il est composé de plasma, de globules blancs (leucocytes), de globules rouges (érythrocytes) et de plaquettes (thrombocytes).

Le sang est l'un des trois principaux liquides de l'organisme (les deux autres sont les liquides situés autour et à l'intérieur des cellules). Il transporte l'oxygène, les nutriments et les messagers hormonaux à chacune des cellules de l'organisme et les déchets provenant de celles-ci. Il a également un rôle dans la défense de l'organisme contre les corps étrangers. **(Gairard et al, 2007).**

#### I.1.1. Le plasma

Il s'agit de la partie liquide du sang. Il est composé à 91% à 92% d'eau salée. Il transporte les globules rouges, les plaquettes et les globules blancs dans tout le corps. On appelle cela le système vasculaire, l'ensemble de nos vaisseaux sanguins. Il apporte toutes les substances nutritives dont nos tissus ont besoin et il récupère en retour leurs déchets pour les transporter vers les organes destinés à les éliminer. **(Mathew et al, 2021).**

#### I.1.2. Les éléments figurés (Cellules)

Le sang est composé de cellules sanguines en suspension dans le plasma. L'ensemble est contenu dans les vaisseaux sanguins. Le volume total du sang d'un adulte humain est de 5 litres. Les cellules en suspension représentent 45% du volume total, ce qui correspond à l'hématocrite. Leur morphologie peut être étudiée sur un frottis coloré au May Grünwald Giemsa (MGG).

Il existe plusieurs types cellulaires : les globules rouges ou hématies, les globules blancs ou leucocytes (se répartissent en : polynucléaires ou granulocytes, monocytes, lymphocytes), les plaquettes.

Les éléments figurés du sang ont des durées de vie limitées ; il existe un équilibre dynamique entre leur production (l'hématopoïèse et la lymphopoïèse) et leur

# Partie bibliographique

---

destruction. **L'hématopoïèse** est la production des précurseurs sanguins (prolifération, différenciation et maturation) et se déroule dans les organes hématopoïétiques (moelle osseuse chez l'adulte, foie et rate chez l'embryon). **La lymphopoïèse** comprend la production des précurseurs lymphoïdes qui se passe au niveau de la moelle osseuse. Elle se termine par la maturation des lymphocytes dans le thymus pour les lymphocytes T et par la prolifération des cellules dans les organes lymphoïdes secondaires **(WB1)**.

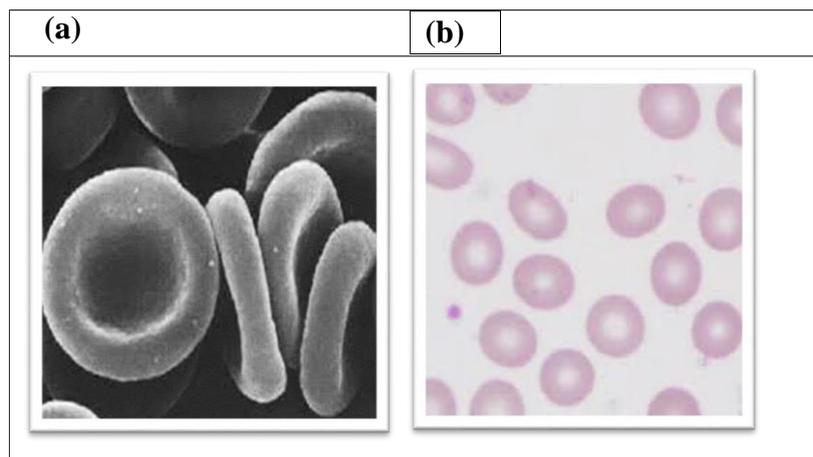
## I.1.2.1. Les hématies ou les globules rouges

Les globules rouges, aussi appelés hématies ou érythrocytes, sont les cellules du sang chargées du transport de l'oxygène. Plus précisément, c'est le pigment qu'elles contiennent, l'hémoglobine, qui se lie à l'oxygène pour l'apporter à toutes les cellules de l'organisme.

Les globules rouges sont des cellules particulières, dépourvues de noyau. Elles sont produites dans la moelle osseuse par les cellules souches hématopoïétiques et vivent normalement 120 jours, avant d'être détruites.

Elles ont une forme de « disque biconcave », facilement reconnaissable, et une couleur rouge due à la grande quantité d'hémoglobine qu'elles renferment (Fig.1)

**(WB1) ;(Gairard et al, 2007).**



**Figure 1** : les hématies, (a) : sous microscope électronique à balayage; (b) : sous microscopie optique **unf3s (campus.cerimes.fr)**.

# Partie bibliographique

---

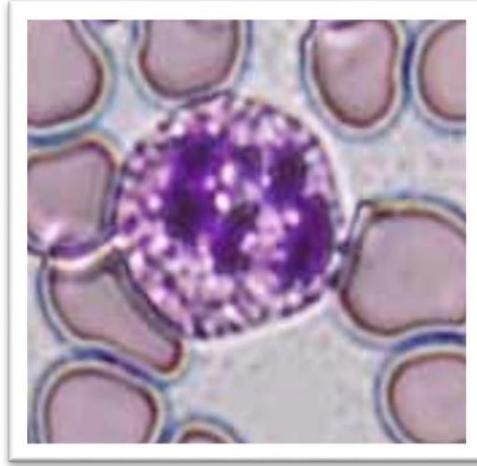
## I.1.2.2. Les polynucléaires Neutrophiles (PPN)

Ce sont les polynucléaires les plus nombreux 40 à 75 % de l'ensemble des globules blancs. Leur durée de vie est de l'ordre de 24 heures. Leurs granulations spécifiques sont neutrophiles.

En microscopie optique (fig. 2), ce sont des cellules d'environ 12  $\mu\text{m}$  de diamètre, le noyau est généralement trilobé mais le nombre de lobes varie de 2 à 5 lobes et est un indice de maturation de la cellule. La formule d'**Arneth** est la répartition des polynucléaires neutrophiles en fonction du nombre de lobes. Le cytoplasme apparaît clair, non colorable au MGG. En effet, les granulations azurophiles ne sont colorables que par la mise en évidence spécifique de la myéloperoxydase.

En microscopie électronique, le noyau a une chromatine dense, le cytoplasme contient deux types de granulations : **les granulations non spécifiques ou primaires**, azurophiles qui renferment une myéloperoxydase, des hydrolases acides et du lysosyme et **des granulations spécifiques secondaires**, neutrophiles, de petite taille (0,3 à 0,8  $\mu\text{m}$ ) éparées dans le cytoplasme. Ces granulations sont dépourvues d'enzymes lysosomiales et de peroxydases mais contiennent du lysosyme et de la collagénase. Il existe en périphérie de la cellule une bande riche en filaments d'actine.

La fonction de ces neutrophiles est la défense non spécifique de l'organisme et notamment la lutte anti-bactérienne. Cette fonction est permise par les propriétés des neutrophiles : les phénomènes de diapédèse leur permettent de quitter le milieu sanguin en passant entre les cellules endothéliales. Ces phénomènes sont assurés grâce à des cytokines sécrétées sur le lieu de l'infection, notamment l'interleukine 8 (IL-8) qui active les polynucléaires neutrophiles et par les molécules d'adhésion qui apparaissent à la surface du polynucléaire et se lient à leur ligand spécifique situé sur les cellules endothéliales. (WB1) ;(Shah et al, 2017).



**Figure 2 :** Les Polynucléaires Neutrophiles sous le microscope optique  
**unf3s (campus.cerimes.fr)**

### **I.1.2.3. Les polynucléaires Eosinophiles (PNE)**

Ces cellules représentent 1 à 3 % des globules blancs. Elles ont une demi-vie dans le sang circulant de 4 à 5 heures puis passent dans les tissus (peau, poumon, tractus digestif) où elles restent 8 à 10 jours. La proportion d'éosinophiles dans les tissus est 100 fois plus importante que celle du sang.

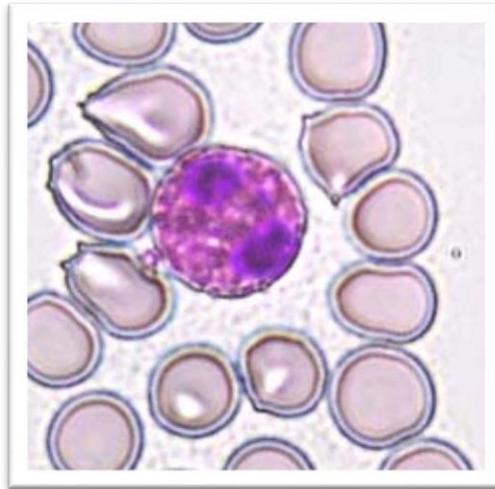
En microscopie optique (fig. 3), leur diamètre est de 10 à 14  $\mu\text{m}$ , le noyau est généralement bi-lobé, le cytoplasme apparaît en orangé au MGG, d'aspect granuleux à cause de la présence des granulations spécifiques. Ces granulations sont volumineuses et acidophiles. En microscopie électronique, les granulations spécifiques, éosinophiles sont volumineuses, de 0,5 à 1,5  $\mu\text{m}$  de diamètre et contiennent une matrice granulaire au sein de laquelle se trouve une formation cristalloïde allongée. Ces granulations contiennent une peroxydase (différente de la myéloperoxydase des neutrophiles) et des hydrolases acides.

Ces cellules participent en synergie avec d'autres cellules, aux réactions d'hypersensibilité immédiate et retardée. Elles ont à des degrés moindres que les neutrophiles des propriétés de bactéricides et de phagocytose. Elles interviennent essentiellement dans la destruction des parasites par l'intermédiaire de protéines de haut poids moléculaires (Eosinophil Cationic Protein - ECP et la Major Basic Protein - MBP) contenues dans les cristalloïdes des granulations. La membrane plasmique

# Partie bibliographique

---

possède un récepteur pour les immunoglobulines de type IgE et pour l'histamine. (WB1).



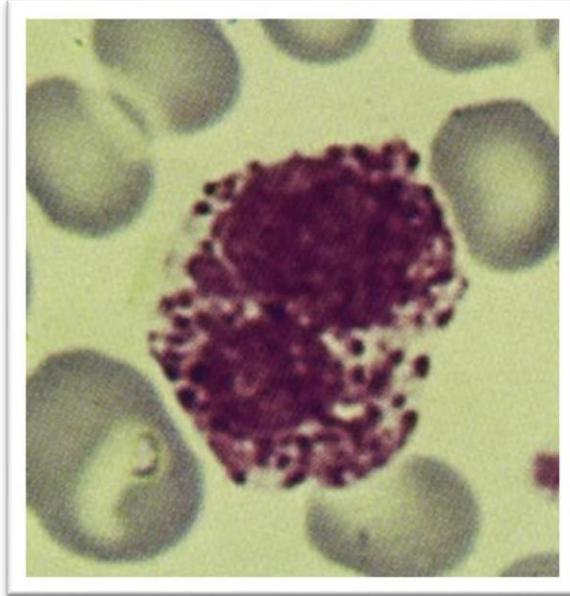
**Figure 3:** Les Polynucléaires Eosinophiles sous le microscope optique  
**unf3s (campus.cerimes.fr)**

## I.1.2.4. Les Polynucléaires Basophiles (PNB)

Les PNB sont les moins nombreuses des polynucléaires, (0 à 1 % de l'ensemble des globules blancs). La durée de vie de ces cellules est de 3 à 4 jours.

En microscopie optique (fig.4), ces cellules ont un diamètre de 10 à 14  $\mu\text{m}$ . Leur noyau est irrégulier. Il peut prendre un aspect de trèfle, qui est généralement masqué par les nombreuses granulations métachromatiques (prennent une coloration rouge avec les colorants acides comme le bleu de toluidine ou le bleu alcian) qui apparaissent pourpres au MGG. En microscopie électronique, les granulations apparaissent homogènes, formées de petits grains denses entourés d'une membrane. Ces granulations basophiles contiennent de l'histamine et de l'héparine (glycosaminoglycanes sulfatés). Les PNB sont les cellules des manifestations allergiques de type immédiat.

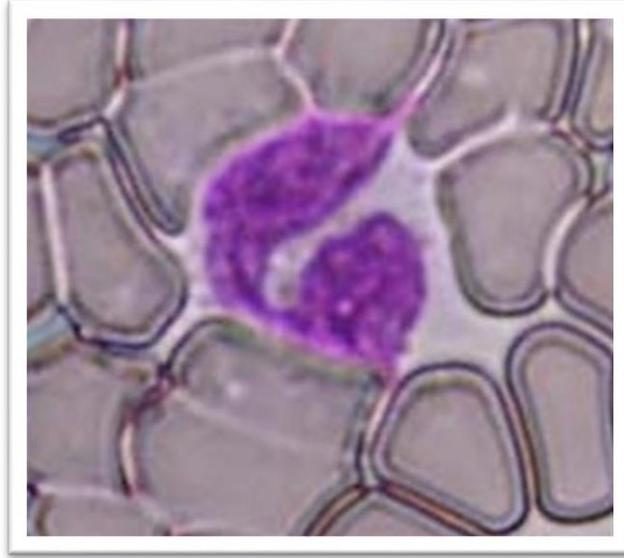
La membrane plasmique des basophiles possède des récepteurs pour le fragment Fc des immunoglobulines de type IgE. De ce fait, les IgE fabriquées de façon spécifique contre un allergène sont fixées à la membrane des basophiles. Quand il y a un nouveau contact avec l'allergène, le pontage des IgE par l'allergène provoque la dégranulation des basophiles, responsable des manifestations allergiques (WB1).



**Figure 4 :** Les Polynucléaires Basophiles sous le microscope optique  
**unf3s (campus.cerimes.fr)**

### **I.1.2.5. Les monocytes (Mono)**

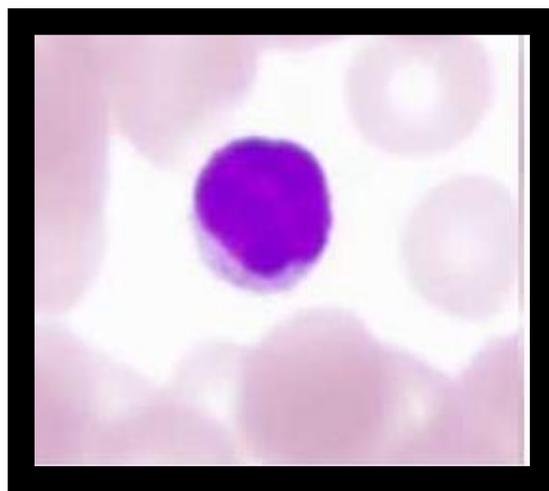
Un monocyte est une cellule sanguine de type globule blanc. Les monocytes sont de grosses cellules sanguines (de 20 à 40 micromètres de diamètre) mobiles produites par la moelle osseuse (fig.5), à partir des cellules hématopoïétiques, et plus particulièrement à partir des monoblastes. Ce sont des leucocytes jeunes, qui interviennent dans la phagocytose et l'hémostase (coagulation). Lorsqu'ils quitteront la circulation sanguine, les monocytes évolueront ensuite en différents types de phagocytes : les macrophages dans le tissu conjonctif, les microglies dans le système nerveux central, les ostéoclastes dans l'os (WB2) ;(Ziegler-Heitbrock, 2015).



