



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
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

امعة الاخوة منتوري قسنطينة

علوم الطبيعة والحياة

Département : de la Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie de la nutrition

Intitulé :

Etude de l'association du polymorphisme C677T de la MTHFR et l'hyperhomocystéinémie à la maladie thromboembolique veineuse chez une population de l'Est-Algérien (analyse des résultats d'une thèse)

Présenté par : YAHYAOUI Roumaissa

Soutenu publiquement Le : 28/06/2018

OUMARTEM Massaouda

Membres du jury :

- Président du jury : OUNIS. L Maitre de conférences classe « b » –UFM Constantine.
- Encadrant: MOUSSAOULS Maitre de conférences classe –UFM Constantine.
- Examinatrice : DAHMANLI Maitre assistante classe « b » UFM Constantine.

Année universitaire : 2017/2018

*Remerciements
et dédicaces*



Remerciements

On tient tout d'abord à remercier en premier lieu DIEU, le Tout Puissant et Miséricordieux qui nous a donné la force, la volonté et le courage pour mener à bonne fin ce travail

Notre remerciement s'adressent en particulier à Melle « Moussaoui Samira » encadreur de notre mémoire de master, qui a toujours été à l'écoute, nous la remercions encore pour sa disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'elle nous a consacré

Nous exprimons toutes nos gratitudeux aux membres du jury « Dr OUNIS » et « Dr DAHMANI » pour avoir accepté de donner de leur temps pour lire, commenter et examiner notre mémoire.

Un merci bien particulier adressé également aux responsables du laboratoire de biologie et de génétique moléculaire professeur Abadi N. , Sifi K, et médecin chef du laboratoire de biochimie du CHUC pour nous avoir accueillies dans son laboratoire. Nos remerciements vont aussi au personnel du laboratoire et en particulier DADCI Y, et MASSAOUDA pour s'être impliqués dans ce travail.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous les enseignants qui nous ont enseigné et qui par leurs compétences nous ont soutenu dans la poursuite de nos études. Enfin, on remercie tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie cet humble travail à ceux qui m'ont donné la vie, le symbole de la tendresse, qui se sont sacrifiés pour mon bonheur et mon succès.

A ma très chère mère, Leïla à celle qui est toujours présente et continue de l'être pour faire mon bonheur.

Je sais bien maman, les larmes on les verse tout le temps, les moments de faiblesse on en a toujours, mais toi à chaque fois que je te regarde, j'observe la femme battante. Celle qui a du courage, Celle qui est dure mais celle qui est tout de même toujours, tendre, sensuelle. J'admire ta personne.

A mon cher père, IBRAHIM pour sa patience, sa confiance et son respect de mes choix, rien au monde ne vout les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Sans toi ce jour n'aurais pas existé !

A mes chères sœurs : LAMIA, SOUAD, KAWTHER

A mes chers frères : HAMZA, BOUBAKER

Merci pour votre amour, vos encouragements, vos conseils, je remercie Dieu pour ma présence parmi vous.

A mes chères tantes ZAHIRA et FADILA qui ne m'a pas oublié par supplication.

A ma chère amie : MESOUDA pour ta belle esprit, merci pour tout beau moment que nous avons passé ensemble.

A toutes mes amies : ANOUAR, NESRIN, KHADIDJA, MIMI

A toute la promotion 2018 de la biochimie de la nutrition

ROUMAÏSSA

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction1

Analyse bibliographique

Partie 1 : La maladie thromboembolique veineuse (MTEV)

1. Rappel Anatomique.....	3
2. Physiologie de l'hémostase	4
3- Physiologie de la coagulation.....	5
4. Physiopathologie de la MTEV.....	7
5. Epidémiologie de la MTEV.....	10
6. Facteurs de risque de la MTEV.....	11
6.1. Facteurs de risque acquis.....	11
6.2. Facteurs biologiques	15
6.2 .1.Déficit en antithrombine.....	15
6.2 .2. Déficit en protéine C.....	15
6.2.3. Déficit en protéine S.....	16
6.2.4. Hyperhomocystéinémie.....	16
6.3. Facteurs génétiques.....	16
6.3.1. Résistance à la protéine C activé (RPCA) et polymorphisme de facteurs V.....	16

6.3.2. Polymorphisme G20210A de la prothrombine	16
6.3.3. Polymorphisme de méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR).....	17

Partie 2 : Homocystéine et méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR)

1 .Homocystéine	17
1.1. Formes circulantes de l’homocystéine plasmatique	17
1.2. Métabolisme de l’homocystéine.....	18
1.2.1. Voie de reméthylation.....	19
1.2.2. Voie de transulfuration	19
1. 3. Facteurs favorisant une hyperhomocystéinémie	20
1.3.1. Facteurs génétique	20
1.3.2. Facteurs nutritionnels.....	21
1.3.3. Autres facteurs contrôlant le taux plasmatique de l’homocystéine.....	21
2. Méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR).....	21
2.1. Gène de la MTHFR : Localisation et structure	22
2.2. Polymorphisme de la MTHFR.....	22
2.2.1. Polymorphisme C766T.....	23
2.2.2. Autre polymorphisme du gène MTHFR.....	24
3. Corrélation entre l’homocystéine et les autres facteurs de risque de la thromboembolie veineuse	24

PATIENTS ET METHODES

1. Populations d’étude	26
------------------------------	----

1.1. Patients.....	26
1.2. Témoins.....	26
2. Prélèvements sanguins	27
3. Dosage de l'homocystéine	27
4. Analyse moléculaire	28
4.1. Extraction d'ADN à partir de sang total	28
4.2. Quantification et contrôle de la pureté de l'ADN	28
4.3. Méthode de génotypage du polymorphisme C677T de la MTHFR par PCR/RFLP	29
4.3.1. Préparation du milieu réactionnel de la PCR	29
4.3.2. Contrôle des produits PCR.....	30
4.3.3. Digestion par l'enzyme de restriction Hinf I du fragment amplifié	31
5. Analyse statistique.....	31

RESULTATS

1. Etude descriptive des cas et des témoins	
1.1. Moyenne d'âge	32
1.2. Répartition selon le sexe	32
1.3. Répartition par tranches d'âge selon le sexe	33
1.4. Caractéristiques relatives à la MTEV.....	34
1.5. Facteurs de risque de la MTEV chez les deux populations	35
1.6. Facteurs de risque chez les femmes de la population malade	36
2. Etude des caractéristiques biologiques des cas et témoins	
2.1. Fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme C677T de la MTHFR...36	
2.2. Taux moyens d'homocystéine.....	37

3. Etude d'association.....	38
4. Etude d'influence des différents génotypes de la MTHFR C677T sur les taux moyens d'homocystéine.....	38
Discussion	40
Conclusion	46

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Liste des abréviations

MTEV	Maladie thromboembolique veineuse
EP	Embolie pulmonaire
TVP	Thrombose veineuse profonde
TV	Thrombose veineuse
FT	Facteur Tissulaire
AT	Antithrombine
APC	Protéine C Activée
t-PA	Activateur tissulaire du Plasminogène
FDR	Facteur De Risque
PE	Pilule oestroprogestative
ARNm	L'acide ribonucléique messenger
HHC	Hyperhomocystéine
Hcys	homocystéine
5,10-MTHF	5,10-méthylène-tétrahydrofolate
ADN	Acide désoxyribonucléique
CBS	Cystathionine β -synthase
SAH	S-adénosyl-L-homocystéine
SAM	S-adénosylméthionine
ATP	Adénosine TriPhosphate
PLP	Protéine Liant une Penicillin
HTA	Hypertension Artérielle
AOMI	Artériopathie Oblitérales Des Membres Inférieurs
SDS	Sodium Dodécyle Sulfate
BET	Bromure d'Ethidium
THS	Traitement hormonal substitutif

Liste des tableaux

Tableau 01 : Séquences des amorces, longueur des produits de PCR et la taille des fragments de la digestion (Pb).....	29
Tableau 02 : Age moyen des deux populations d'étude.....	32
Tableau 03 : Répartition des deux populations par tranches d'âge et selon le sexe.....	33
Tableau 04 : Taux moyens de l'homocystéine.....	37
Tableau 05 : Association des deux facteurs biologiques à la MTEV.....	38
Tableau 06 : Taux moyens d'homocystéine plasmatique par génotypes de la MTHFR C677T.....	38

Liste des figures

Figure 01 : Dessin schématique d'une veine.....	4
Figure 02 : La fonction hémostatique.....	5
Figure 03 : Les inhibiteurs contribuent à l'équilibre hémostatique physiologique.....	7
Figure 04 : La triade de Virchow.....	8
Figure 05 : Déséquilibre vers l'hypercoagulabilité : risque augmenté de thrombose veineuse.....	10
Figure 06 : Différentes formes de l'homocystéine dans le plasma humain.....	18
Figure 07 : Représentation du métabolisme de l'homocystéine.....	20
Figure 08 : localisation du gène de la MTHFR au niveau du premier chromosome humain.....	22
Figure 09 : Carte des fréquences des homozygoties 677T dans le monde.....	24
Figure 10 : Influence de l'homocystéine sur la coagulation du sang et la fibrinolyse.....	25
Figure 11 : Profil de digestion du polymorphisme C677T de la MTHFR.....	31
Figure 12 : Représentation graphique de la répartition de la population générale selon le sexe.....	32
Figure 13 : Représentation graphique de la répartition des deux populations par tranches d'âge.....	33
Figure 14 : Représentation graphique de la répartition des différentes localisations de la thrombose veineuse.....	34
Figure 15 : Représentation graphique des facteurs de risque acquis chez les deux populations.....	35
Figure 16 : Représentation graphique des facteurs gynécologiques.....	36
Figure 17 : Représentation graphique des fréquences génotypiques du polymorphisme C677T de la MTHFR chez des témoins et des patients.....	36
Figure 18 : Représentation graphique des fréquences alléliques du polymorphisme C677T de la MTHFR chez des témoins et des patients.....	37

Introduction

Introduction

La maladie thromboembolique veineuse (MTEV) est une pathologie fréquente associée à une forte morbi-mortalité. Elle se présente principalement sous deux formes : la thrombose veineuse profonde (TVP) et l'embolie pulmonaire (EP) (Morange, 2010). Son incidence est estimée entre 5 et 20 cas pour 10 000 habitants/an chez la population générale (Fowkes *et al*, 2003). En Algérie, ce type d'affection prend de plus en plus de l'ampleur, en l'absence de publications révélant sa fréquence et le poids thrombogène des facteurs de risque qui lui sont associés (Chalal et Demmouche, 2013).

Il s'agit d'une maladie multifactorielle dont les étiologies ne sont pas encore totalement élucidées (Cattaneo, 2006). Plusieurs facteurs de risque peuvent être responsable de sa survenue sont en cours d'étude, parmi lesquels, les facteurs génétiques qui sont devenus fréquents. Il existe une interaction de ces facteurs de risque génétiques avec les facteurs de risque acquis, peuvent être soit circonstanciels (immobilisation prolongées, chirurgie, grossesse ...) ou iatrogènes (contraceptifs oraux ou hormonothérapie substitutive) ou liés à certaines pathologies telles que le cancer et le syndrome néphrotique (Bertina, 2013).

Parmi les facteurs génétiques nous citons la mutation C677T du gène de la 5,10-méthyltétrahydrofolate réductase (MTHFR) qui est un polymorphisme commun dans la population générale (Berrut *et al.*, 2003). Sa fréquence à l'état homozygote varie entre 5–15 % (Arruda *et al*, 1998) avec une distribution hétérogène significative parmi les différents groupes ethniques (Franco *et al*, 1998).

L'association entre le polymorphisme C677T de la MTHFR et la thrombose veineuse profonde demeure controversée. Il a été prouvé que la présence de cette mutation à l'état homozygote est associée à une augmentation modérée de l'homocystéine plasmatique totale (Berrut *et al.*, 2003). En effet l'hyperhomocystéinémie résulte d'un dysfonctionnement nutritionnel et génétique du métabolisme de l'homocystéine (Hirmerová, 2013). Il est à noter que de multiples études ont donné un intérêt au rôle de l'hyperhomocystéinémie (HHC) dans le risque de la maladie thrombotique et elles ont trouvé des résultats contradictoires (Feki *et al*, 2004 ; Eldibany and Caprini, 2007).

A la lumière de toutes ces données nous nous sommes intéressées à analyser une partie des résultats d'une thèse de doctorat ayant pour objectifs de :

- Définir la fréquence des facteurs et de risque acquis de la maladie thromboembolique veineuse chez une population de l'Est-Algérien.
- Déterminer la fréquence du polymorphisme C677T de la MTHFR et son influence sur l'homocystéine plasmatique ainsi que le risque de la maladie lié à ces deux facteurs biologiques.

*Analyse
bibliographique*

Analyse bibliographique

Partie 1 : la maladie thromboembolique veineuse

1. Rappel anatomique

La thrombose veineuse caractérisée par un thrombus endoluminal dont la localisation est possible dans tout l'arbre veineux avec prédominance aux membres inférieurs (Dominice et Righini, 2013).

Le système veineux constitue un réseau de vaisseaux de tailles différentes dont la fonction est d'acheminer le sang désoxygéné au cœur et d'agir tel un réservoir sanguin. Le système veineux contient environ 75 % du volume sanguin.

Le système veineux de la jambe comprend des veines superficielles, des veines profondes, des veines perforantes et des sinus veineux intramusculaires.

Les vaisseaux du système veineux ramènent le sang au cœur. Un flux veineux normal dépend de quatre facteurs : le cœur (flux dynamique ou spontané), la respiration (le flux rythmé), la pompe musculaire et les valvules (Maggisano et Harrison, 2004).

La constitution générale d'une artère, une veine, et un capillaire est organisée en 3 tuniques concentriques qui sont :

- **Intima** : est bordée par un endothélium présent aussi bien au niveau des vaisseaux qu'au niveau des parois cardiaques, des valves et des piliers. La limitante élastique interne sert de jonction entre l'intima et la média dans les artères (Pelluard, 2016).
- **Média** : constitue la charpente musculo-élastique des vaisseaux. Les veines comportent moins de fibres élastiques que les artères (Grenet, 2004).
- **Adventice** : contient essentiellement du tissu conjonctif. A l'intérieur, il y a présence d'une part, de vaisseaux (vasa vasorum) contenus dans la paroi de plus gros vaisseaux et qui viennent les alimenter en oxygène, et d'autre part de nerfs (nervi vasorum) (Pelluard, 2016) (Figure 1).

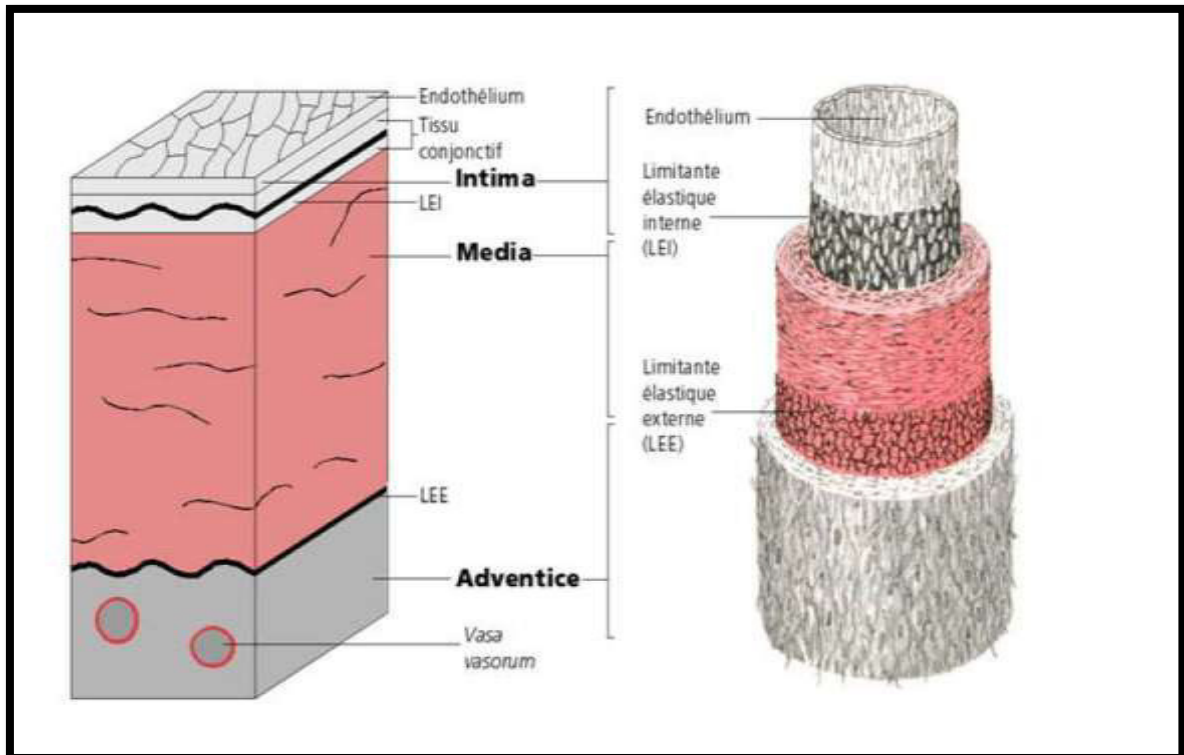


Figure 1 : Dessin schématique d'une veine (Ribuot, 2011).