**Figure 5 :** Les monocytes sous microscopie optique  
**unf3s (campus.cerimes.fr)**

## **I.1.2.6. Les lymphocytes (Ly)**

Les lymphocytes sont un type de globules blancs qui exercent une fonction immunitaire majeure dans la défense de l'organisme face à l'agression par des agents microbiens extérieurs. Ils sont produits dans la moelle osseuse et circulent dans le sang et les vaisseaux lymphatiques (fig.6). Il existe plusieurs types de lymphocytes, dont deux principaux, les B et les T, le troisième étant représenté par les lymphocytes du groupe NK (Larosa et Orange, 2008)



**Figure 6 :** Les lymphocytes sous microscopie optique  
**unf3s (campus.cerimes.fr)**

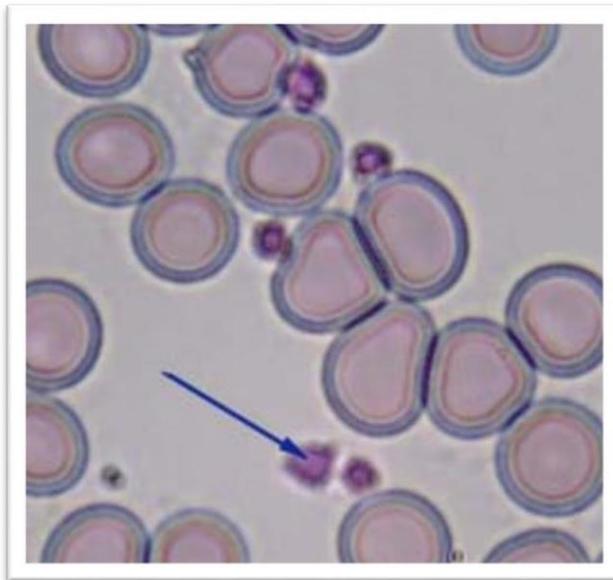
# Partie bibliographique

---

## I.1.2.7. Les plaquettes (Pq)

Les plaquettes, aussi appelées thrombocytes, sont des éléments retrouvés dans la circulation sanguine. Elles sont surtout connues pour leur rôle dans la coagulation du sang, et s'activent en cas de lésion vasculaire afin de stopper une hémorragie. Il ne s'agit pas de cellules à proprement parler, mais de fragments énucléés issus du fractionnement de grosses cellules appelées mégacaryocytes (fig. 7).(**Strassel et al, 2020**).

La principale fonction des plaquettes est de déclencher la coagulation du sang lors d'une lésion vasculaire. La blessure active les thrombocytes qui libèrent alors des facteurs de coagulation. S'ensuit une cascade de réactions aboutissant à la formation d'une protéine, la fibrine, qui permet la formation d'un caillot sur les lieux de la lésion, bloquant alors la sortie du sang. Ce caillot est éliminé une fois la cicatrisation opérée (**WB2**).



**Figure 7** : Les plaquettes sous microscopie optique  
**unf3s (campus.cerimes.fr)**

# Partie bibliographique

---

## I.2. La moelle osseuse

La moelle osseuse correspond au tissu situé au milieu des os de l'organisme. On distingue deux sortes de moelle osseuse : la moelle rouge et la moelle jaune.

- ✓ **La moelle rouge** est une moelle active ayant des fonctions majeures dans la formation des globules rouges, des plaquettes et de cellules immunitaires qui vont entrer en jeu dans la défense de l'organisme. Cette moelle est active dans tous les os chez le jeune enfant, mais son activité diminue avec le temps, elle n'est active à l'âge adulte quasiment exclusivement que dans certains os plats ou courts, dits spongieux.
- ✓ Dans les autres os dits os longs, une cavité centrale appelée cavité médullaire est de composition grasseuse : c'est **la moelle jaune**. Plus globalement, l'hématopoïèse désigne l'ensemble des mécanismes aboutissant à la production continue et régulée des cellules sanguines ayant pour but d'assurer l'équilibre du tissu hématopoïétique

La moelle osseuse, que l'on appelle aussi "moelle rouge" ou moelle hématopoïétique, est le lieu où se déroule l'hématopoïèse. Elle ne doit pas être confondue avec la moelle épinière qui est au centre du système nerveux. "Jusqu'à l'âge de 4 ans, la moelle osseuse se situe dans tous les os. Chez l'adulte, on la trouve dans le sternum, les côtes, les clavicules, l'os iliaque et les os longs (épiphyses du fémur et de l'humérus)", précise l'hématologue.

La moelle osseuse est le siège de l'hématopoïèse. Schématiquement, on distingue trois compartiments fonctionnels :

**Cellules souches hématopoïétiques (CSH)** : ce sont les cellules mères de toutes les cellules de la moelle osseuse et au final du sang. Elles ont trois fonctions principales:

- Elles sont capables d'auto renouvellement pour maintenir le stock de cellules sanguines à vie.
- Elles sont dites pluripotentes, c'est-à-dire qu'elles sont capables de donner naissance aux précurseurs de toutes les lignées hématopoïétiques.
- Elles sont dotées d'une capacité d'engagement en différenciation pour conduire en plusieurs étapes aux cellules du sang.

Ce sont les CSH qui permettent la reconstitution de toute l'hématopoïèse lors d'une greffe de moelle osseuse.

**Progéniteurs** : il s'agit des cellules engagées dans une lignée mais non reconnaissables au microscope.

# Partie bibliographique

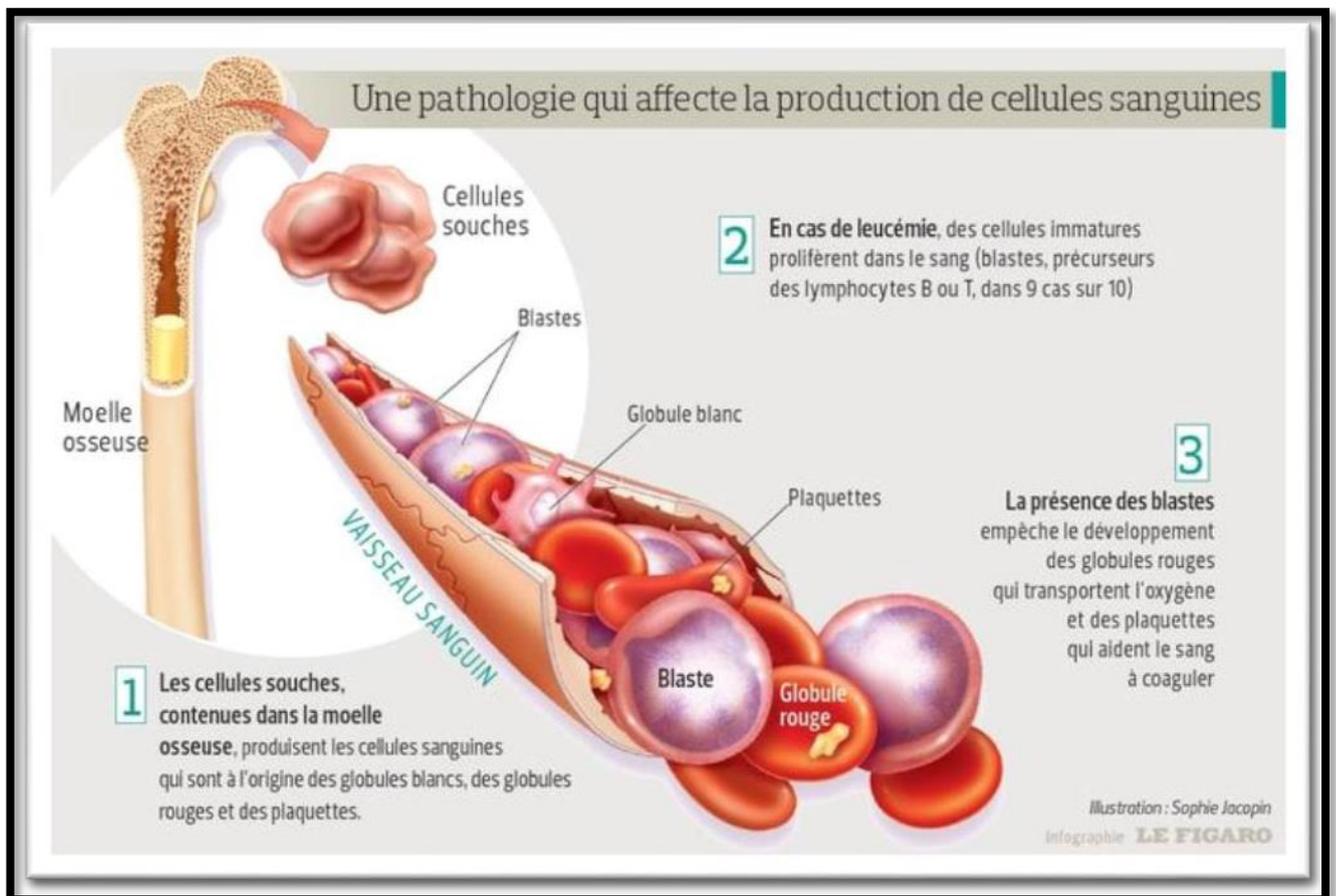
**Précurseurs** : reconnaissables au microscope, elles vont donner naissance aux cellules différenciées matures du sang. (WB3).

## II. Épidémiologie

### II.1. Épidémiologie descriptive

Les leucémies aiguës lymphoïdes (LAL) et myéloïdes sont des affections hémopathiques malignes (Fig. 8).

La LAL est le cancer pédiatrique le plus fréquent environ 30% dans l'ensemble des cas (Faraj et al, 2016).



**Figure 08:** Une pathologie qui affecte la production de cellules sanguines(<https://sante.lefigaro.fr>)

# Partie bibliographique

---

## II.1.1. Leucémies aiguës lymphoïdes (LAL)

La fréquence des LAL atteint un pic maximum chez l'enfant entre l'âge de 2 ans à 5ans est plus marqué chez les garçons que les filles. L'incidence globale des LAL varie selon les pays.

En France, l'incidence standardisée des LAL est de 34,3 cas par million d'enfants et par an soit 500 à 600 nouveaux cas diagnostiqués chaque année contre 6000 au Etats-Unis

Le pic d'incidence des LAL en France et aux Etats-Unis est situé entre 2 et 5 ans.

**(Naour, 2015)**

Dans les pays occidentaux les LAL ont une incidence supérieure à 6 avant l'âge de 4ans avec un pronostic meilleure que celui de l'adulte et le taux de survie est amélioré régulièrement.

**(Liesner et Goldstone 1997) ; (Raidelet, 2015).**

Selon les chiffres publiés en 2015 dans le rapport du Groupe franco-africain d'oncologie pédiatrique (GFAOP), chaque année, environ 1200 à 1300 cas de cancers pédiatriques sont diagnostiqués chez l'enfant en Algérie, ce nombre risque d'atteindre les 1450 cas à l'horizon de 2025.**(Aggoune,2020)**

### II.1.1.1. LAL de la lignée B

Les LAL B sont plus fréquentes et de meilleur pronostic que les LAL T dans les pays occidentaux. En pédiatrie les LAL B constituent environ 80% des LAL. Leur pic de fréquence se situe entre 2 à 5ans. L'incidence globale des LAL varie dans les pays; l'incidence la plus élevée est observée dans les populations hispaniques (Costa-Rica et Los Angeles) (5,94 et 5,02 respectivement), et l'incidence la plus basse en Afrique Noire (1,18 et 1,61 pour 105 enfants de moins de 15 ans). Les LAL sont moins fréquentes chez les enfants américains de race noire par rapport à ceux de race blanche.**(Faraj et al, 2016).**

### II.1.1.2. LAL de la lignée T

Les LAL T sont des affections malignes rares qui touchent les précurseurs lymphoïdes T mais sont plus graves et représentent environ 10 à 15% des LAL pédiatriques. Les LAL-T prédominent chez les enfants à l'adolescence ou chez les préadolescents et restent rares avant 5 ans. Le sex-ratio atteint 4 pour les LAL-T (Il est de 1,2 pour les LAL-B.**( Asnafi ,2015) ; (Faraj et al,2016).**

# Partie bibliographique

## III. Physiopathologie

### III.1. L'hématopoïèse

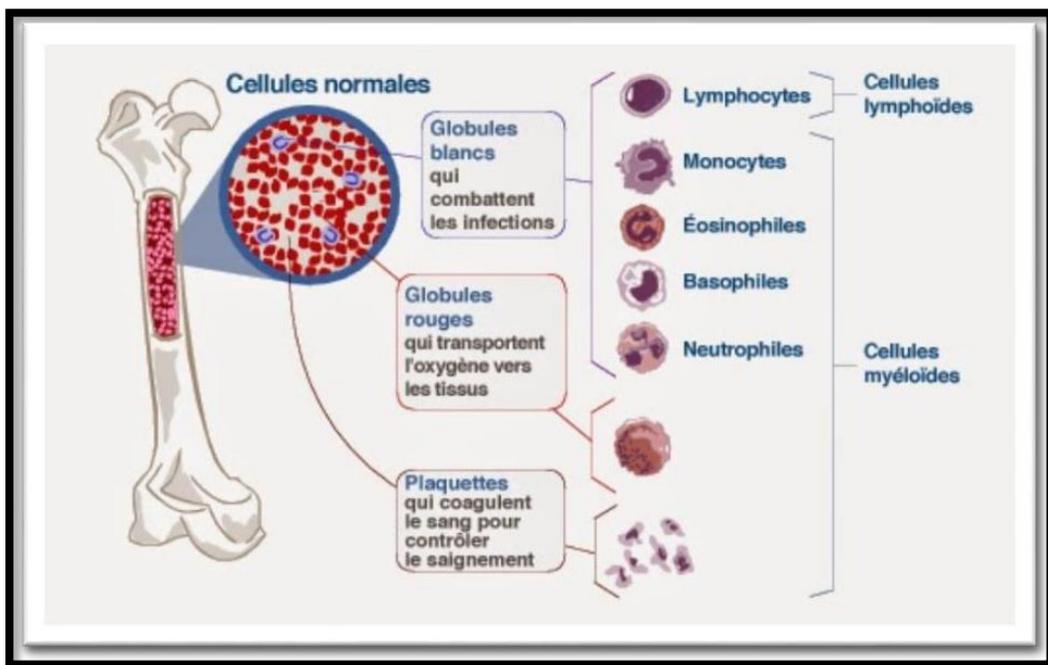
L'hématopoïèse et l'ensemble des mécanismes impliqués dans la production et le remplacement continu des cellules sanguines à partir d'une cellule hématopoïétique souche incluant (**Fig.9**):

Des cellules spécialisées dans la croissance des cellules de l'hématopoïèse.