2. Physiologie de l'hémostase

Hémostase désigne l'ensemble des mécanismes physiologiques qui concourent à maintenir le sang à l'état fluide à l'intérieur des vaisseaux (Berthélémy, 2015). Elles assurent la prévention des saignements spontanés et l'arrêt des hémorragies en cas de rupture de la continuité de la paroi vasculaire, la formation locale d'un caillot et sa dissolution (Moerloose, 2006).

Elle se divise en trois temps :

2.1. Hémostase primaire comporte une vasoconstriction locale, l'adhésion plaquettaire et enfin l'agrégation plaquettaire. Elle ferme la brèche par un « thrombus blanc » (clou plaquettaire).

2.2. Coagulation ou hémostase secondaire, une séquence d'activations enzymatiques en cascade, consolide ce premier thrombus en formant un réseau de fibrine emprisonnant des globules rouges « thrombus rouge ».

2.3. Fibrinolyse, C'est le processus enzymatique de dissolution de la fibrine. Intervient, au fur et à mesure que le vaisseau lésé se répare, pour limiter l'extension du thrombus (l'extension d'un caillot et de le lyser), en assurer la résorption complète, et finalement, reperméabiliser le vaisseau (Madouni et Madani, 2014) (Figure2).

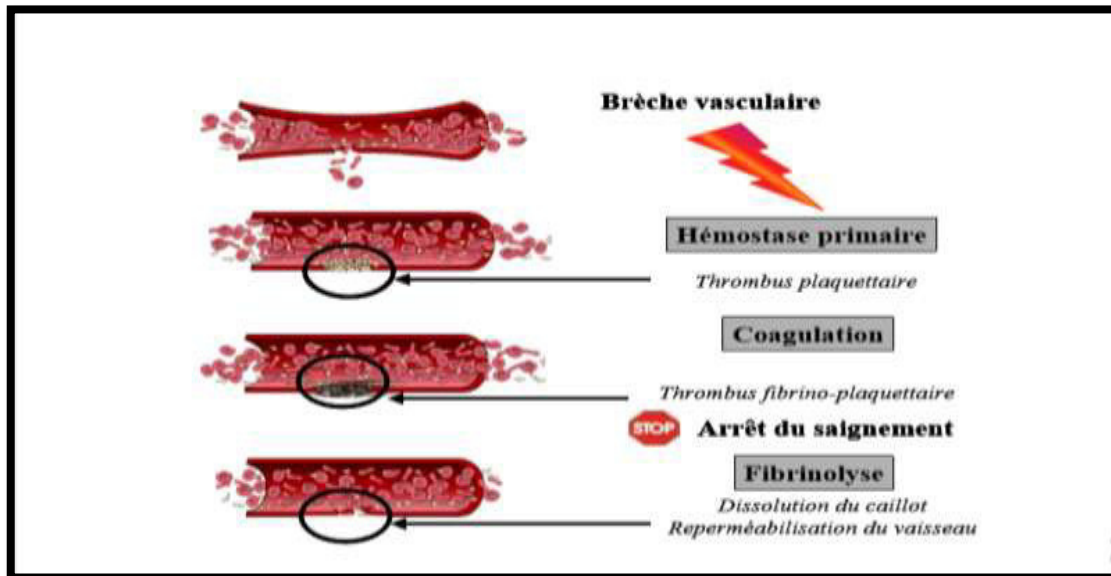


Figure 2 : La fonction hémostatique (Moerlose, 2006).

Les troubles de l'hémostase peuvent provoquer :

- Des accidents hémorragiques (pouvant aller de pétéchies à des hémorragies mortelles) ; diathèse hémorragique.
- Des accidents thrombotiques (par exemple : infarctus du myocarde, embolie pulmonaire, thrombose veineuse, accident vasculaire cérébral) (Moerlose, 2006).

3. Physiologie de la coagulation

3.1. Facteurs de coagulation

Les facteurs de la coagulation, synthétisés pour la plupart par le foie, sont divisés en précurseurs (pro-enzymes ou zymogènes) de sérine-protéases (facteurs II, VII, IX, X, XI, XII), en cofacteurs (facteurs V, VIII) et en substrat (fibrinogène).

La vitamine K intervient au stade terminal de la synthèse de 4 facteurs de la coagulation (facteurs II, VII, IX, X = facteurs vitamine K dépendants).

Pour que l'activation enzymatique des facteurs de la coagulation se déroule normalement, la présence de phospholipides et de calcium est nécessaire. Les phospholipides proviennent de deux sources principales, les plaquettes et les tissus (thromboplastine tissulaire). Le calcium est nécessaire à la plupart des étapes d'activation enzymatique de la coagulation (Moerlose, 2006) .

3.2. Etapes de la coagulation

On peut schématiquement diviser la « cascade » de réactions de la coagulation en deux voies différentes appelées extrinsèque et intrinsèque ;

- **Voie «extrinsèque »** est la principale voie d'hémostase in vivo. Quand des vaisseaux sont lésés, les cellules sous endothéliales de ceux-ci sont exposées. Toutes les cellules normalement non exposées à la circulation expriment une protéine transmembranaire appelée facteur tissulaire. Le facteur tissulaire active le facteur VII, qui lui-même active le facteur X.

- **Voie «intrinsèque »**, la surface sous-endothéliale négativement chargée et le collagène, exposés par la lésion vasculaire, activent le « système contact », qui lui-même active le complexe des facteurs VIII et IX. Ce complexe active alors le facteur X qui forme par la suite avec le facteur V un complexe à la surface des plaquettes activées. Ce complexe convertit la prothrombine en thrombine. Cette dernière convertit le fibrinogène en monomère de fibrine, qui se polymérise et constitue grâce au facteur XIII un réseau afin de former un caillot stable (Haslett et Chilvers, 2002).

3.3. Inhibiteurs de la coagulation

Dans le plasma, il existe plusieurs systèmes anticoagulants physiologiques dont le rôle est de maintenir l'équilibre hémostatique en contenant les réactions procoagulantes à un niveau basal. Les principaux inhibiteurs sont l'inhibiteur de la voie du facteur tissulaire (TFPI pour Tissue Factor Pathway Inhibitor), l'antithrombine (AT), ainsi que les protéines C et S (PC et PS) (Figure3).

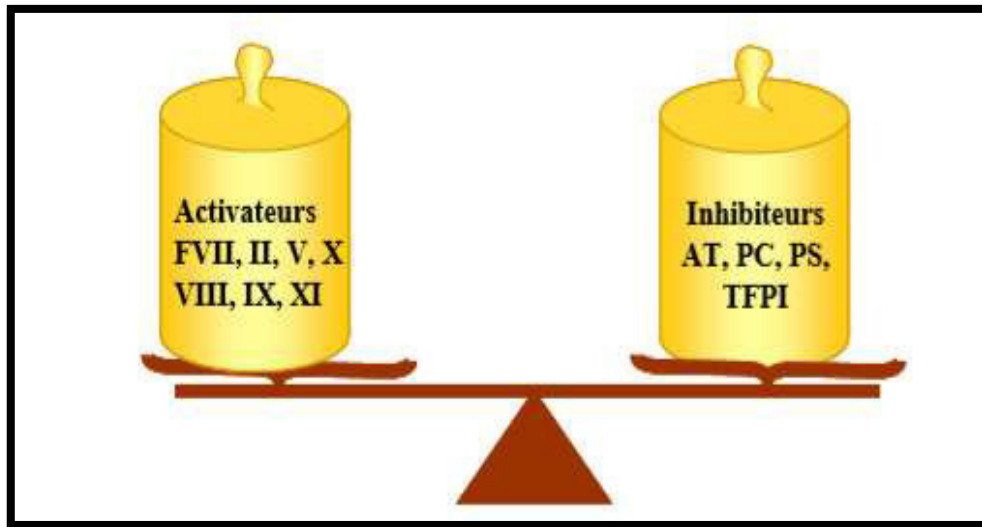


Figure 3 : Les inhibiteurs contribuent à l'équilibre hémostatique physiologique (Moerloose, 2006).