L'auto renouvellement des cellules souches de l'hématopoïèse.

L'intervention des molécules extracellulaires (facteurs de croissance).

La différenciation vers l'une ou l'autre des cellules souches de l'hématopoïèse (**Jagannathan-Bogdan et al, 2013**).



**Figure 9** : Les mécanismes d'hématopoïèse (<http://recap-ide.blogspot.com>)

# Partie bibliographique

---

## III.1.1. Cellules de l'hématopoïèse :

Il existe 4 types cellulaires impliqués dans l'hématopoïèse :

### III.1.1.1. Les cellules souches pluripotentes (Stem cells)

Les cellules pluripotentes sont capables de se diviser indéfiniment, de s'auto-renouveler, c'est-à-dire de se multiplier sans se différencier, ce qui permet de garder un pool de cellules, de donner naissance à n'importe quelle cellule (**Faraj et al, 2016**).

### III.1.1.2. Les progéniteurs

Des cellules capables de se proliférer sans s'auto-renouveler ; sont légèrement différenciées mais on est incapable de les reconnaître au microscope, on les reconnaît par leurs marqueurs de surface ; sont habituellement déterminées et déjà engagées vers une seule lignée cellulaire. Ces cellules ont la particularité de subir de nombreuses divisions entre la cellule souche qui leur a donné naissance et les cellules différenciées, et subissent une différenciation progressive, ce qui permet à une cellule souche totipotente de donner naissance à une cellule irréversiblement destinée à se différencier en cellule de la lignée Lymphoïde ou Myéloïde .(**Faraj et al, 2016**).

### III.1.1.3. Les précurseurs

Cellules facilement reconnues morphologiquement sous microscope au Giemsa. On ne les trouve jamais dans le sang circulant, sauf en cas de pathologie. Ce sont des cellules en cours de maturation.

Les différents précurseurs : les myéloblastes (Futurs polynucléaires), les proérythroblastos (Futurs hématies), les mégacaryoblastes (Futurs plaquettes), les lymphoblastes (Futurs lymphocytes), les monoblastes (Futurs monocytes)(**Wb5**) ; (**Faraj et al, 2016**).

### III.1.1.4. Les cellules matures

Cellules terminales spécialisées et fonctionnelles.

Modifications spécifiques (noyau, membranes ...).

Les différentes lignées :

- Lignée érythrocytaire.
- Lignée plaquettaire.

# Partie bibliographique

---

- Lignée granulo-monocytaire.

Ces lignées produisent : les polynucléaires neutrophiles, éosinophiles et basophiles et les monocytes (wb5) ;(Faraj et al, 2016 ).

## III.1.2. Etapes de l'hématopoïèse

L'hématopoïèse embryonnaire consiste en 2 programmes: primitif et définitif qui diffèrent en termes de potentiel de développement. Le développement hématopoïétique se déroule dans différents organes (Quelen, 2011) ; (Sturgeon et al, 2014).

### III.1.2.1. Hématopoïèse primitive

C'est une hématopoïèse extra embryonnaire se déroule dans le sac vitellin à partir du 18<sup>em</sup> jour de la grossesse de la gestation jusqu'à la 8<sup>em</sup> semaine.

(Quelen ,2011) ;(Faraj et al, 2016).

### III.1.2.2. Hématopoïèse définitive

C'est une hématopoïèse embryonnaire du foie fœtal, du thymus de la rate puis finalement dans la moelle osseuse (Quelen, 2011).

## III.2. Leucémogénèse

Le système hématopoïétique est composé de plusieurs compartiments cellulaires allant des cellules souches hématopoïétiques aux cellules sanguines matures. Le maintien de l'homéostasie de ce système nécessite plusieurs mécanismes de régulation passant par plusieurs étapes (prolifération, différenciation et apoptose) (Adnaoui, 2014).

L'altération de l'une de ces étapes peut conduire au processus de leucémogénèse, qui est un mécanisme multi-étapes responsable de la transformation d'une cellule hématopoïétique normale en cellule leucémique (Adnaoui, 2014).

La leucémogénèse peut survenir à n'importe quel stade de l'hématopoïèse, depuis la cellule souche pluripotente jusqu'aux précurseurs déjà bien engagés dans une lignée précise.

Au cours de ce processus, il y'a une transformation maligne d'une cellule devenue incapable de se différencier en réponse aux stimuli physiologiques normaux, et qui se multiplie indéfiniment donnant naissance à un clone leucémique avec absence de la différenciation cellulaire, entraînant ainsi une défaillance de l'hématopoïèse normale (Adnaoui, 2014).

# Partie bibliographique

---

Cette pathologie se développe dans la moelle osseuse, mais peut s'étendre au sang (présence des blastes circulants dans certaines leucémies) ou à d'autres organes non hématopoïétiques (peau, gencives, système nerveux central...) (**Adnaoui, 2014**).

L'accumulation des cellules leucémiques n'est pas seulement causée par le taux important de la prolifération des cellules malignes, mais aussi par la perte de la capacité de la différenciation en cellules matures, ce qui donne aux cellules leucémiques un avantage de survie lié à un échappement à l'apoptose (**Adnaoui, 2014**).

## IV. Diagnostic et symptômes

Le terme « leucémie » signifie la présence dans le sang, des cellules anormales provenant de la moelle osseuse qui est le siège de l'hématopoïèse.

Le terme « lymphoblastique » se rapporte aux cellules impliquées dans la maladie : les lymphoblastes, qui à l'état normal, participent aux défenses de l'organisme.

Le terme « aiguë » signifie que la maladie s'installe rapidement : quelques jours ou quelques semaines entre les premiers symptômes et le diagnostic.

Le diagnostic des LAL repose sur la numération formule sanguine (NFS), effectuée par une prise du sang, et sur un autre examen de la moelle osseuse appelé myélogramme ce dernier est réalisé sous anesthésie locale, en insérant une aiguille creuse dans l'os du sternum (os plat situé au milieu de la poitrine) ou de la partie saillante de la hanche. Une petite quantité de moelle est alors aspirée, dans le but d'analyser par différents examens cytogénétiques des noyaux lymphoblastiques anormaux (**WB6**).

### IV.1. Aspects cliniques des leucémies aiguës de l'enfant

#### IV.1.1 Symptômes liés à l'insuffisance médullaire

L'incapacité de la moelle osseuse à fabriquer les cellules sanguines normales est un signe révélateur d'une leucémie en raison de la prolifération anarchique des cellules leucémiques qui envahissent cette dernière.

Celle-ci ne peut alors plus fonctionner correctement et notamment assurer la production des cellules sanguines normales. (**Wb6**) ; (**Jean-Marc 2015**).

# Partie bibliographique

---

L'insuffisance médullaire qui se caractérise par :

## A. Un syndrome anémique

Diminution du taux des globules rouges et de l'hémoglobine en dessous de 110g/L chez l'enfant. L'anémie se traduit cliniquement par une fatigue, une pâleur, un essoufflement et des palpitations. **(Wb6) ; (Jean-Marc, 2015).**

## B. Un syndrome hémorragique (liée à la thrombopénie)

Diminution du taux des plaquettes en dessous de 150 g/L, les conséquences d'une thrombopénie sont les saignements, en particulier au niveau des muqueuses (saignements de nez, des gencives) et de la peau (hématomes ou « bleus » au moindre choc).

**(Wb6) ; (Jean-Marc, 2015).**

## C. Un syndrome infectieux lié à la neutropénie

Baisse des polynucléaires neutrophiles (neutropénie) en dessous de 1500/mm<sup>3</sup> chez l'enfant, ce qui augmente de façon importante le risque et la sensibilité de l'organisme aux infections, notamment pulmonaires.**(Wb6) ; (Armari, 2004).**

### IV.1.2 Symptômes de l'infiltration tumorale

Le syndrome tumoral est le résultat d'une infiltration blastique, ce dernier peut se manifester par :

Adénopathies superficielles ou profondes.

Une hypertrophie des organes lymphoïdes (ganglions, foie, rate) splénomégalie, hépatomégalie.

Douleurs osseuses, une boiterie ou l'impotence fonctionnelle d'un membre peut être révélateur d'une leucémie aiguë.

Une hypertrophie gingivale.

Localisations cutanées : lésions d'hématodermie.

Localisations neurologiques : signes méningés, déficit moteur.

Localisations testiculaires (essentiellement lors des rechutes).

Les autres localisations sont beaucoup plus rares.**(Lengliné et Azoulay, 2011).**

## V. Classification des leucémies aigües

### V.1. Définition

Les blastes sont des cellules hématopoïétiques bloquées à un stade précoce de différenciation, ayant perdu toute capacité de maturation terminale.

Les leucémies désignent la prolifération clonale et maligne des blastes qui se multiplient d'avantage des autres types de cellules hématopoïétiques au sein de la moelle osseuse où ils s'accumulent et répriment ainsi l'hématopoïèse normale.

Ces leucémies sont dites aigües (LA) lorsque plus de 20% de la moelle osseuse est envahie.

**(Naour, 2015).**

### V.2. Classification des LAL

Il existe actuellement deux types de classifications pour les LAL : La classification FAB et la classification OMS.

#### V.2.1. Classification des LAL selon l'OMS

L'Organisation mondiale de la santé (OMS) en 2001a donné une classification des tumeurs hématopoïétiques et lymphoïdes basée sur les critères morphologiques, cytochimiques, Immunophénotypiques, et cliniques des hémopathies. Pour but de distinguer entre les néoplasmes de cellules précurseurs de ceux composés de cellules fonctionnellement matures.

Selon ces caractéristiques l'OMS scinde les LAL en deux catégories suivant la lignée touchée par la leucémie. On distingue ainsi les LAL-B des LAL-T et LAL de lignée ambiguë.

Cette classification a été mise à jour en 2008 afin d'y adjoindre de nouvelles informations cliniques et scientifiques et de redéfinir des critères de diagnostic précédemment établis.

**(Vardiman, 2010) ;(Naour, 2015).**

# Partie bibliographique

---

- **leucémies aiguës lymphoïdes B avec t (09 ; 22) (q34 ; q11.2)** : rares chez l'enfant (3 à 4%).
- **leucémies aiguës lymphoïdes B avec t (01 ; 19) (q23 ; p13.3)** : représentent 6 % des cas de LAL B chez l'enfant. pronostic péjoratif.
- **leucémies aiguës lymphoïdes B avec anomalies du gène MLL (11 q23)** : leur fréquence chez l'enfant est estimée à 2-3 %, mais elles constituent 60 % environ des LAL B de l'enfant de moins de 1 an.
- **leucémies aiguës lymphoïdes à cellules de Burkitt**

Les formes leucémiques pures sont rares et ont été jusqu'à présent analysées avec les formes à forte masse tumorale que l'OMS individualise comme phases leucémiques de lymphome de Burkitt.
- **leucémies aiguës lymphoïdes T avec t (05 ; 14) (q35 ; q32)** : présentent dans 25 % des LAL T de l'enfant. Sont de mauvais pronostic.
- **Classification des leucémies aiguës lymphoïdes sur la présence d'anomalies génétiques récurrentes**

Leucémies aiguës lymphoïdes hyperdiploïdes à plus de 50 chromosomes (entre 51 et 64)

Leur fréquence est estimée à 20-25 % des LAL chez l'enfant (surtout entre 2 et 10 ans).

Il s'agit le plus souvent de LAL communes (BII) non hyperleucocytaires bon pronostic leucémies aiguës lymphoïdes hypodiploïdes à moins de 45 chromosomes, leur fréquence est estimée à 5 % environ.

Il s'agit habituellement de LAL B communes (BII) mais parfois aussi de LAL T dans 20% des cas de mauvais pronostic. (Vardiman 2010) ;(Imbert, 2015).

- **leucémies aiguës lymphoïdes B avec t (12 ; 21) (p13 ; q22)** : fréquent dans 25 % des cas de LAL B de l'enfant. Pronostic favorable.
- **leucémies aiguës lymphoïdes sans anomalies génétiques significatives**

D'autres anomalies cytogénétiques sont mises en évidence dans les LAL, mais elles ne sont pas associées à des entités particulières. Il existe en outre des LAL B ou T pour lesquelles aucune anomalie génétique n'est actuellement détectée.

(Vardiman 2010) ;(Imbert, 2015).

# Partie bibliographique

## V.2.2. Classification franco-américano-britannique « FAB »

La classification FAB est de moins en moins utilisée. Elle classait les LAL en trois types : LAL 1, LAL 2, et LAL 3 en fonction de la morphologie des blastes (tableau 1).

**Tableau 1** : Cytologie LAL, classification « FAB » (elizabeth-savage, 2014).

<b>TYPE</b>	<b>LAL1</b>	<b>LAL2</b>	<b>LAL3 (Burkitt)</b>
<b>La taille</b>	Petite, dispersé e, fine	Grande, hétérogène	Grande, homogène
<b>Noyau</b>	régulier, normal	irrégulier, encoché	régulier, rond ou ovale
<b>Chromatine</b>	Homogène	Variable	Variable
<b>Nucléole</b>	0 ou 1, petit	1 ou +, Volumineux	1 ou +, Volumineux
<b>Cytoplasme</b>	Basophile faible	Variable, parfois intense	Tres intense
<b>Vacuoles</b>	présence variable	présence variable	Présente et volumineuse s
<b>Rapport N/P</b>	Elevé	moins élevé	moyen

# Partie bibliographique

---

## Remarques

- La catégorie L3, LAL à cellules de type Burkitt, est désormais considérée comme une phase leucémique du lymphome de Burkitt.
- **N/P** : Ce rapport tente d'évaluer l'importance du noyau dans la cellule et il est diversement exprimé. (**Wb7**).

## VI. Anomalies génétiques retrouvées dans les LAL

Les anomalies génétiques primaires sont des événements cruciaux de la leucémogénèse, sont les responsables de l'initiation d'un clone pré-leucémique qui va progresser en une véritable LAL.

Ces anomalies primaires désignent le plus des translocations ou des aneuploïdies (gain ou perte de plusieurs chromosomes entiers). Elles sont présentes dans toutes les cellules y compris le clone leucémique (**Pui et al, 2011**).

Les anomalies secondaires ne sont détectées que dans un sous-ensemble des cellules leucémiques ; sont la source de sous ramifications sous-clonales complexes qui correspondent à des anomalies du nombre de copies (souvent des microdélétions) et à des mutations ponctuelles (**Moorman 2016**).

### VI.1. Anomalies génétiques retrouvées dans les LAL-B

- **ETV6-RUNX1 / t(12;21)(p13;q22)**

Les translocations ETV6-RUNX1 représentent 25 % des LAL-B de l'enfant. Elles sont associées à une survie à 5 ans très favorable de 96%. C'est la plus fréquente des translocations retrouvées dans les LAL B2.