4. Physiopathologie de la MTEV

La maladie thromboembolique veineuse (MTEV) est une maladie fréquente et grave. Dans 50% des cas, un facteur favorisant est retrouvé (Roux *et al*, 2008).

Elle intéresse l'ensemble du réseau veineux de l'organisme. Elle comprend principalement les thromboses veineuses profondes (TVP) et l'embolie pulmonaire (EP). Rarement, la MTEV touche la circulation cérébrale.

Le thrombus veineux apparaît dans les zones à bas débit sanguin comme les sinus veineux ou les sacs valvulaires des veines profondes des membres inférieurs (Regragui, 2005).

4.1. Thrombose veineuse profonde

La triade de Virchow décrite en XIX^{ème} siècle résume les mécanismes impliqués dans la survenue des TV : la stase veineuse, La lésion pariétale, et l'hypercoagulabilité (Figure 5).

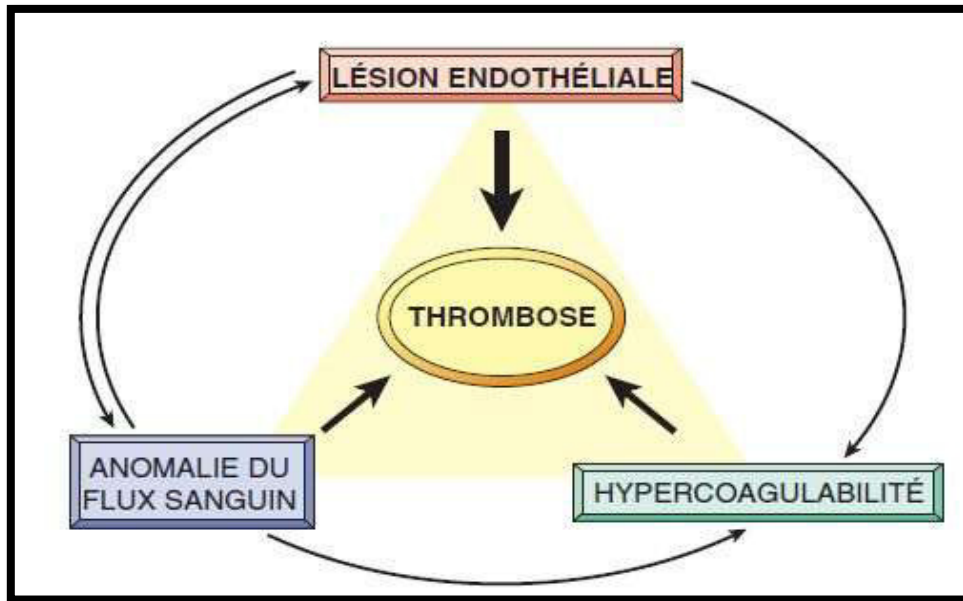


Figure 4: La triade de Virchow (http://campus.cerimes.fr/anatomie-pathologique/enseignement/anapath_4/site/html/2.html).

4.1.1. Stase sanguine

La stase est un élément prépondérant de la thrombogénèse veineuse. Elle favorise, d'une part, l'accumulation des différents facteurs procoagulants et elle limite, d'autre part, l'élimination des facteurs activés (Lensen *et al*, 2000 ; Mckinley, 1999).

Différents phénomènes peuvent être responsables du ralentissement du flux sanguin :

Hyperviscosité sanguine : en cas d'hypercytose (polyglobulie, hyperleucocytose, leucémie...), de dysglobulinémie (myélome, waldenstrom...) est un élément à ne pas négliger (Gensini *et al*, 1997).

Déshydratation : peut renforcer l'hypercoagulabilité plasmatique éventuelle par l'hémoconcentration des facteurs procoagulants. Les diurétiques utilisés au cours d'une défaillance cardiaque congestive peuvent ainsi contribuer à accroître le risque thrombotique par la majoration de l'hémoconcentration associée à la stase sanguine (Goldhaber ,1998).

Dilatations veineuses : (varices, insuffisance veineuse, grossesse). Si la stase est un phénomène physique nécessaire, elle semble incapable à elle seule de générer un thrombus.

Plus d'autres facteurs ont été causés ou responsables du ralentissement du flux sanguin ; L'immobilisation, L'obésité, La compression extrinsèque (hématome, kyste, tumeur....) (Lazareth et Priollet, 1994).

4.1.2 .Lésion endothéliale

La paroi endothéliale saine est thromborésistante par la synthèse de substances antithrombotiques telles que la prostacycline, la thrombomoduline, le tPA (activateur tissulaire du plasminogène) ou les glycosaminoglycanes. En cas de lésions endothéliales, il y'a sécrétion de facteurs procoagulants: facteur tissulaire, PAI-1 (inhibiteur de l'activateur tissulaire du plasminogène, facteur Willebrand. Les cellules endothéliales sécrètent aussi diverses cytokines pro-inflammatoires, contribuant ainsi à amplifier et à renforcer le profil procoagulant (IL1, IL8, TNF alpha...) (Hamidi, 2017).

4.1.3. Hypercoagulabilité

Il existe un équilibre entre la coagulation et la fibrinolyse assurant l'homéostasie du sang. Tout déséquilibre de cette balance favoriserait la tendance thrombotique ou hémorragique.

Ainsi Les excès de génération de thrombine liés, par exemple, à une résistance à l'action de la protéine C activée (due à la mutation léiden du facteur V ou à la prise de pillule oestroprogestative) ou à une augmentation de la concentration des facteurs VIII, IX, ou XI sont des facteurs de risque de thrombose. Inversement, un déficit en inhibiteurs de la coagulation (antithrombine III, protéine C ou protéine S) est un facteur de risque de thrombose veineuse bien étudié (Elalamy, 2002 ; Goldhaber, 1998 ; Doran *et al*, 1964 ; Kamphuisen *et al*, 2001) (Figure 4).



Figure 5 : Déséquilibre vers l'hypercoagulabilité : risque augmenté de thrombose veineuse (Moerloose, 2006).

4.2. Embolie pulmonaire

Si le thrombus ou une partie de celui-ci se détache (embole), il part dans le flux sanguin et entraîne une embolie dès qu'il atteint un segment de vaisseau plus étroit où il se coince et il l'obstrue. Les thrombus qui se détachent des veines de la jambe ou du bassin migrent souvent à travers le cœur droit et provoquent une obstruction au niveau de la circulation pulmonaire, pouvant ainsi entraîner une embolie pulmonaire qui est une complication grave et souvent fatale (Jacq, 1999).

5. Épidémiologie de la MTEV

La thrombose veineuse profonde (TVP) constitue avec l'embolie pulmonaire (EP) l'une des deux manifestations de la maladie thromboembolique veineuse (MTEV). C'est une pathologie fréquente dont l'incidence annuelle des TVP était de 160/100.000, celle des EP symptomatiques (non mortelles) de 20/100.000, et celle des EP mortelles (diagnostiquées en postmortem) de 50/100.000. L'EP serait la troisième cause de décès après les maladies cardiovasculaires et le cancer (5 000 à 10 000 décès/an en France) (Eric *et al*, 2005).

En Algérie, ce type d'affection prend de plus en plus de l'ampleur, en l'absence de publications révélant sa fréquence et le poids thrombogène des facteurs de risque qui lui sont associés (Chalal et Demmouche, 2013).

On estime à 600 000 le nombre de cas annuels de MTE aux Etats-Unis, dont 30% entraînent un décès, et 250 000 TVP. En France l'incidence annuelle de la MTE est de l'ordre de 50 à 100 000 cas responsables de 5 à 10 000 décès (Bosson, 2005) .C'est aussi une pathologie potentiellement létale, associée à 25 000 décès/an en Angleterre (Coombes, 2005).

La fréquence de la MTV augmente considérablement avec l'âge dans les deux sexes, son incidence annuelle pouvant atteindre 0,5 à 1% après 75 ans (Boukili ,2008).

Malgré une incidence élevée après 50 ans et une mortalité importante en faisant l'un des problèmes majeurs de santé publique, la MTEV reste mal connue et sous diagnostiquée. Une meilleure prévention primaire et secondaire de la maladie se traduirait par des bénéfices considérables en termes de coût et de santé publique (Valérie, 2011).

6. Facteurs de risque de la MTEV

Les nombreux facteurs de risque de MTEV peuvent être classés selon leur caractère constitutionnel ou acquis, transitoire ou permanent. Les FDR de MTEV décrits dans la littérature scientifique médicale sont multiples, répandus, complexes, souvent associés et se potentialisent chez un même patient (Lensen *et al*, 2000).

6. 1.Facteurs de risques environnementaux ou acquis

6.1.1. Âge avancé

L'âge représente un des plus importants facteurs de risque de la MTEV. Naess rapporte en 2007, un taux d'incidence chez les patients de plus de 70 ans 3 fois supérieur à celui des sujets âgés de 45 à 69 ans, pour lesquels le taux d'incidence est lui-même 3 fois plus élevé que ceux ayant un âge entre 20 ans et 44 ans (Naess *et al*, 2007)

Certaines conditions tendent à croître avec l'âge et participent à l'augmentation de la MTEV : limitation de la mobilité physique, la prise de poids fréquente avec augmentation

de l'indice de masse corporel (IMC), prévalence augmentée des varices, co-morbidité (cancer, inflammation chronique) (Philbrick *et al*, 2007).

6.1.2. Sexe masculin

Tous les registres de suivi de patients s'accordent sur le fait que le sexe masculin est un facteur de risque indépendant associé à la récurrence de la MTEV. Parmi ces registres, celui de Kyrle *et al* retrouvait un risque relatif de récurrence associé au sexe masculin de 3,6 (IC 95 %, 2,3—5,5), avec une incidence à cinq ans de 30,7 % chez les hommes versus 8,5 % chez les femmes ($p < 0,001$) (Kyrle *et al*, 2004).

6.1.3. Obésité

L'obésité, avec un IMC > 30 Kg/m², est aussi un facteur de risque de TE, et multiplie le risque de thrombose par deux, après ajustement de l'âge et du sexe (Abdollahi *et al*, 2003). Elle est responsable d'une mobilité réduite et associée à une réduction de l'activité fibrinolytique, elle pourrait ainsi majorer le risque de TVP postopératoire (Gensini *et al*, 1997).

Certains facteurs de la coagulation VIII et IX sont retrouvés à des taux plus élevés chez les personnes obèses. De plus, la prise d'une contraception oestroprogestative chez la femme de 15 à 45 ans, a un effet synergique avec l'obésité sur le risque thromboembolique : le risque est augmenté de 10 fois pour les femmes ayant un IMC supérieur à 25 Kg/m² qui utilisent une contraception orale (Abdollahi *et al*, 2003).

6.1.4. Immobilisation prolongée

L'immobilisation prolongée est reconnue par de nombreux auteurs comme un facteur de risque thromboembolique veineux. Elle ralentit le retour veineux par défaut de contraction musculaire : liée à un état grabataire ou à l'impotence fonctionnelle. La survenue d'un accident thrombotique est aussi liée au type de geste opératoire, à la durée de l'intervention chirurgicale, à la pathologie sous-jacente ou au terrain du patient pouvant aggraver cette stase (Hamidi, 2017).

Ainsi, les TVP sont quatre à neuf fois plus fréquentes dans le membre paralysé chez les sujets hémiparétiques alors que la fréquence est identique dans les deux jambes des patients paraplégiques (Mckinley *et al*, 1999 ; Lensen *et al*, 2000).

6.1.5. Antécédents de la MTEV

✓ Antécédents personnels

Le risque de récurrence de TVP dépend du contexte du premier épisode ; en effet le risque est moindre chez les patients dont la première TVP a eu lieu dans les suites d'une chirurgie. Le risque de récurrence est plus grand si l'épisode précédent est survenu sans cause évidente. Les patients ayant un antécédent de TVP spontané ont un risque de récurrence annuelle de 5 à 15% avec un risque cumulé de 25% en 4 ans (Kyrle et Eichinger, 2005).

✓ Antécédents familiaux

Les antécédents familiaux de MTEV augmentent le risque de TV. Ce risque est multiplié par 2 si un seul parent du premier degré a présenté un antécédent thromboembolique (TE) et par 4 si plusieurs parents ont été concernés. Pour l'évaluation individuelle du risque TE, les antécédents familiaux seraient plus importants que la découverte d'une anomalie biologique (Bezemer *et al*, 2009).

6.1.6. Grossesse et post-partum

La MTEV est une des complications les plus fréquentes de la grossesse, survenant en anténatal ou en post-partum, de 0,5 à 2,2 pour 1 000 grossesses, soit un risque 2 à 5 fois supérieur à celle d'une femme du même âge. Le risque de MTEV est augmenté pendant toute la grossesse et jusqu'à six semaines post-partum, mais le risque est probablement supérieur au dernier trimestre de grossesse et pendant les 3 semaines post-partum. Dans les pays développés, la MTEV est l'une des premières causes de mortalité maternelle avec les hémorragies de la délivrance. En France, douze cas d'embolies pulmonaires fatales ont été recensés entre 1999 et 2001, soit un taux de mortalité de 0,5 pour 100 000 naissances vivantes. Une étude plus récente au Royaume-Uni retrouve une mortalité liée à la MTEV de 0,79 pour 100 000 grossesses.

Durant la grossesse et dans les trois premières semaines après l'accouchement, plusieurs facteurs contribuent à l'apparition d'un état prothrombotique, avec une augmentation des facteurs de coagulation sanguins et de la fibrinolyse, compliqué de MTEV chez 76 à 172 pour 100000 grossesses (Jean-luc, 2014).

6.1.7. Utilisation des contraceptifs œstroprogestatifs

Le risque de la MTEV est multiplié par **3 à 4** chez les patients utilisant une contraception oestroprogestative. Ce risque est nettement accru chez les femmes qui présentent d'autres facteurs de risque (une mutation du facteur V Leiden hétérozygotes (20 à 30 fois) et facteur II G20210A (16 fois) (Elalamy *et al*, 2002 ; Martinelli, 2001 ; Aiach *et al*, 2000 ; Pecheniuk *et al*, 2006).

Les œstrogènes utilisés dans ces préparations ont des effets au niveau du système de la coagulation produisant une augmentation du fibrinogène, des facteurs de la coagulation, une diminution des facteurs anticoagulants, antithrombine et protéine S et une résistance acquise à la protéine C activée, induisant un état prothrombotique. La contraception oestroprogestative induit donc un état d'hypercoagulabilité (Aubard *et al*, 2018).

6.1.8. Cancer

La relation entre TVP et cancer est bien connue depuis la description d'Armand Trousseau en 1865 et par de nombreuses études épidémiologiques (Trousseau, 1865 ; Mismetti *et al*, 2008 ; Farge-Bancel *et al*, 2008).

Différents mécanismes participent au risque de thrombose chez le cancéreux. La chimiothérapie, une chirurgie concomitante, la stase et enfin l'hypercoagulabilité acquise liée au cancer sont autant de facteurs multiplicatifs. Le déséquilibre du système fibrinolytique contribue à favoriser selon les cas un phénomène pro-hémorragique ou prothrombotique.

Les principales incidences et types de cancer associés à la MTEV sont : cancers du pancréas, du cerveau et des poumons, les hémopathies et le cancer colorectal (Timp *et al*, 2013).

6.1.9. Tabagisme

Le tabagisme est reconnu comme facteur favorisant le risque thromboembolique mais sous certaines conditions. Dans l'étude d'Enga *et al*, les gros fumeurs (supérieur à 20 paquets/année) ont un risque thromboembolique veineux augmenté lorsqu'il existe une

circonstance favorisante comme par exemple une chirurgie ou un traumatisme récent, une immobilisation prononcée et une infection grave (Enga *et al*, 2012).

6.2. Facteurs biologiques

6.2.1. Déficit en antithrombine

L'antithrombine inactive essentiellement la thrombine et le facteur X activé (Xa), mais également, en présence d'héparine, les facteurs VIIa, XIa et XIIa. Le déficit en antithrombine était la première anomalie constitutionnelle de l'hémostase expliquant un tableau familial de la maladie thromboembolique veineuse. Cette anomalie a été identifiée en 1965 par Egeberg et est retrouvée chez 1 à 2 % des patients atteints de la maladie thromboembolique veineuse primitive. La prévalence du déficit en antithrombine symptomatique dans la population générale est comprise entre 1/2000 et 1/5000. (Berruyer, 2002).