C'est une translocation aboutissant au gène de fusion TEL-AML1. Il est généré par la translocation t(12;21)(p13;q22). Ce gène de fusion est rencontré dans 25 % des leucémies lymphoblastiques à cellules B. Cette mutation peut être déjà présente dans le sang du cordon ombilical et conférer aux cellules souches mutées la capacité de se renouveler et d'inhiber les phénomènes d'apoptose (**Wb8**) ;(**Baranger et al, 2016**).

- **KMT2A (MLL) : Lysine Methyltransferase 2A 11q23.3**

Les translocations KMT2A ont une prévalence forte aux âges extrêmes de la vie : chez les nourrissons < 1 an où elles représentent près de 80% des cas.

# Partie bibliographique

---

Le gène *KMT2A*, situé au niveau 11q23, subit des réarrangements avec de très nombreux gènes partenaires. Notamment, *AFF1* (AF4), *MLLT1* (ENL), *MLLT4* (AF6), *MLLT3* (AF9) et *MLLT10* (AF10) représentent plus de 85% des cas dans les LAL.

La FISH du locus 11q23 avec une sonde break-apart est la méthode de détection la plus appropriée **(Wb8); (Baranger et al, 2016)**.

## Exemple

### - **AF4-MLL / t (4;11)(q21;q23)**

C'est une translocation impliquant le gène *MLL* (11q23) du chromosome 11 et le gène *AF4* (4q21) du chromosome 4. Le gène de fusion conduit à la production d'une cellule B immature (CD19+). Elle touche l'enfant très jeune et peut même aboutir, parfois, à une leucémie congénitale, c'est-à-dire se développant avant l'âge d'un an **(Wb8); (Baranger et al, 2016)**.

### - **BCR-ABL1 / t (9;22)(q34;q11)**

La translocation *BCR-ABL1* est rare chez l'enfant avec une prévalence inférieure à 3%. Cette translocation constitue un biomarqueur prédictif primordial car elle peut permettre la mise en place d'une thérapie ciblée avec un inhibiteur de tyrosine kinase, tel que l'imatinib ou le dasatinib. En effet, les inhibiteurs de tyrosine kinases inhibent directement l'effet leucémogène de l'oncoprotéine *BCR-ABL1* en combinaison avec la chimiothérapie standard. Cette stratégie produit des résultats significativement supérieurs à la chimiothérapie seule chez les patients de tout âge **(Wb8); (Baranger et al, 2016)**.

### - **TCF3-HLF / t (17;19)(q22;p13.3)**

La translocation *TCF3-HLF* est exceptionnellement retrouvée, avec une estimation à 0,1% des cas. Cette translocation est associée à une hypercalcémie et à des coagulopathies. **(Wb11); (Baranger et al, 2016)**.

### - **IL3-IGH / t(5;14)(q31;q32)**

Parmi les translocations d'*IGH* (Immunoglobulin heavy), les translocations *IL3-IGH* sont majoritaires.

Leur fréquence est faible parmi les enfants de moins de 10 ans (<3%).

Ces LAL sont associées à une hyperéosinophilie du fait de l'hyperexpression de l'*IL3*. **(Wb8); (Baranger et al, 2016)**.

# Partie bibliographique

---

## **TCF3-PBX1 / t(1;19)(q23;p13)**

La fréquence des t(1;19)(q23;p13) est proche de 5% des LAL-B de l'enfant. L'anomalie correspond à une fusion de gènes codant pour des facteurs de transcription, facilement identifiée par FISH, RT-PCR et cytogénétique car elle apparaît souvent déséquilibrée au caryotype (**Wb8**) ;(**Baranger et al, 2016**).

### - «Faible hypodiploïde » (Low hypodiploïdy) : 30-39 chromosomes

Les faibles hypodiploïdies sont définies par une perte chromosomique résultant en un nombre modal compris entre 30-39 chromosomes. Les clones sont typiquement monosomiques pour les chromosomes 3, 7, 15, 16 et 17 tandis que les chromosomes 1, 6, 11 et 18 sont volontiers diploïdes.

On y retrouve des altérations de TP53 (Tumor Protein P53), CDKN2A/B et RB1, et des mutations/délétions de IKZF2 (IKAROS Family Zinc Finger 2) (**Baranger et al, 2016**).

### - Hyperdiploïdies (51 à 65 chromosomes)

La fréquence des LAL-B hyperdiploïdes chez l'enfant est de 25%. Les hyperdiploïdies sont caractérisées par des trisomies non aléatoires touchant essentiellement les chromosomes X, 4, 6, 10, 14, 17, 18 et 21 qui représentent plus de 75 % des gains. Elles sont détectées communément par le caryotype, mais un index d'ADN supérieur à 1,16 en CMF est un argument orientant vers ce type d'anomalie. (**Wb8**) ;(**Baranger et al, 2016**).

### - Hypodiploïdie

L'entité des hypodiploïdies contient deux sous-groupes qui montrent une propension à subir une duplication chromosomique, créant ainsi un dilemme diagnostique lorsque le sous clone hypodiploïde est dupliqué, ce qui peut amener à le confondre avec une LAL hyperdiploïde. Les LAL « near haploïdy » tout comme les « low hypodiploïdy » montrent une activation des voies de signalisation Ras et de la phosphoinositide 3 - kinase (PI3K). Toutefois, ces deux sous-groupes sont généralement distingués les uns des autres. Le motif chromosomique perte/gain y est distinct (**Wb8**) ;(**Baranger et al, 2016**).

# Partie bibliographique

---

## - «Haploïdie proche » (Near haploidy): moins de 30 chromosomes

L'haploïdie proche est présente dans environ 1% des LAL de l'enfant <15 ans mais jamais retrouvée chez le nourrisson.

Elle est définie par une perte chromosomique massive résultant en un nombre modal de moins de 30 chromosomes. Les chromosomes sexuel X/Y et les chromosomes 10, 14, 18, et 21 sont le plus souvent conservés. Fréquemment des mutations activatrices de Ras sont retrouvées ainsi que des altérations d'IKZF1. **(Wb8) ;(Baranger et al, 2016).**

## - LAL-B « others »

Environ un quart des LAL-B regroupées sous le terme de « B others » ne sont concernées par aucune des anomalies mentionnées ci-dessus.

Néanmoins, une multitude de microdélétions touchant des gènes clés dans la pathogénèse ont été découvertes par SNP-array (Single Nucleotide Polymorphism, puces pour polymorphisme des nucléotides) dans les LAL, alors qu'elles ne l'étaient pas par cytogénétique conventionnelle. Ces microdélétions résultant de l'activité aberrante du système de la recombinaison, correspondent aux altérations génétiques les plus fréquentes au sein des LAL. **(Wb8) ;(Baranger et al, 2016).**

## - Amplification intrachromosomique du chromosome 21 (iAMP21)

La caractéristique constante de tous les cas d'iAMP21 est l'amplification du locus situé en RUNX1 21q22.12, qui fournit la base pour une détection appropriée par FISH en utilisant des sondes spécifiques de locus.

La définition acceptée internationalement de l'iAMP21 est la présence de trois copies supplémentaires du gène RUNX1 sur un seul chromosome 21 anormal, ce qui correspond à au moins 5 signaux par cellule. La fréquence rapportée de présentation de cette anomalie est de 2% chez les enfants. **(Wb8) ; (Baranger et al, 2016).**

## - Délétion d'IKZF1

### **IKAROS Family Zinc Finger 1 7p12.2**

Les délétions d'IKZF1 se produisent dans 15% des cas pédiatriques ; mais elles sont plus fréquentes chez les patients avec transcrite BCR-ABL1 (supérieur à 60%).

# Partie bibliographique

Le motif de suppression varie entre les patients, mais les deux types de délétions les plus courants sont d'une part la perte des exons 4 à 7 chez 37 % des patients, associée à une activité oncogénique, et d'autre part la perte des exons 2 à 7 chez 20 % des patients qui résulte en une transcription aberrante empêchant la traduction de débiter.

Elles sont associées, le plus souvent, à un âge plus élevé, une hyperleucocytose, une MRD positive

Les délétions d'IKZF1 sont plus fréquentes après rechute indiquant ainsi un rôle possible dans les récurrences. Les cellules correspondant au clone de rechute sont souvent présentes comme sous-populations minoritaires au moment du diagnostic ce qui suggère que les cellules responsables de la rechute sont ancestrales aux cellules leucémiques primaires. Les anomalies génomiques qui contribuent aux rechutes des LAL seraient ainsi sélectionnées pendant le traitement. (Wb8) ;(Baranger et al, 2016).

## - **Délétion d'ERG : Gène lié à Ets 21q22.2**

Certaines LAL-B exposent une délétion focale d'ERG, qui code pour un facteur de transcription contenant un domaine ETS.

Plusieurs études ont maintenant identifié un sous-groupe distinct de patients atteints de LAL-B pédiatriques caractérisé par une délétion monoallélique du gène ERG.

La présence d'une délétion de ERG semble définir un sous-groupe distinct parmi les LAL-B « others », cette anomalie semble être un événement sous-clonal qui peut être perdu ou acquis entre le diagnostic et la rechute (Wb8) ;(Baranger et al. 2016).

## - **BCR-ABL1-like (Ph-like)**

L'entité des translocations BCR-ABL1-like a été identifiée en utilisant différentes approches permettant de déterminer l'expression génique globale.

Les LAL Ph-like sont BCR-ABL1 négative mais ont un profil d'expression génique similaire aux LAL BCR-ABL1. Elles possèdent une altération des gènes codant pour des facteurs de transcription de la lignée lymphoïdes B, le plus communément IKZF1.

(Wb8) ; (Baranger et al. 2016).

## **VI.2. Anomalies génétiques retrouvées dans les LAL-T**

- Elles sont moins fréquentes.
- Elles ne représentent que 15 % des LAL de l'enfant.
- Elles sont caractérisées par une leucocytose élevée et un syndrome tumoral important,

# Partie bibliographique

---

en particulier thymique (**Wb8**).

## - Les réarrangements du gène TAL-1

Les remaniements du gène TAL-1, localisé en 1 p32, sont retrouvés dans 20 à 30 % des LAL-T de l'enfant, dont ils constituent une des anomalies les plus fréquentes. Deux types de réarrangement aboutissent à la surexpression de TAL-1 (**Wb8**).

## - La translocation t(5;14)(q35;q32) et surexpression du gène HOX11L2

Récemment, les analyses par FISH ont permis d'identifier cette nouvelle translocation. Elle est retrouvée dans 25 % des LAL de la lignée T de l'enfant. Cette anomalie implique de manière constante le gène Ran BP17, localisé en 5q35. Cette translocation induit une surexpression du gène HOX11L2, localisé, lui aussi, en 5q35 (**Wb8**).

## - Précurseur précoce des cellules thymiques (ETP)

Par définition, les blastes des ETP-LAL expriment le CD7, au moins un marqueur myéloïde ou de cellule souche mais ni le CD1a ni le CD8. Elles représentent 12 à 15% des LAL-T de l'enfant (**Baranger et al, 2016**).

## Les autres translocations

Elles sont très nombreuses et beaucoup restent à découvrir. A titre d'exemple, on peut citer les translocations t(11;14)(p13;q11), t(8;14)(q24;q11) et t(10;14)(q24;q11) (**Wb8**).

## VI. 3. Pronostic

Le profil génétique complet des patients présentant une LAL permet d'identifier les anomalies qui répondent mieux aux traitements et les classer selon leur pronostic.(Tableau2)

(**Wb8**) ; (**Naour, 2015**) ; (**Baranger et al. 2016**).

## - Classification des anomalies selon leur pronostic :

### Bon pronostic

- ETV6-RUNX1/ t(12;21)(p13;q22) .
- Hyperdiploïdie (51 à 65 chromosomes).

# Partie bibliographique

---

## Pronostic intermédiaire

- TCF3-PBX1/ t(1;19)(q23;p13).

## Mauvais pronostic

- KMT2A (MLL).
- BCR-ABL1/ t(9;22)(q34;q11).
- TCF3-HLF/t(17;19)(q22;p13.3).
- Hypodiploïdie.
- «Haploïdie proche» : moins de 30 chromosomes
- «Faible hypodiploïde » : 30-39 chromosomes.
- IL3-IGH /t(5;14)(q31;q32).
- Amplification intrachromosomique du chromosome 21 (iAMP21).
- Délétion d'IKZF1.
- Précurseur précoce des cellules thymiques (ETP).
- La translocation t(5;14)(q35;q32) et surexpression du gène HOX11L2 .

## VII. La prise en charge des leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL)

Les traitements des LAL diffèrent considérablement selon le type de leucémie développée chez l'enfant et l'élaboration du protocole thérapeutique est étroitement liée aux avancées de la recherche en oncopédiatrie. La durée du traitement dure en moyenne 2 à 3 ans. Ce traitement est basé sur une polychimiothérapie (association de plusieurs médicaments de chimiothérapie) et se déroule en trois phases **(Wb9)** :

### La phase d'induction

Dure environ 35 jours en milieu hospitalier. Vise une destruction maximale des cellules leucémiques. Le protocole du traitement dans cette phase repose sur 4 médicaments : des corticoïdes et trois molécules anti tumorales (vincristine, daunorubicine et asparaginase). Ce type de protocole a permis d'avoir un nombre de cellules anormales inférieur à 5 % sur le myélogramme dans 98 % des cas et les principaux symptômes disparaissent.

# Partie bibliographique

---

Les cellules anormales résiduelles (qu'on ne voit plus au microscope) doivent cependant être éliminées pour éviter la rechute. C'est la raison pour laquelle les traitements complémentaires suivants sont absolument nécessaires **(Wb9) ;(Jean-Marc, 2015)**.

## **La phase de consolidation et d'intensification**

D'une durée de 4 à 8 mois, cette deuxième phase de traitement peut être réalisée en hospitalisation de jour.

Avec certains médicaments, de courtes hospitalisations sont toutefois nécessaires. Le traitement consiste en l'administration de la même poly chimiothérapie utilisée dans la phase d'induction, ou passer par l'utilisation d'autres médicaments. Ainsi, lors de la période de consolidation (8-12 semaines), d'autres molécules anti tumorales peuvent être administrées (cyclophosphamide, étoposide, méthotrexate, mercaptopurine, cytarabine...). Les choix thérapeutiques dépendent notamment du type de LAL dont est atteint l'enfant **(Wb9) ;(Jean-Marc, 2015)**.

## **La phase d'entretien ou de maintenance**

Pendant 18 à 24 mois, un traitement à base de méthotrexate et de mercaptopurine est administré par voie orale.

L'enfant peut alors reprendre une vie normale et retourner à l'école. Cependant, il garde une certaine fragilité par rapport aux infections.