Premièrement, ces déficits peuvent entraîner, lors d'épisode thrombotique, une relative résistance à l'héparine. Deuxièmement, les déficits en antithrombine peuvent se compliquer avec une certaine fréquence de fausses couches ou d'avortements (Jude *et al*, 2016).

6.2.2. Déficit en protéine C

La protéine C inhibe physiologiquement la génération de thrombine par protéolyse de deux facteurs de la coagulation, le facteur Va et le facteur VIIIa. La protéine C circule sous la forme d'un zymogène vitamine-K dépendant (comme les facteurs II, VII, IX, et X) qui est activé par la thrombine fixée à un récepteur présent à la surface de l'endothélium vasculaire, la thrombomoduline. Sous cette forme, la thrombine perd ses propriétés prohémostatiques pour devenir l'activateur d'un mécanisme antithrombotique (Arceci *et al*, 2006 ; Bertina *et al*, 1994 ; Goldhaber, 2003).

Le déficit congénital en protéine C est un trouble héréditaire de la coagulation associé à un risque accru de thromboses veineuses en raison d'une synthèse réduite ou d'une baisse d'activité de la protéine C. La prévalence du déficit sévère (formes homozygotes ou hétérozygote composites) est estimée à 1/500 000. Les déficits partiels (formes hétérozygotes) sont beaucoup plus fréquents (1/200–1/500) (Rahal *et al*, 2015).

6.2 .3 Déficit en protéine S

La protéine S (PS) est également une protéine vitamine-K dépendante, elle joue le rôle de cofacteur de la protéine C.

Un lien entre la déficience héréditaire en protéine S et la thrombose veineuse a été établi en 1984. Ce déficit en PS est découvert chez 8% des sujets ayant une thrombose veineuse. Il existe également des déficits acquis, par insuffisance hépatique, prise d'anti vitamine K ou de L-Asparaginase, en cas de grossesse ou de syndrome inflammatoire (Bina, 2007).

Sa prévalence dans la population générale et chez les patients atteints de MTEV est de 1 à 2%. Il multiplie le risque de MTEV par 2 (Goldhaber *et al*, 1992).

6.2.4. Hyperhomocystéinémie

Une association entre hyperhomocystéinémie modérée et thrombose veineuse n'a été rapportée que pendant la dernière décennie. Plusieurs études présentent l'hyperhomocystéinémie modérée comme un facteur de risque pour les thromboses artérielles et les thromboses veineuses. Les données de la littérature indiquent qu'une hyperhomocystéinémie modérée est trouvée avec une fréquence de 19 à 47 % dans les thromboses artérielles et de 10 à 25 % dans les thromboses veineuses (Guilland *et al*, 2003).

6.3. Facteurs génétiques

6.3.1. Résistance à la protéine C activé (RPCA) et polymorphisme du facteur V

La RPCa héréditaire résulte d'une anomalie moléculaire due à une mutation sur le gène du facteur V à l'un des sites de clivage de la protéine C activée. Le facteur V ainsi muté est appelé « facteur V Leiden ». La mutation est associée à un risque relatif de la maladie thrombo-embolique de 3 à 8 en cas de mutation hétérozygote et de 80 en cas de mutation homozygote chez la population générale (Ehrenforth *et al*, 2004).

6.3.2. Polymorphisme G20210A de la prothrombine

La mutation FII 20210G>A est une anomalie génétique décrite en 1996. Cette mutation affecte le nucléotide 20210 situé dans la région 3' non codante du gène codant la

prothrombine (Schved *et al*, 2003). Elle entraînerait une augmentation de la stabilité des ARN messagers d'où une augmentation de la concentration de la prothrombine circulante, donc un risque thrombotique accru. La prévalence de cette mutation est estimée à 2-4 % chez la population générale. Le risque relatif de maladie thrombo-embolique associé à cette mutation est estimé à 3 (intervalle de confiance non précisé) en population générale (Ehrenforth *et al*, 2004).

6.3.3. Polymorphisme de la méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR)

Il existe une corrélation stricte entre la concentration de l'homocystéine sérique et le risque de thrombose vasculaire. L'hyperhomocystéinémie est un facteur de risque de thrombose veineuse profonde. G. Berrut *et al*. ont montré que la mutation C677T du gène de la 5,10-méthyltétrahydrofolate réductase (MTHFR) à l'état homozygote est associée à une augmentation de l'homocystéine plasmatique totale et par conséquent constitue un facteur de risque de thrombose veineuse profonde (Chraïti *et al*, 2011).

Partie 2 : Homocystéine et méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR)

1. Homocystéine

L'homocystéine (Hcy) est un acide aminé non protéique qui apparaît comme intermédiaire dans le métabolisme des acides aminés soufrés (De Lonlay *et al*, 2013). C'est le produit de la déméthylation de la méthionine, un acide aminé essentiel apporté par les aliments contenant des protéines. L'Hcy possède une fonction thiol libre (HS) facilement oxydable, ce qui lui permet de se fixer soit sur des protéines, soit sur une autre molécule possédant un thiol libre (cystéine ou Hcy elle-même) (Levasseur, 2009).

1.1. Formes circulantes de l'homocystéine plasmatique

L'homocystéine libre ne compose que 1%-2% de l'homocystéine totale (tHcy). 98%-99% de l'homocystéine totale circulent sous la forme de ponts disulfures, 75%-80% de l'homocystéine totale est lié aux résidus réactifs de cystéine des protéines, la plupart sont avec des cystéines 34 (Cys34) d'albumine et réduite de l'homocystéine totale (Figure 6).

D'autres homocystéines sont sous la forme de ponts disulfures libres, homocystine (Hcy-Hcy) et cystéine homocystéine (Hcy-Cys) (Ueland *et al*, 1995 ; Mudd *et al*, 2000).

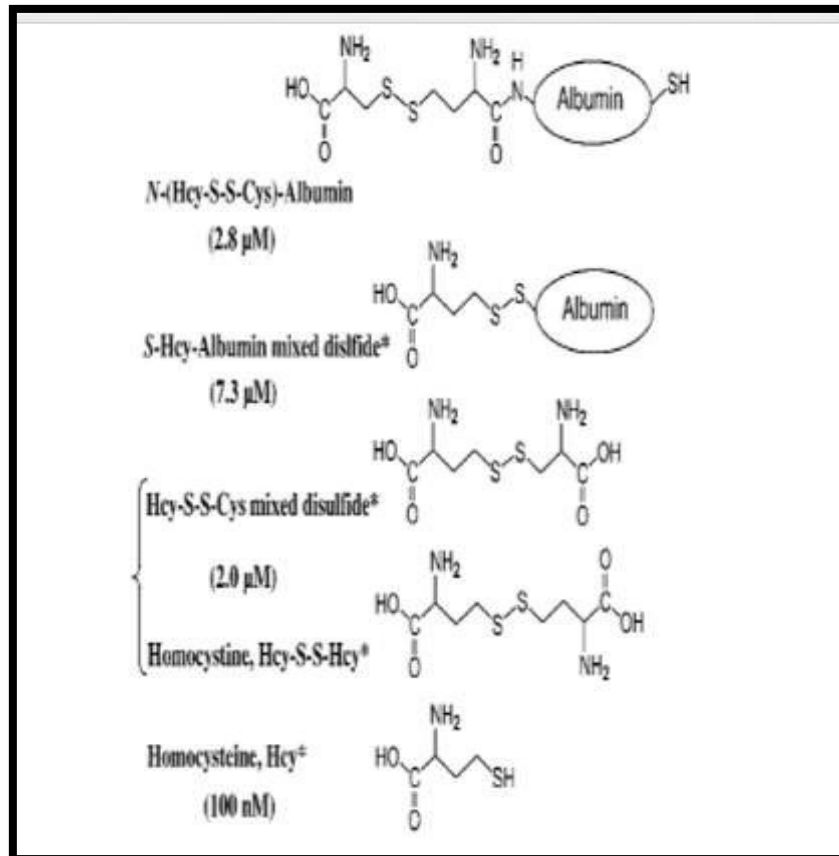


Figure 6 : Différentes formes de l'homocystéine dans le plasma humain

(Jakubowski *et al*, 2006).