À la fin de ces trois phases de traitement et pendant au moins les cinq années suivant le diagnostic, une surveillance particulière est requise afin de dépister toute rechute éventuelle **(Wb9) ;(Jean-Marc, 2015)**.

## **Evolution pour la leucémie aigüe lymphoïde**

Le taux de guérison des leucémies ne cesse de s'améliorer, grâce à une meilleure caractérisation de la maladie par des techniques de biologie moléculaire, et à la détection des formes plus résistantes par le suivi de la maladie résiduelle, les traitements eux aussi s'améliorent, et de nouvelles thérapies se développent pour les formes les plus graves. La recherche ne cesse d'avancer et de permettre de guérir plus de patients, tout en essayant de diminuer les toxicités des traitements **(Wb10)**.

# Partie bibliographique

---

## VIII. L'enzyme de conversion de l'angiotensine

### VIII.1. Protéine de l'ECA

L'ECA est une enzyme ubiquitaire, à Zinc, ancrée sur la face externe de la membrane plasmique des cellules endothéliales et de distribution très large

**(Laraqui, 2006) ; (Tchelougou, 2013)**

Elle est connue sous différentes dénominations, comme la dipeptide carboxypeptidase ou la peptidylpeptide hydrolase ou Kininase II (EC 3.4.15.1)

**(Laraqui, 2006) ; (Lefebvre, 2008).**

On lui connaît de nombreux substrats: angiotensine I, bradykinine, enképhaline. La séquence complète en acides aminés de l'ECA a été déterminée. Elle existe sous trois formes: une forme membranaire, pourvue de peptide d'ancrage, de poids moléculaire 160 kDa, une forme circulante soluble légèrement plus petite, qui résulte d'un clivage protéolytique au niveau de la partie ancrée à la membrane cellulaire, de PM 140 kDa, et une forme testiculaire de PM 90 kDa.

L'ECA est une protéine hautement glycosylée (les sucres représentent selon les formes 20 à 30% du poids moléculaire de l'enzyme). L'ECA est synthétisée sous forme d'un précurseur avec un peptide signal qui est clivé pour donner la molécule mature

**(Laraqui, 2006) ; (Diall, 2011).**

### VIII.2. Structure de l'ECA

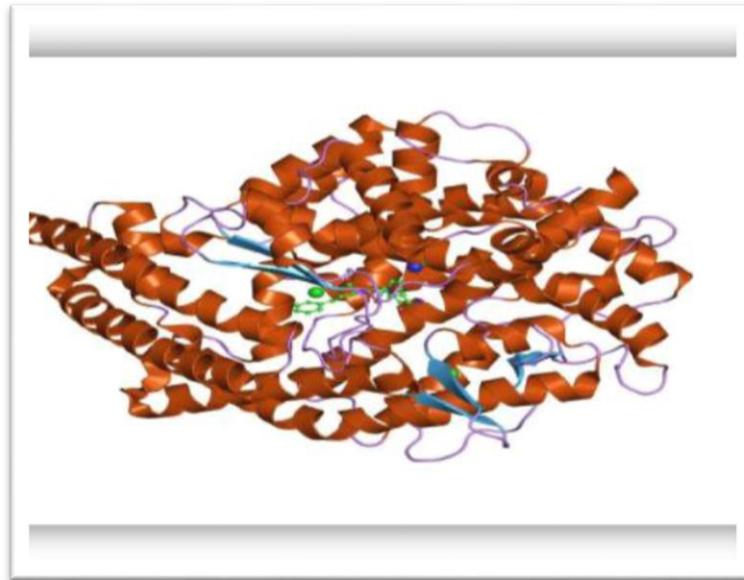
L'étude de la séquence de l'ECA membranaire met en évidence une structure protéique comportant quatre domaines distincts: un court domaine intracellulaire carboxy-terminal de 24 acides aminés; un domaine transmembranaire hydrophobe de 20 acides aminés servant d'ancrage de la protéine dans la membrane cellulaire; deux domaines extracellulaires montés en séries, ayant entre eux une forte homologie (60%) et possédant chacun un site actif pouvant lier le zinc.

On sait par ailleurs qu'une seule molécule d'inhibiteur se lie à chaque molécule d'ECA, et on pense que probablement un seul de ces deux sites est réellement actif in vivo

**(Laraqui, 2006).**

# Partie bibliographique

---



**Figure 10** : structure de l'ECA (Protein Data Bank)

### VIII.3. Rôle de l'ECA

La fonction majeure de l'ECA est d'hydrolyser les deux derniers acides aminés de l'extrémité carboxy-terminale des peptides. Son activité enzymatique est dépendante de la présence d'anions (**Laraqui, 2006**). La présence de l'atome de zinc et du chlore qui, modifiant la conformation allostérique du site actif, lui donne sa spécificité pour les substrats dipeptidiques (**Hordé, 2014**).

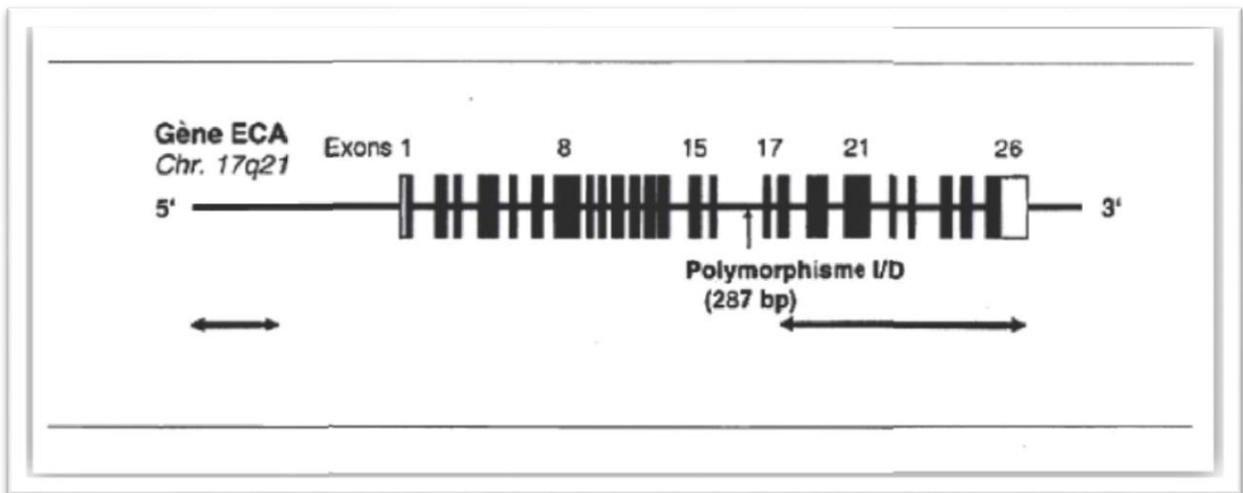
L'ECA joue un double rôle : elle transforme l'angiotensine I en angiotensine II, et elle dégrade la bradykinine en kinines inactives et les peptides neuronaux : substance P, enképhalines, la LH-RH. Un taux élevé d'ECA dans le plasma ainsi que dans les parois des vaisseaux favoriserait la formation d'angiotensine II et la dégradation de la bradykinine (**Baudin, 2005**) ;( **Leclerc et al, 2013**).

### VIII.4. Gène de l'ECA

Le gène est localisé sur le chromosome 17q23, mesurant environ 21 Kb et constitué de 26 exons. Deux promoteurs donnent lieu à: une ECA somatique largement distribuée dans l'organisme, en utilisant les exons 1 à 26 sauf l'exon 13, et par épissage alternatif à une ECA testiculaire, utilisant les exons 13 à 26, qui est requise pour la fertilité masculine (**Sayed- Tabatabaei et al, 2006**).

La longueur des exons varie de 88 pb (exon 16) à 481 pb (exon 26). La taille des introns varie de 150 pb (introns 17 et 25) à 2000 pb (intron 20). Son transcrit mature, ayant une taille de 4.3 Kb, est traduit en un peptide de 1340 acides aminés (**Laraqui,2006**).

# Partie bibliographique



**Figure 11 :** Locus du polymorphisme génétique de l'ECA  
(Lefebvre, 2008)

## VIII.5. Polymorphisme génétique de l'ECA

Le clonage de l'ADNc de l'ECA a permis d'identifier un polymorphisme d'Insertion (I)/Délétion (D) d'un fragment intronique de 287 pb, riche en séquence *Alu*, au sein de l'intron 16 (Soubrier et al, 1988).

La séquence *Alu* appartient à une famille d'ADN modérément répétitive possédant en général un site de restriction pour l'enzyme *AluI*.

Elle comporte 300 000 copies de 300 pb, retrouvées tout au long du génome, même dans les introns des gènes comme pour l'ECA. La fonction de ces séquences *Alu* est actuellement inconnue et un rôle éventuel dans la réplication n'est pas encore prouvé. La présence singulière de formes délétées ou insérées pour une séquence de 190 pb reflète l'existence de deux allèles: I (Insérée) de 490 pb et D (Délété) de 190pb et définit le polymorphisme du gène ECA I/D.

Trois génotypes sont possibles, deux homozygotes (II et DD) et un hétérozygote (ID) (Laraqui, 2006), ce polymorphisme I/D affecte fortement le taux plasmatique de l'ECA, mais son mécanisme d'action est probablement lié à un déséquilibre de liaison avec un autre polymorphisme plutôt qu'à un effet direct puisque le polymorphisme I/D est localisé dans un intron (Rigat, 1990).

Cependant, Plus récemment, d'autres polymorphismes ont été mis en évidence sur le gène d l'ECA situé sur des régions variables de ce dernier: (T-5491C, T-93C, a-240T, T237C, 4656CT2/3).

Ces polymorphismes ne sont pas encore identifiés comme fonctionnels et leur relation à une éventuelle pathologie est en cours d'étude. Il existe une relation directe entre le génotype de l'ECA et son phénotype. Cette relation génotype-phénotype est transmissible, en application des lois de Mendel (Laraqui, 2006).

# Partie bibliographique

---

## VIII.6. Expression de l'angiotensine II dans les tumeurs

L'angiotensine II (AngII), peptide biologiquement actif du système rénine-angiotensine caractérisé pour son vasoactivité. Depuis, de nombreuses études ont illustré son effet sur diverses fonctions cellulaires, dont la prolifération. L'AngII (8 acides aminés) est produite dans la circulation (endocrine), mais aussi localement (paracrine), notamment à la surface des cellules endothéliales. Ce peptide est produit par un mécanisme, faisant intervenir la coupure enzymatique de précurseurs inactifs par une métalloprotéase: l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) qui clive l'AngI.

L'AngII a de nombreuses cibles cellulaires, parmi lesquelles les cellules endothéliales et les cellules musculaires lisses des vaisseaux. Elle exerce son action par l'intermédiaire de récepteurs appartenant à la superfamille des récepteurs à sept domaines transmembranaires couplés aux protéines G hétérotrimériques (RCPG). L'AngII se lie à deux récepteurs : AT1R, exprimé de façon prédominante chez l'adulte, et AT2R, exprimé chez le fœtus et dans des situations de remodelage tissulaire. Les effets physiologiques d'AngII sont majoritairement attribués à AT1R, AT2R étant considéré comme un récepteur régulateur. L'AngII régule positivement la prolifération et la migration cellulaires par l'intermédiaire d'AT1R, tandis qu'AT2R exerce un contrôle négatif sur ces fonctions (**Nouet, 2000**).

Récemment le système AngII, a été mis en évidence dans différentes cellules Cancéreuses (**Nelson et al, 2003** ); (**Anguelova et al, 2005**).

Outre une élévation de la synthèse du peptide, une régulation positive de l'expression du récepteur est couramment observée. C'est ainsi qu'une augmentation de l'expression de composants du système AngII a pu être reliée à l'invasivité de certaines tumeurs (adénome colorectal, cancers du sein et de la prostate).

Notamment dans le cas de cancers de la peau ou de carcinomes cervicaux. Les récepteurs d'Ang II surexprimés dans les cellules tumorales sont essentiellement du sous-type AT1R, même si une augmentation de l'expression d'AT2R a été observée dans les cancers du sein, suggérant une éventuelle participation des deux sous types de récepteurs à la progression tumorale.



# ***Patients et méthodes***

# Patients et Méthodes

---

## **IX. Patients et méthodes**

### **IX.1. Patients**

Nous avons établis une étude de type cas-témoins, qui a porté sur un témoins et six patients présentant une LAL.

Cette étude vise la recherche du polymorphisme du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (*ECA*) et son impact sur la leucémie infantile.

#### **IX.1.1. Recrutement de la population des patients**

Nos patients sont au nombre de six. Il s'agit de sujets infantiles de deux sexes âgés de six mois à sept ans atteints de leucémie aigue dont le diagnostic a été posé et confirmé par le médecin traitant.

#### **IX.1.2. Recrutement des témoins**

Le témoin est issu de la population générale, présumé en bonne santé âgé de quinze ans.

## **IX.2. Méthodes**

### **IX.2.1. Questionnaires et enregistrement des patients (Annexe 2)**

Un recueil de données a été effectué au niveau du service concerné à partir du dossier médical du patient. Nous avons élaboré un questionnaire composé de 6 parties (annexe 01):

1. Identité du sujet.
2. État général du sujet.
3. Histoire de la leucémie.
4. Antécédents Familiaux de la leucémie.
5. Examens paracliniques réalisés par chaque patient.
6. Traitement.

**Un consentement éclairé a été signé par les témoins et les patients. (Annexe 1)**

#### **- L'étude moléculaire**

L'étude moléculaire est réalisée sur le sang des malades au niveau du laboratoire de recherche de biologie moléculaire et cellulaire de l'Université des Frères Mentouri Constantine.

#### **- Prélèvement sanguin**

Les prélèvements sanguins préconisés pour l'extraction d'ADN ont été recueillis dans un tube en présence d'EDTA (en quantité de 6 à 10 ml, l'EDTA : est un agent chélateur

# Patients et Méthodes

---

des ions divalents nécessaires aux fonctionnements des nucléases, il est donc couramment employé comme inhibiteur indirect des DNAses).

## IX.2.2 .Extraction d'ADN

Toutes les études génétiques nécessitent la disposition d'échantillon d'acides nucléiques, les leucocytes sanguins représentent la source majeure d'ADN, la méthode employée dans notre étude utilise le solvant inorganique NaCl.

### - Principe

L'extraction de l'ADN consiste en l'isolement de leucocytes du sang total par une lyse hypotonique des globules rouges, ils seront ensuite traités par :

- Un détergeant sodium Dodécyle sulfate (SDS) qui possède une action lytique sur les membranes cellulaires, il inhibe les nucléase et dénature les protéines par destruction de leur structure tertiaire.
- Une protéinase K, qui dénature et dégrade les protéines.

Dans le lysat, l'ADN nucléaire ainsi libéré est associé aux différentes protéines qui seront digérées et éliminées par précipitations au NaCl.

Le surnageant ainsi récupéré est traité par de l'éthanol pur, dans lequel une pelote de l'ADN se forme par précipitation l'ADN est solubilisé en phase aqueuse (Tris EDTA 10 :1) sa pureté ainsi que sa concentration sont estimées par spectrophotométries.

L'ETDA : est un agent chélateur des ions divalents (tels que  $Mg^{2+}$ ) nécessaires au fonctionnement des nucléases. Il est donc couramment employé comme inhibiteur indirect des DNAses. (Annexe 3).

## IX.2.3. Recherche du polymorphisme de l'ACE

La recherche du polymorphisme du gène de l'ACE a été effectuée par une simple amplification par la technique de PCR suivie d'un contrôle sur un gel d'agarose.

### ❖ Amplification par PCR

La PCR, Polymerase Chain Reaction ou réaction de polymérisation en chaîne : est un outil fondamental de la biologie moléculaire. C'est une technique d'amplification enzymatique permettant d'obtenir un grand nombre de copies identiques d'un fragment d'ADN.

### ❖ Principe de la PCR

# Patients et Méthodes

Le principe de la PCR s'agit de réaliser une succession de réactions de réplication

d'une matrice double brin d'ADN qui se répètent en boucle, comportant chacun trois paliers de température. De plus, chacun de ces paliers est caractérisé par une réaction chimique distincte.

L'astuce consiste à utiliser les produits de chaque étape de synthèse comme matrices pour les étapes suivantes, au lieu de les séparer afin de ne réutiliser que la matrice originale. Au lieu d'être linéaire, l'amplification obtenue est exponentielle. En moyenne une PCR comporte entre 20 et 40 cycles. Et chaque cycle est composé de 3 étapes.

## ❖ Préparation du milieu réactionnel de la PCR

Un milieu réactionnel de la PCR ou un mix de PCR a été préparé (tableau 3). Le mix comprend des désoxyribonucléotides triphosphates, une enzyme d'amplification in vitro (La Taq polymérase), un environnement réactionnel (tampon, MgCl<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O) et deux amorces oligonucléotidiques.

### Séquences des amorces utilisées pour l'amplification du gène *ECA* :

ECA 1R (Reverse): 5' CTG GAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT 3'

ECA 1F (Forward): 5' GAT GTG GCC ATC ACA TTC GTC AGA T 3'

Le volume du mélange, dépend du volume de la PCR (volume final de chaque tube 10 µl) et du nombre de tubes (ne pas oublier les témoins) et toujours prévoir 1 tube de plus que nécessaire.

**Composition du mélange : 10 µl (volume final) = 9µl (mix) + 1µl ADN (1'ADN 100 µg/ml)**

**Tableau 2 : Préparation du MIX**

Solutions mères	Quantité en (µl)
Tampon 10 ×	1
dNTP's 2mM	0.3
MgCl <sub>2</sub> 50 mM	1.6
ECA 1R 0,76	1
ECA 1F 0,71	1
H <sub>2</sub> O	4.02
Taq Dna pol	0.8

# Patients et Méthodes

---

## ➤ Déroulement des cycles de la PCR :

Le déroulement des cycles de la PCR a été assuré par un thermocycleur Eppendorf et les conditions d'amplification étaient comme suit (tableau 4) : une dénaturation initiale à 94 °C pendant 5 minutes, suivie de 35 cycles de PCR, comprenant chacun une dénaturation à 94 °C pendant 30 secondes, une hybridation à 57 °C, une élongation à 72 °C pendant 30° secondes et enfin une élongation finale à 72 °C pendant 3 minutes.

**Tableau 3 « : Programme utilisé au thermocycler**

Nombre de Cycles	Étapes	Température (C°)	Duré
X1	Dénaturation initiale	94	5 min
X37	Dénaturation	94	30 sec
	Hybridation	57	30 sec
	Élongation	72	30 sec
X1	Élongation finale	72	3 min

## VIII.2.2. Contrôle des produits de la PCR (Annexe 4)

### ✚ Préparation du gel d'agarose

Le contrôle de la PCR a été réalisé sur un gel d'agarose à 2 % donc en mélangeant 2 g d'agarose et 100 ml du TBE 1X (Tris Borate EDTA) additionné de 10 µl du BET (Bromure d'éthidium). Le gel est déposé sur un plateau d'une cuve d'électrophorèse horizontale où l'on a déposé un peigne. Nous laissons le gel se polymériser à l'air libre.

### ✚ Migration électrophorétique et révélation de la PCR

Le Contrôle de la taille des fragments amplifiés a été effectué par une électrophorèse horizontale sur un gel d'agarose à 2 %. Dans chaque puits du gel, nous avons déposé 1 µl de produit d'amplification en présence de 1 µl d'un tampon de charge qui permet d'alourdir les fragments et de suivre le front de migration.

## Patients et Méthodes

---

Parallèlement un échantillon sans ADN (blanc), est inclus dans la série à amplifier et sert de contrôle négatif (-). Un marqueur de poids moléculaire est déposé dans le dernier puits pour déterminer approximativement la taille des fragments.

Le dépôt se fait du côté cathode (-) et le système est soumis à une migration sous un courant de 100 volts pendant 30min.

Après la migration, le gel est soumis au rayon UV dans un transilluminateur. Les molécules de BET fixées à l'ADN émettent une lumière visible (fluorescence) et photographiable et permettent de visualiser les fragments amplifiés sous forme de bandes fluorescentes. Ce contrôle permet aussi de confirmer l'amplification de notre ADN et d'exclure toute contamination d'ADN survenue au cours de la PCR grâce au puits contenant le blanc.



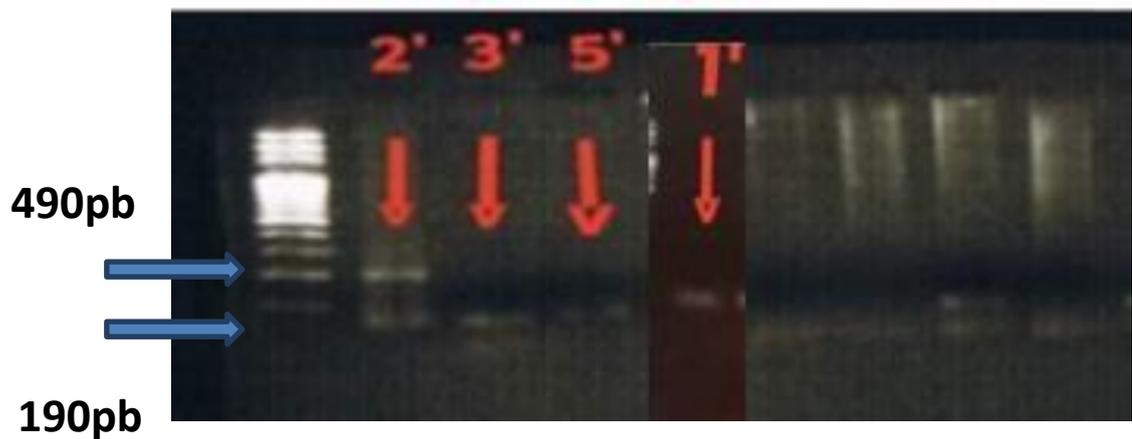
# ***Résultats et Discussion***

# Résultats et Discussion

## X. Résultats et discussion

Le profil de migration électrophorétique a révélé l'existence de 2 génotypes :

L'ADN de l'individu 2' correspond au génotype hétérozygote ID (l'apparition de deux bandes de 190 pb et 490 pb) tandis que les profils 1', 3', 5' (une seule bande de 190 pb) correspondent au génotype homozygote DD (**Figure 10**).



**Figure 12 : Photographie du profil électrophorétique des fragments amplifiés par PCR du gène *ECA* sur gel d'agarose à 2%.**

On a eu la chance de recueillir 7 échantillons de prélèvements sanguins des enfants leucémiques âgés entre 6 mois et 7 ans (et un témoin « 15 ans ») au niveau du laboratoire d'hémodiologie du CHU de Constantine.

Dans un premier temps, avons accédé à une extraction d'ADN leucocytaire, cette étape a été réussie pour 4 échantillons seulement à cause de la quantité insuffisante du sang des enfants leucémiques, cette quantité est récupérée de leurs tubes de prélèvements de leurs examens biologiques et on n'a pas pu les repiquer encore une fois suite à leur bas âge et leur état de santé.

Le but principale de cette étude génétique est la mise en évidence d'une corrélation entre le polymorphisme I/D du gène *ECA* et la leucémie aiguë lymphoblastique .

## Résultats et Discussion

---

Depuis quelques années, des recherches ont été entreprises sur le polymorphisme dans le gène de l'*ECA*, qui semble être un excellent marqueur de risque d'IDM (infarctus du myocarde). Ce polymorphisme I/D est le fait de la présence ou de l'absence d'un fragment de 287 pb au niveau de l'intron 16 de ce gène.

- Le gène *ECA* code pour 2 iso-enzymes : Iso-enzyme *ECA* **somatique** qui s'exprime dans les cellules endothéliales vasculaires, les cellules épithéliales des reins et les cellules de Leydig des testicules. Le deuxième Iso-enzymes *ECA* germinale ne s'exprime que dans les **spermatozoïdes**.

Il a été démontré que le polymorphisme de l'enzyme de conversion de l'angiotensine(*ECA*) semble être corrélé au risque d'infarctus du myocarde. Cet impact était le but d'une étude sur une population tunisienne étalée sur un groupe de 36 patients atteints d'IDM et un groupe de 37 individus témoins. L'amplification de leur ADN leucocytaire par PCR a indiqué une prédominance du génotype DD dans le groupe des patients atteints par rapport au groupe des témoins. Le génotype DD apparaît donc comme un facteur prédisposant à l'IDM ce qui nous donne la possibilité de considérer l'*ECA* comme facteur de risque d'IDM dans cette population. Le génotype ID était plus fréquent chez les témoins que chez les atteints donc il aurait un effet cardioprotecteur contre l'IDM.(**Mehri et al, 2005**).

Dans notre étude nous avons pris le polymorphisme du gène *ECA* comme marqueur génétique, puisque nous ne disposons pas des amorces pour d'autres gènes (comme par exemple *TEL-AML1*, *KMT2*) dans notre laboratoire. Les résultats indiquent que deux patients sur trois et le témoin ont montré un génotype DD et un seul patient avec un génotype ID. L'effectif très réduit de notre population ne permet pas de tirer une conclusion affirmative ou confirmative concernant l'implication du polymorphisme I/D du gène *ECA* dans la leucémie aiguë lymphoblastique infantile.

A decorative border resembling a scroll, with a vertical strip on the left and rounded corners on the right. The text is centered within this scroll.

# *Conclusion et Perspectives*

## Conclusion et Perspectives

---

La leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) est un cancer du sang et de la moelle osseuse. Les enfants leucémiques souffrent généralement d'une fièvre, de la fatigue, l'apparition d'ecchymoses, des problèmes de saignement, des infections et d'autres problèmes, ce qui rend leur vie très difficile.

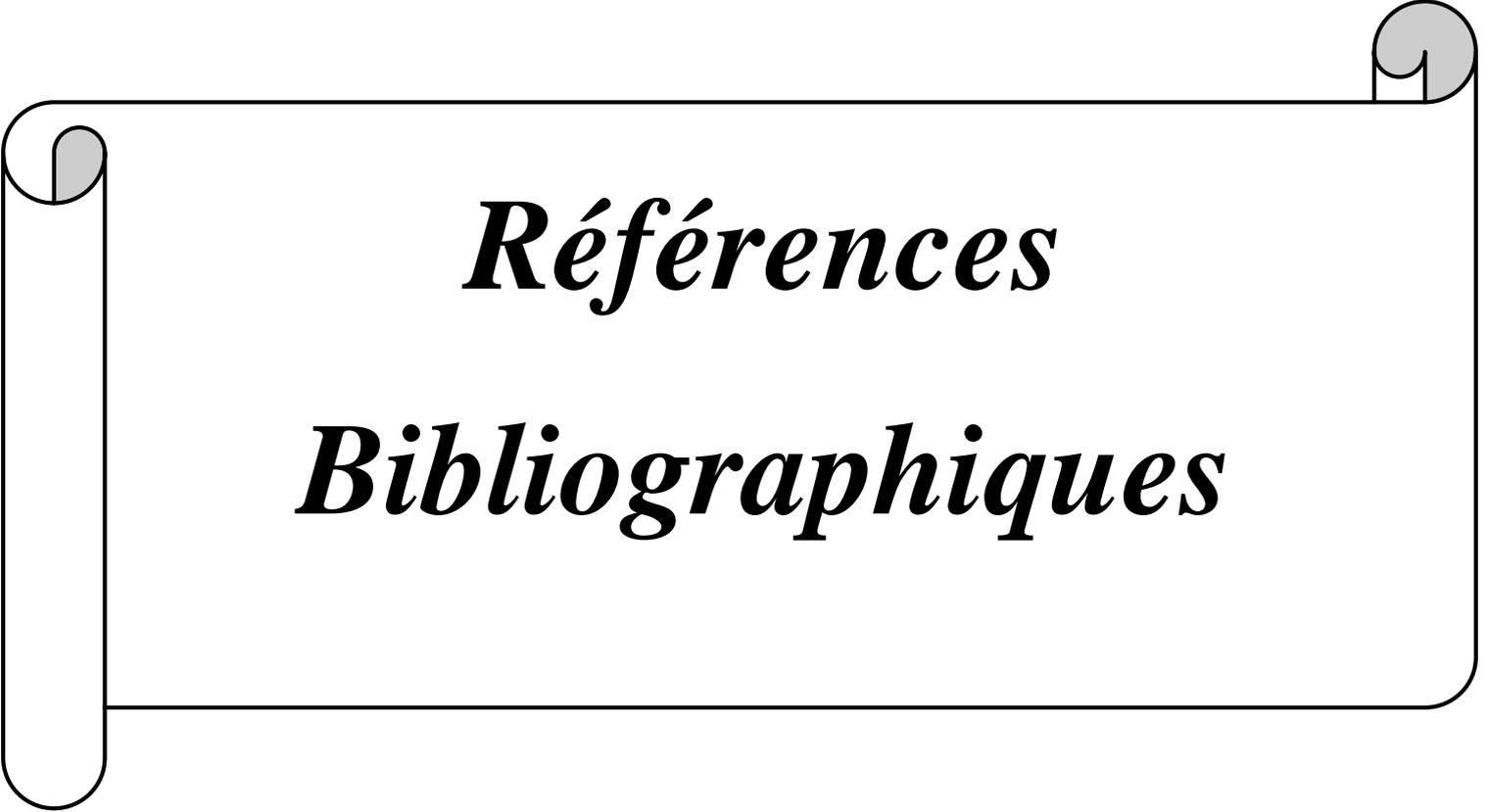
LAL est parmi les maladies les plus fréquentes, elle représente 35% des pathologies maligne chez l'enfant. Le diagnostic des LAL repose sur la numération formule sanguine (NFS), effectuée par une prise du sang, et sur un autre examen de la moelle osseuse appelé myélogramme. Les travaux de biologiques moléculaire ont rapporté beaucoup de progrès dans la compréhension de la leucemogenese.

Notre travail de recherche a consisté en une étude avec deux volets : une étude bibliographique dont nous avons traité l'aspect clinique, épidémiologique, physiologique et génétique de cette pathologie (LAL). Dans le deuxième volet, nous avons réalisé une étude génétique par une extraction d'ADN leucocytaire et une PCR afin de mettre en évidence une corrélation entre le polymorphisme I/D du gène *ECA* et la leucémie infantile.

Aucune corrélation n'a été mise en évidence entre le polymorphisme I/D du gène *ECA* et la leucémie aiguë infantile lymphoïde, puisque l'effectif de notre population était très infime.

A la lumière de ce travail de recherche et les résultats obtenus, laissent entrevoir de nombreuses perspectives afin d'approfondir et compléter ce travail :

- Etendre l'étude sur une population très vaste, permettant un traitement statistique des données afin de mettre en évidence des corrélations entre les paramètres mis en causes et le polymorphisme d'*ECA*.
- Etudier les autres gènes impliqués dans la leucémie aiguë infantile lymphoïde tels que : ***TEL-AML1***, ***KMT2***.
- Appliquer d'autres techniques moléculaires plus sophistiquées et plus précises (tels que le séquençage des gènes) pour tirer beaucoup d'informations sur cette pathologie ce qui permet l'amélioration de la qualité du traitement.

A decorative border resembling a scroll, with a grey shaded area on the left side and a grey circular element at the top right corner.

***Références***  
***Bibliographiques***

# Références bibliographiques

---

## *References bibliographique*

Adnaoui, Mohamed. 2014 « ADMINISTRATION : Doyen », 168.

Aggoune,S .2020. Chimiothérapie anti cancéreuse en pédiatrie,Revue de l'INFPF.

Anguelova E., Beuvon F., Leonard N., et al. 2005. Functional endothelin ET(B) receptors are selectively expressed in human oligodendrogliomas. *Brain Res Mol Brain Res*, ; 137 : 77- 88p.

Armari, Corinne. 2004 « Hémogramme normal et pathologique chez l'enfant(297d) », 3.

Asnafi V. 2015. «Leucémies Aiguës Lymphoblastiques (LAL). LAL-T : de la biologie à stratification thérapeutique. *Horizons Hémato* »,5(4), 221-223

Baudin B. 2005. enzyme de conversion de l'angiotensine, dans le diagnostic de la sarcoïdose. *Pathol Biol*,; 53 : 183-186p.

Baranger, Laurence, Wendy Cuccuini, Christine Lefebvre, Isabelle Luquet, Christine

Perot, Isabelle Radford, et Marina Lafage-Pochitaloff. 2016. « Cytogenetics in

the management of children and adult acute lymphoblastic leukemia (ALL): an update by the Groupe francophone de cytogénétique hématologique (GFCH) ». *Annales de biologie clinique* 74 (5): 547-60. <https://doi.org/10.1684/abc.2016.1176>.

Diall Amadou Aly. 2011. Etude des aspects pharmaco-epidemiologiques des inhibiteurs de l'enzyme de conversion au CHU du point G. thèse pour l'obtention du doctorat en pharmacie : faculté de médecine de pharmacie et d'odontostomatologie, ; 98p.

Elizabeth-savage. 2014. « LEUCEMIES AIGUES ». SlideServe. 27 novembre 2014.

<https://www.slideserve.com/elizabeth-savage/leucemies-aigues>.

Faraj, Abdelmalek, Abdellatif Berbich, Bachir Lazrak, Taieb Chkili, Mohamed Tahar Alaoui, et Abdelmajid Belmahi. 2016 « UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT », 177.

Gairard, A, K Messmer, V Baudin-Creuzat, P Labrude, J-F Stoltz, et P Menu. 2007 « DIRECTEUR DE THESE : DR. P. MENU », 239.

# Références bibliographiques

---

Hordé Pierrick. 2014. Enzyme de conversion de l'angiotensine Définition.

Imbert, Michèle. 2015 « Place du biologiste dans la prise en charge des leucémies aiguës : de lhémogramme à la classification OMS », 8.

Jagannathan-Bogdan, Madhumita, et Leonard I. Zon. 2013. « Hematopoiesis ». *Development (Cambridge, England)* 140 (12): 2463-67.  
<https://doi.org/10.1242/dev.083147>.

Jean-Marc, Mr Chillon. 2015. « La leucémie aiguë lymphoblastique chez l'enfant: Physiopathologie, états actuels des traitements et perspectives d'avenir », 85.

———. 2015b. « La leucémie aiguë lymphoblastique chez l'enfant: Physiopathologie, états actuels des traitements et perspectives d'avenir », 85.

Laraoui Abdelilah. 2006. Etude des Facteurs Métaboliques et Polymorphismes Génétiques Prédisposant à la Survenue de l'Athérosclérose Coronaire. Thèse pour l'obtention du doctorat en médecine : université Mohammed V-Agdal, faculté des sciences Rabat ; 197p.

Larosa, David F., et Jordan S. Orange. 2008. « 1. Lymphocytes ». *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 121 (2 Suppl): S364-369; quiz S412.  
<https://doi.org/10.1016/j.jaci.2007.06.016>.

Leclerc Anne-Marie, Lyne Cloutler, Sophie Longpré, Simon Grenier-Michaud. 2013. Traitement pharmacologique de l'HTA partie 2, Vol10. N 02.

Lefebvre Jean. 2008. Polymorphismes Génétiques et variations interindividuelles de la réponse aux agents antihypertenseurs. Thèse pour l'obtention du grade de Philosophiae Doctor (Ph.D.). Faculté de pharmacie, université Laval Québec, Canada; 189p.

Lengliné, E, et E Azoulay. 2011. « Prise en charge en urgence des leucémies aiguës », 14.

## Références bibliographiques

---

- Liesner, R J, et A H Goldstone. 1997. « ABC of Clinical Haematology: The Acute Leukaemias ». *BMJ* 314 (7082): 733-733. <https://doi.org/10.1136/bmj.314.7082.733>.
- Mathew, Joscilin, Parvathy Sankar, et Matthew Varacallo. 2021. « Physiology, Blood Plasma ». In *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK531504/>.
- Mehri, S, R Boussaada, S Mahjoub, F Guemira, S Vuillaumier, R Mechmeche, G Durand, et S Ben Arab. 2005 « Le polymorphisme du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine et le risque de l'infarctus du myocarde en Tunisie », 8.
- Moorman, Anthony V. 2016. « New and Emerging Prognostic and Predictive Genetic Biomarkers in B-Cell Precursor Acute Lymphoblastic Leukemia ». *Haematologica* 101 (4): 407-16. <https://doi.org/10.3324/haematol.2015.141101>.
- Naour, François LE. 2015 « Thèse soutenue à Rennes le 30 mars 2015 », 206.  
———. s. d. « Thèse soutenue à Rennes le 30 mars 2015 », 206.
- Nelson J., Bagnato A., Battistini B., Nisen P .2003. The endothelin axis : emerging role in cancer. *Nat Rev Cancer*; 3 : 110-6p.
- Nouet S., Nahmias C. 2000. Signal transduction from the angiotensin II AT2 receptor. *Trends Endocrinol Metab* ; 11 : 1-6p.
- Pui, Ching-Hon, William L Carroll, Soheil Meshinchi, et Robert J Arceci. 2011. « Biology, Risk Stratification, and Therapy of Pediatric Acute Leukemias: An Update ». *JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY*, 16.
- Quelen, Cathy. 2011. « La Translocation Chromosomique t(X;6) (P11;Q23) Dans La Leucémie Aigüe à Basophiles ». Phd, Université de Toulouse, Université Toulouse III - Paul Sabatier. <http://thesesups.ups-tlse.fr/1650/>.

## Références bibliographiques

---

- Raidelet, Lydvine. 2015 « Épidémiologie des leucémies aiguës de patients drômois et ardéchois diagnostiquées au centre hospitalier de Valence de 2005 à 2010 », 122
- Rigat B., Hubert c., Alhenc-Gelas F., Cambien F., Corvol P., and Soubrier F. 1990. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest* 86; 1343-1346p.
- Sayed-Tabatabaei F. A., Oostra B. A., Isaacs A., Van Duijn C. M. Witteman J. 2006. C. ACE polymorphisms, *Circ Res*; 98, 1123-33p.
- Shah, Binita, Nathalie Burg, et Michael H. Pillinger. 2017. « Neutrophils ». In *Kelley and Firestein's Textbook of Rheumatology*, 169-188.e3. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-31696-5.00011-5>
- Soubrier F, Alhenc-Gelas F, Hubert C, Allegrini J, John M, Tregear G, Corvol P. 1988. Two putative active centers in human angiotensin I-converting enzyme revealed by molecular cloning. *Proc Nat Acad Sci*; 85:9386-90p
- Strassel, C., F. Lanza, et C. Gachet. 2020. « Plaquettes sanguines de culture : état de l'art ». *Bulletin De L'Academie Nationale De Medecine* 204 (9): 971-80. <https://doi.org/10.1016/j.banm.2020.10.002>.
- Sturgeon, Christopher M., Andrea Ditadi, Geneve Awong, Marion Kennedy, et Gordon Keller. 2014. « Wnt Signaling Controls the Specification of Definitive and Primitive Hematopoiesis from Human Pluripotent Stem Cells ». *Nature Biotechnology* 32 (6): 554-61. <https://doi.org/10.1038/nbt.2915>.
- Tchelougou Daméhan. 2013. Hypertension artérielle essentielle : facteurs de risque et polymorphismes des gènes du système rénine-angiotensine au Burkina Faso. Pour l'obtention du Master II en Biologie Moléculaire et Génétique Moléculaire Appliquées : université de Ouagadougou ; 75p.

## Références bibliographiques

---

Vardiman, James W. 2010. « The World Health Organization (WHO) Classification of Tumors of the Hematopoietic and Lymphoid Tissues: An Overview with Emphasis on the Myeloid Neoplasms », 5.

Ziegler-Heitbrock, Loems. 2015. « Blood Monocytes and Their Subsets: Established Features and Open Questions ». *Frontiers in Immunology* 6 (août): 423. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00423>.

# Références bibliographiques

---

## *Références Web*

[http://bioimage.free.fr/hem\\_image/rapportnp.htm#:~:text=Rapport%20N%2FP&text=II%20est%2C%20de%20plus%2C%20tr%C3%AAs,surfaces%20visibles%20de%20la%20cellule.](http://bioimage.free.fr/hem_image/rapportnp.htm#:~:text=Rapport%20N%2FP&text=II%20est%2C%20de%20plus%2C%20tr%C3%AAs,surfaces%20visibles%20de%20la%20cellule.) (Wb7)

<http://campus.cerimes.fr/histologie-et-embryologie-medicales/enseignement/histologie15/site/html/1.html>(Figures1 2 3 4 5 6 7)

<http://campus.cerimes.fr/histologie-et-embryologie-medicales/enseignement/histologie15/site/html/1.html?fbclid=IwAR0mkzHmIDeK3lbnleQyQDmVDiEh6mVPBSNgjpn6u-ZC2zGtKQg5WbYH4> (Wb1)

[https://cdn.website-editor.net/50befd41f5384db9b59f3b7296cd351f/files/uploaded/G%25C3%25A9n%25C3%25A9ralit%25C3%25A9s%25202018%25202019\\_ftvDftpQdizOiTloGJ5w.pdf](https://cdn.website-editor.net/50befd41f5384db9b59f3b7296cd351f/files/uploaded/G%25C3%25A9n%25C3%25A9ralit%25C3%25A9s%25202018%25202019_ftvDftpQdizOiTloGJ5w.pdf) (Wb4)

<https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-anatomie-et-examens/2634193-moelle-osseuse-localisation-role-maladies-greffe/> (Wb3)

<https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-sante-du-quotidien/2551702-leucemie-enfant-types-symptomes-guerison/#:~:text=Le%20taux%20de%20gu%C3%A9rison%20est,lequel%20une%20rechute%20est%20exceptionnelle.> (Wb10)

[https://www.google.com/search?q=https://sante.lefigaro.fr&rlz=1C1GIWA\\_enDZ878DZ878&source=Inms&tbm=isch&sa=X&ved=2ahUKEwijkPyv3NTxAhUHAWMBHVJgC3YQ\\_AUoA3oECAEQBQ&biw=1366&bih=657#imgrc=0SHBUdQ8REqBBM](https://www.google.com/search?q=https://sante.lefigaro.fr&rlz=1C1GIWA_enDZ878DZ878&source=Inms&tbm=isch&sa=X&ved=2ahUKEwijkPyv3NTxAhUHAWMBHVJgC3YQ_AUoA3oECAEQBQ&biw=1366&bih=657#imgrc=0SHBUdQ8REqBBM) (Figure8)

# Références bibliographiques

---

<https://www.google.com/url?sa=i&url=http%3A%2F%2Frecap->

<ide.blogspot.com%2F2014%2F09%2Fle->

[sang\\_9.html&psig=AOvVaw2tyxg58dm9JP5VjFOihO6m&ust=1625876967779000&s](sang_9.html&psig=AOvVaw2tyxg58dm9JP5VjFOihO6m&ust=1625876967779000&s)

<ource=images&cd=vfe&ved=0CAgQjhxqFwoTCOjSqend1PECFQAAAAAdAAAAA>

**BAD(Figure 9)**

<http://www.arcagy.org/infocancer/localisations/hemopathies-malignes-cancers-du->

<sang/leucemies-aigues/formes-de-la-maladie/les-leucemies->

<lymphoblastiques.html/>**(Wb8)**

<https://www.fondation-arc.org/cancer/leucemie-enfant/traitement-cancer/>**(Wb9)**

<https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/medecine-monocyte->

<200/?fbclid=IwAR0zIjxff2kBywbNOLO5oZMLX8mu3BbrWa59taeKhhblLs2mmJfm>

<U-pS7yw/>**(Wb 2)**

[https://www.google.com/search?q=sfh+leucemie+lymphoide+chronique&rlz=1C1GIWA\\_](https://www.google.com/search?q=sfh+leucemie+lymphoide+chronique&rlz=1C1GIWA_)

<enDZ878DZ878&oq=sfh+leucemie&aqs=chrome.1.69i57j0i22i30i2j69i60.12216j0j15>

<sourceid=chrome&ie=UTF-8> **(Wb6)**

<https://www.univ-usto.dz/faculte/fac->

[snv/images/Graduation\\_snv/Cours\\_en\\_Ligne/2017\\_2018/cours\\_2\\_IAP\\_tf.pdf](snv/images/Graduation_snv/Cours_en_Ligne/2017_2018/cours_2_IAP_tf.pdf)**(Wb 5)**

# Annexes

---

## Annexe I : Fiche de consentement du patient

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère Algérien de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Constantine 1  
Faculté des sciences de la nature et de la vie  
Département de Biologie Animale

### Fiche de consentement du patient

Je soussigné, Monsieur,.....certifie avoir reçu la note d'information concernant l'étude citée ci-dessus.

Il m'a clairement été précisé que je suis entièrement libre d'accepter ou de refuser de participer à cette recherche.

Je certifie avoir compris l'objectif et les modalités de cette étude. Je donne mon accord pour la participation à cette étude.

Sur les examens à caractéristiques génétiques réalisés à partir du sang qui m'a été prélevé le .....

Enfin, j'ai compris que je ne recevrai aucune indemnité pour ma participation à cette étude.

Signature du patient

En l'absence d'autonomie de lecture et d'écriture de Monsieur....., la tierce personne identifiée ci-dessous, atteste avoir personnellement et fidèlement fait savoir au patient, la notice d'information et le présent formulaire de consentement et ainsi elle recueille son accord pour signer.

Tierce personne

Mme/ Mr .....

Signature

Signature du médecin traitant

# Annexes

---

## Annexe II : Questionnaire

### Fiche de renseignements du patient

#### I. Identification :

• Nom ..... Prénom.....

• Age .....

• Sexe M  F

• Niveau socio-économique .....

• Originaire de.....

• Lieu de résidence.....

• Hospitalisé le ...../...../.....N° du dossier.....

• ATCDs oncologiques familiaux

- Non

- Non précisés

- Oui

• Consanguinité OUI  NON  Non précisée

• Adressé par :

- pédiatre

- Généraliste

- Référé

#### • II. Diagnostic clinique :

Motif de consultation.....

Date du 1er symptôme...../...../.....

Date du diagnostic...../...../.....

• **Syndrome d'insuffisance médullaire :**

- Pâleur OUI  NON

- Hémorragie OUI  NON

## Annexes

---

- Fièvre OUI  NON

• **Syndrome tumoral :**

- Splénomégalie OUI  NON

- Hépatomégalie OUI  NON

- Adénopathies OUI  NON

- Hypertrophie gingivale OUI  NON

- Infiltration testiculaire OUI  NON

- Douleurs osseuses OUI  NON

- Autres

# Annexes

---

## Annexe III : La méthode d'extraction d'ADN au NaCl

### - Étapes de l'extraction et la purification de l'ADN

#### - Préparation des leucocytes

- Dans un tube Falcon de 50 ml ; mettre le sang total (5ml) et compléter à 30 ml avec du TE 20 :5. Laisser 10 min dans la glace.
- Centrifuger 15 min à 3900 g (3900 rpm).
- Déverser le surnageant prudemment afin de garder le culot leucocytaire précipité au fond de tube.
- Rajouter le TE 20: 5 au culot jusqu'à 20ml, agiter pour le remettre en suspension et laisser 10 min dans la glace.
- Centrifuger 15 min à 3900 g (3900 rpm).
- Déverser le surnageant : obtention d'un culot de leucocytes.

**Remarque** : Si on s'arrête à ce niveau, les mettre dans un tube nunc de 1.5 ml avec du TE 10 :1 et les conserver à -20°C dans un congélateur.

#### - Extraction de l'ADN

- Décongeler les leucocytes et les centrifuger pendant 15 min à 3900 rpm si on les a gardé préalablement.
- Après obtention d'un culot de leucocytes : Dilacérer le culot de leucocytes soigneusement afin de les prendre complètement et les mettre dans un tube Falcon conique de 15 ml.
- Ajouter 3 ml de tampon de lyse (NaCl 400 mM, EDTA 2mM, Tris 10mM, PH 8.2).
- Ajouter 200 µL de SDS à 10% (100 g SDS + 1000 ml H<sub>2</sub>O)
- Ajouter 100 µL de protéinase K à 10 mg / ml.
- Dans l'étuve, Agiter le tube sur une roue rotative à 37°C pendant une nuit.
- Le lendemain ; refroidir dans la glace.
- Ajouter 1 ml de NaCl 4 M et agiter rigoureusement à la main.
- Remettre 5 min dans la glace (précipitation des protéines).
- Centrifuger 15 min à 2500 rpm.
- Transvaser le surnageant dans un tube Falcon de 50 ml , ajouter 2 fois son volume d'éthanol absolu (100%) préalablement refroidi et agiter en tournant le tube plusieurs fois : la formation de la méduse visible à l'œil nu . (laisser éventuellement 30 min à -20°C si la pelote d'ADN ne se forme pas).
- Récupérer la pelote d'ADN par une pipette pasteur et la rincer 2 fois dans l'éthanol à 70% dans un tube nunc (eppendorf) stérile.
- **Solubilisation de l'ADN**
- L'ADN est réhydraté en ajoutant entre 300 et 1000 µL de TE 10:1 selon la grosseur de la pelote et la concentration souhaitée.

# Annexes

---

- Laisser une nuit sur agitateur rotateur à 37°C, puis à température ambiante jusqu'à dissolution complète (de 1 jusqu'à 3 jour).
- **Evaluation de la pureté et quantification de la concentration d'ADN :**
- La pureté de l'ADN et sa concentration sont estimées par spectrophotométrie à UV.
- La pureté de l'ADN est déterminée par le rapport de  $DO_{260nm} / DO_{280nm}$ . La densité optique ou DO à 260 nm des solutions diluées au 1/100 est utilisée également pour le dosage de l'ADN, ce qui permet de calculer sa concentration, sachant que 1 unité DO correspond à 50 mg/ml d'ADN.
- La pureté de l'ADN est essentielle. Dans le cas où l'ADN est contaminé (par des protéines ou de l'ARN), ce dernier ne laisserait pas aboutir à un bon résultat dans les étapes suivantes de son analyse par PCR.
- La qualité de l'ADN peut être vérifiée par un contrôle de taille des molécules d'ADN par électrophorèse sur gel d'agarose 0,8% soumis sous tension d'un courant électrique de 100 volt pendant 2h.

## Tampons et solutions pour l'extraction de l'ADN

- **TE 20 :5 ( Tris 20 mM, EDTA 5 mM, pH 7.5) autoclavé**
- Tris 2.422 g
- EDTA : 1.86g/m qsp 1L.
  
- **SDS à 10% :**
- 100 g SDS
- 1000 ml H<sub>2</sub>O
- **Tampon de lyse :**
- NaCl 400 mM
- EDTA 2mM
- Tris 10mM
- PH 8.2
  
- **Protéinase K 10 mg / ml.**
  
- **NaCl 4M**
  
- **Éthanol absolu 100% froid**
  
- **Éthanol 70%.**
  
- **TE 10:1( Tris 10 mM, EDTA 1 mM, pH 7.4) autoclavé**
- Tris 0.606 g
- EDTA : 0.187g/m qsp 500 ml.

# Annexes

---

## Annexe IV : Tampon et solutions pour l'électrophorèse

### Electrophorèse : contrôle de PCR :

Nous utilisons des mini-cuves d'électrophorèse MUPID (Eurogentec), qui permettent d'avoir un résultat en 30 min.

La migration et le gel se font dans du Tampon Tris Borate EDTA TBE 1 x préparé à partir d'une dilution 1/10 de TBE 10X. Le TBE est préparé dans notre laboratoire sous forme de solution mère de concentration 10 x, nous devons diluer un volume (1x) suffisant à notre manipulation.

#### - Préparation du gel 2% :

On mélange 2g d'agarose avec 100 ml du TBE 1x, faire fondre l'agarose dans un microonde, ajouter une goutte de Bromure d'Ethidium à 10 µg/ml (BET), refroidir et couler le gel après avoir monté le système électrophoretique sans oublier de mettre un peigne afin de creuser les puits (travailler attentivement de préférence sous la hotte).

#### - Dépôts des échantillons sur gel :

Sur un ruban de parafilm : 10 µl de produit de PCR + 2 µl de tampon de charge. Prendre le mélange pour chaque produit de PCR et le déposer à l'intérieur de puits délicatement pour ne pas abimer le gel. Recouvrir le gel de TBE 1 x déposer les échantillons, lancer la migration à 100V pendant 30 min. Passer au transilluminateur pour la révélation sous UV du profil des ADN et les photographier.

#### - Tampon TBE 10X :

pour 1 litre de Tampon TBE 10X les quantités à utiliser sont les suivantes

- Tris base 108 g
- Acide borique 55g
- EDTA 9.3g
- H<sub>2</sub>O qsp 1 litre
- pH 8.0

On prépare une solution stock de TBE 10 X que l'on dilue 10 fois (TBE1X)

#### - Solution de bromure d'éthidium (BET) :

le BET est utilisé dans le gel à concentration finale de 10mg/ml

#### - Solution de dépôt :

- Bleu de bromophénol 20mg
- Tris 2 ml
- Glycérol 5ml
- H<sub>2</sub>O 10ml

# Résumé

---

## Abstract

The deregulation of hematopoietic homeostasis seems to be the cause of hematological malignancies such as leukemias, known as blood cancers; among these leukemias there is the infantile acute lymphocytic leukemia (ALL). This hematological malignancy is characterized by an infiltration and proliferation of immature hematopoietic cells called blasts in the bone marrow, blood and tissue. Several gene factors underlie B-ALL and T-ALL, and may serve as prognostic markers.

The management of children with leukemia includes three phases of treatment: incubation phase, maintenance phase, consolidation and intensification phase and then the maintenance phase.

Our work focuses on childhood acute lymphocytic leukemia. We managed to collect 7 blood samples from leukemic children aged between 6 months and 7 years and a healthy control (a 15 year old boy) at the haemobiology laboratory of the CHU of Constantine. After extraction of leukocyte DNA by the NaCl technique, we studied the impact of the I/D polymorphism of the ACE gene on childhood acute leukemia, using the PCR technique. The PCR result showed an electrophoretic profile consisting of two genotypes: a homozygous DD genotype and a heterozygous ID genotype.

The results obtained are not sufficient to show the involvement of this polymorphism in ALL. Extending the study on a larger population will surely allow to reach relevant conclusions in the future.

**Key words :** Childhood acute lymphocytic leukemia, Genetic abnormalities, Hematopoietic cells, ACE gene I/D polymorphism.

# Résumé

## ملخص

ويبدو أن إلغاء الضوابط التنظيمية للهيماتوبوتيك هو السبب وراء الخرف الدموي مثل سرطان الدم المسمى سرطان الدم ؛ ومن بين سرطان الدم هذا هناك سرطان الدم الليمفاوي الحاد في مرحلة الطفولة. ويتميز علم الدم الخبيث هذا بالتسلل وانتشار خلايا الدم غير الناضجة التي ، ويمكن استخدامها LAL-T و LAL-B تسمى: الانفجارات في نخاع العظم ، والدم ، والأنسجة. العديد من العوامل الجينية هي السبب في كعلامات مثبتة

وتشمل إدارة الأطفال المصابين بسرطان الدم ثلاث مراحل من العلاج: مرحلة الحضانة ، ومرحلة الصيانة ، ومرحلة التوحيد والتكثيف ، ومرحلة الصيانة

ويركز عملنا على سرطان الدم الليمفاوي في مرحلة الطفولة الحادة. فقد تمكنا من جمع 7 عينات دم من أطفال سرطان الدم الذين تتراوح أعمارهم بين 6 أشهر و7 سنوات ، والتحكم الصحي (صبي يبلغ 15 عاماً) على مستوى مختبر طب الدم في جامعة قسنطينة. بعد استخراج على سرطان الدم في مرحلة الطفولة ACE لجين I/D ، قمنا بدراسة تأثير التعددية NaCL حمض نووي من سرطان الدم باستخدام تقنية PCR الحاد ، باستخدام تقنية

وأظهرت نتيجة PCR سمة كهربية تتألف من نموذجين جينيين نموذج جيني هومي DD ونموذج جيني تنائي الزيجوت ID

I/D الكلمات الرئيسية: سرطان الدم الليمفاوي الحاد في مرحلة الطفولة ، والتشوهات الوراثية ، وخلايا الهيماتوبويتين ، وتعدد الفيروسات ACE. من جين

Année universitaire : 2020 \_ 2021

Présenté par : *Merouani Amina*  
*Merouani Meriem Aicha*

## **Association du polymorphisme I/D du gène ECA avec la leucémie aigüe lymphoïde (LAL) chez l'enfant dans la région de Constantine**

**Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Génétique**

La dérégulation de l'homéostasie hématopoïétique semble être la cause des hémopathies malignes tel que les leucémies dites cancer du sang ; parmi ces leucémies il y a la leucémie aigüe lymphoïde infantile (LAL). Cette hémopathie maligne est caractérisée par une infiltration et une prolifération de cellules hématopoïétiques immatures appelées : blastes dans la moelle osseuse, le sang et les tissus. Plusieurs facteurs géniques sont à l'origine des LAL-B et des LAL-T, et peuvent servir comme marqueurs de pronostic.

La prise en charge des enfants leucémiques comprend trois phases de traitements : phase d'incubation, phase d'entretien, phase de consolidation et d'intensification puis la phase de maintenance.

Notre travail s'intéresse à la leucémie aigüe lymphoïde infantile. Nous avons réussi à rassembler 7 prélèvements sanguins des enfants leucémiques âgés entre 6 mois et 7 ans et un témoin sain (un garçon de 15 ans) au niveau du laboratoire d'hémobiologie du CHU de Constantine. Après une extraction d'ADN leucocytaire par la technique au NaCl, nous avons étudié l'impact du polymorphisme I/D du gène de l'ECA sur la leucémie aigüe infantile, en utilisant la technique de la PCR. Le résultat de la PCR a montré un profil électrophorétique constitué de deux génotypes : un génotype homozygote DD et un génotype hétérozygote ID.

Les résultats obtenus ne sont pas suffisants pour montrer l'implication de ce polymorphisme dans la LAL. Étendre l'étude sur une population plus large, va permettre sûrement d'arriver à des conclusions pertinentes dans le futur.

**Mots-clefs** : La leucémie aigüe lymphoïde infantile, Anomalies génétiques, cellules hématopoïétiques polymorphisme I/D du gène de l'ECA

### **Laboratoires de recherche :**

Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire (Université des Frères Mentouri, Constantine 1).

**Président :** Dr BENHIZIA Hayet (MCA - Université des Frères Mentouri, Constantine 1).

**Encadreur :** Dr GAHRZOULI Razika (MCA - Université des Frères Mentouri, Constantine 1).

**Examineur :** Dr SEMMAME Ouarda (MCB - Université des Frères Mentouri, Constantine 1).

**Date de soutenance : 13/07/2021**