1.2.Métabolisme de l'homocystéine

L'homocystéine se trouve à la jonction de deux voies métaboliques :

- La reméthylation : l'homocystéine peut subir une reméthylation en méthionine en présence de l'enzyme MTHFR et la méthionine synthase avec la vitamine B12 comme cofacteur et les folates comme substrat (Piolot *et al*, 1996).
- La transsulfuration : l'homocystéine est transformée en cystathionine en présence de cystathionine bêta-synthétase (CBS) et d'un cofacteur : pyridoxine 5'-phosphate (vitamine B6) (Abecassis *et al*, 2004).

1.2.1. Voie de reméthylation

L'homocystéine acquiert un groupement méthyl à partir du N-5 méthyltétrahydrofolate pour former la méthionine. La réaction avec le N-5 méthyltétrahydrofolate a lieu dans tous les tissus et dépend de la vitamine B12. Une proportion considérable de méthionine est par la suite activée par l'ATP pour former la S-adénosylméthionine (SAM). La SAM sert principalement de donneur de méthyle universel pour une variété d'accepteurs (Selhub, 1999).

La S-adénosyl-L-homocystéine (SAH) est accompagnée des réactions vitales de méthylation permettant notamment la synthèse de phosphatidylcholine et de créatine ainsi que la méthylation de l'ADN, de l'ARN et de nombreux neurotransmetteurs.

La SAH formée lors de ces réactions de transméthylation est hydrolysée en homocystéine et en adénosine. Cette voie de transméthylation représente l'unique voie de synthèse de l'homocystéine dans l'organisme.

La reméthylation de l'homocystéine est catalysée par la méthionine synthase qui requiert du N5-méthyltétrahydrofolate (5CH3THF) comme donneur de méthyl et de la cobalamine comme cofacteur. La formation du 5CH3THF dépend de la N5,10 méthylénetetrahydrofolate réductase (MTHFR) qui catalyse la 5,10 réduction du N5,10 méthylénetetrahydrofolate (5,10CH2THF) formé à partir du THF (Durand *et al*, 1998).

1.2.2. Voie de transulfuration

L'homocystéine s'associe à la sérine pour former la cystathionine au cours d'une réaction irréversible catalysée par une enzyme contenant du pyridoxine 5'-phosphate (PLP), la cystathionine-béta-synthase (CBS). La cystathionine est hydrolysée par une seconde enzyme contenant du PLP, la γ -cystathioninase, pour former la cystéine et le α -kétobutyrate. L'excès de cystéine est oxydé en taurine ou en sulfate inorganique ou bien est excrété dans les urines (Glocker *et al*, 2009) (Figure 7).

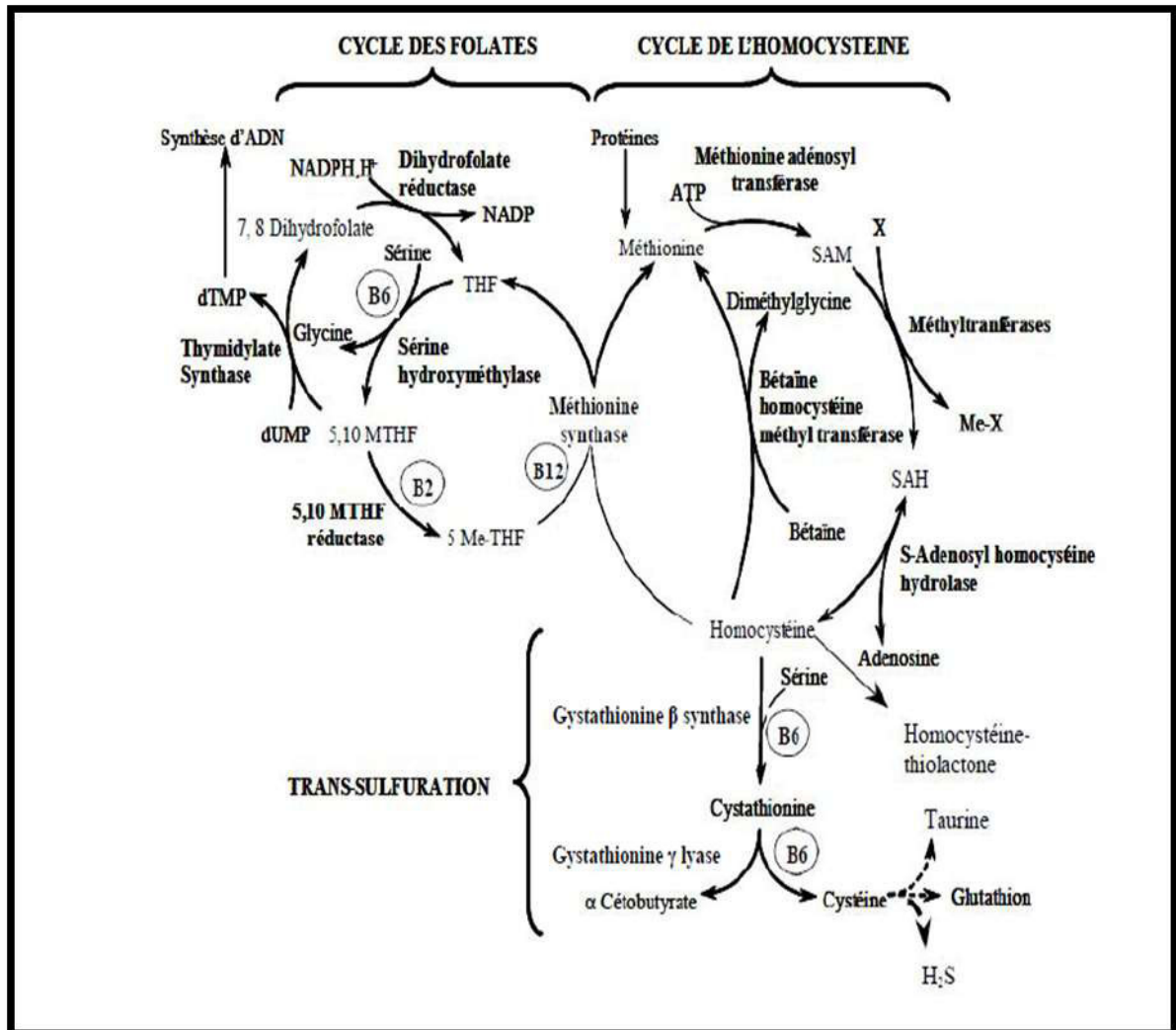


Figure 7 : Représentation du métabolisme de l'homocystéine (Chen, 2009).

1.3.Facteurs favorisant une hyperhomocystéinémie

Les dysfonctionnements du métabolisme de l'homocystéine dépendant de défauts congénitaux en enzymes impliquées dans ce métabolisme ou de déficiences dans l'apport, le transport et le métabolisme des folates et des vitamines B12 et B6 ou encore d'un apport alimentaire excessif en méthionine sont à l'origine des hyperhomocystéinémies (Durand *et al*, 1998).

1.3.1. Facteurs génétique

La mutation de la 5-10 méthyltétrahydrofolate réductase (MTHFR) est une variante thermolabile prédispose à une hyperhomocystéinémie chez les patients carencés

en folates. La fréquence de cette mutation à l'état homozygote est supérieure à 10% dans la population (Coutelour, 2000).

Une des altérations classiques du métabolisme de l'homocystéine est l'altération de la voie de transsulfuration engendrée par un déficit congénital en CBS. Ce déficit, à transmission autosomique récessive, conduit chez les individus homozygotes à une homocystinurie importante accompagnée d'une élévation anormale de la concentration plasmatique en homocystéine et en méthionine (Mudd *et al*, 1995).

1.3.2. Facteurs nutritionnels (déficit en vitamine B6, B12 ou en folates (B9))

Les enzymes du cycle de l'homocystéine avaient besoin de cofacteurs (vit. B6 et B12) et de substrat (vit.B9) pour fonctionner normalement. Ainsi la diminution des apports en vitamines B6,B9 et B12 perturbe le métabolisme de l'homocystéine et est responsable d'une augmentation des taux sanguins d'homocystéine. A l'opposé, les régimes riches en fruits et légumes et les suppléments vitaminiques en acide folique, en vitamine B6 et en B12 font diminuer l'homocystéine (Aubard *et al*, 2018).

1.3.3. Autres facteurs contrôlant le taux plasmatique de l'homocystéine

Le métabolisme de l'Hcys est aussi modifié dans certaines situations physiopathologiques (âge, sexe masculin, tabac, alcool, insuffisance rénale...) ou lors de la prise de certains médicaments (anticonvulsivants, estroprogestatifs synthétiques, isoniazide, théophylline, ciclosporine...) (Abecassis *et al*, 2004).

2. Méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR)

La 5,10 méthylène tétrahydrofolate réductase, plus communément appelée MTHFR, représente l'enzyme clé du métabolisme des folates. Elle catalyse la réduction irréversible du 5,10 méthylène tétrahydrofolate en 5 méthyl tétrahydrofolate. Ce dernier substrat constitue, d'une part, la forme biologique circulante et majeure des folates et, d'autre part, le donneur de carbone pour la reméthylation de l'acide aminé soufré « homocystéine » en acide aminé essentiel « méthionine » (Jerbi et Harzallah, 2005).

2.1. Gène de la MTHFR : Localisation et structure

C'est une enzyme codée par un gène localisé sur le bras court du chromosome 1(1p.36.3), Plus précisément dans la région des paires de bases 11.769.246 jusqu'à 11.788.568 du chromosome 1, au niveau duquel des polymorphismes de substitution ont été décrits (Saffroy *et al*, 2005).

Le gène de la MTHFR comprend 11 exons et produit 656 résidus des acides aminés (Goyette *et al*,1998) (Figure 8).

La transcription du gène MTHFR produit 4 variants du transcrit de ce dernier, qui diffèrent par leur région 5'. La diversité de ces transcrits (ARNm) du gène est due à l'épissage alternatif au moment de la transcription primaire ou au courant de l'épissage des 3 premiers exons. Trois polypeptides de 657, 698 et 680 acides aminés sont traduits à partir de ces trois variants (Goyette *et al*, 1998; Homberger *et al*, 2000).

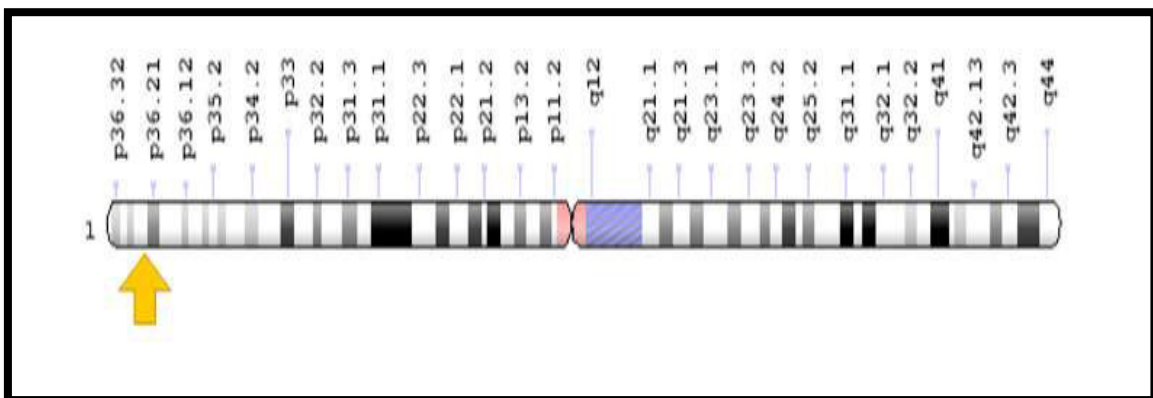


Figure 8 : localisation du gène de la MTHFR au niveau du premier chromosome humain

(<https://ghr.nlm.nih.gov/gene/MTHFR>).

2.2. Polymorphisme de la MTHFR

Les polymorphismes ou variants génétiques du génome sont la conséquence de mutations qui sont plus souvent des mutations uniques (single nucleotide polymorphism ou SNP). Il existe plusieurs polymorphismes des enzymes intervenant dans le métabolisme de l'homocystéine. Il s'agit principalement de variants génétiques des enzymes 5, 10-méthyltétrahydrofolate réductase (MTHFR).

Pour le gène codant pour la MTHFR une soixantaine de polymorphismes ont été décrits, Le plus commun est le polymorphisme C677T, décrit comme présentant une hétérogénéité de distribution mondiale et associé à diverses pathologies notamment cardiovasculaires, cancéreuses et thrombotiques; qui influencent les taux d'homocystéine plasmatique (Namour *et al*, 2001).

2.2.1. Polymorphisme C677T

L'altération génétique la plus commune associée à une hyperhomocystéinémie modérée est la mutation par substitution d'une cytosine (C) en position 677 du gène par une thymine (T) (polymorphisme C677T) et se traduit, au niveau de la protéine, par la conversion d'une alanine en une valine en position 222. Ce polymorphisme est à l'origine d'une enzyme thermolabile (Wilcken, 2003).

Le polymorphisme C677T provoque le changement de l'acide aminé localisé au niveau du site de liaison du cofacteur de l'enzyme MTHFR, le cofacteur FAD. Ce polymorphisme facilite la séparation de l'enzyme de son cofacteur, et par conséquent, la diminution de l'activité enzymatique.

Il en résulte par conséquent une augmentation de l'homocystéine, en plus d'une baisse des folates dans le plasma. Cependant, si la concentration plasmatique des folates est insuffisamment élevée, l'effet des génotypes sur l'homocystéine est annulé (De Bree *et al*, 2003 ; Ma *et al*, 1996).

En comparaison au génotype homozygote de l'allèle sauvage du polymorphisme 677C>T, les individus ayant un génotype 677TT ne présentent que 30% de l'activité enzymatique de la MTHFR *in vitro*, tandis que les individus hétérozygotes 677CT présentent une activité enzymatique de MTHFR s'élevant à 60% (Semenza *et al*, 2003). L'allèle 677T a été associé à un taux élevé d'homocystéine dans le plasma (Ryan et Weir, 2001), ce qui augmenterait le risque des maladies cardiovasculaires, de thromboembolie veineuse et le risque des malformations congénitales. Le variant 677T est assez commun chez la population Européenne, nord Américaine, et plusieurs populations Asiatiques, avec une fréquence d'homozygotie supérieure à 30% (Botto et Yang, 2000) (figure 9). La fréquence la plus importante de ce variant a été rapportée chez les populations du bassin méditerranéen et du nord de l'Amérique, mais elle est relativement moins importante chez

les Africains sub-Sahariens et les noirs Américains (Pepe *et al*, 1998; Stevenson *et al*, 1997).

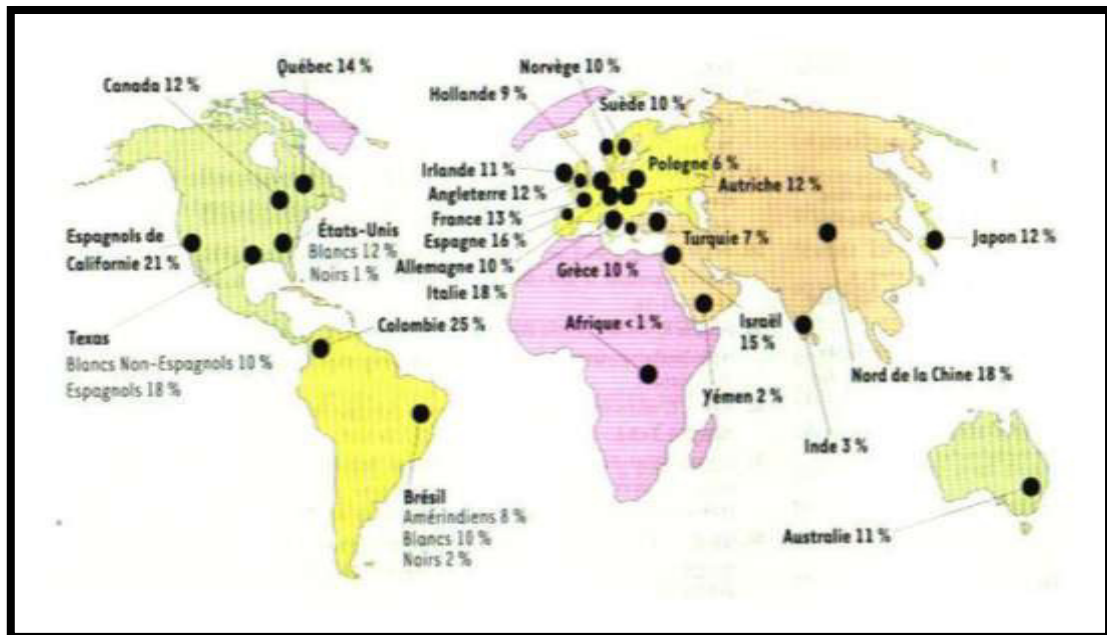


Figure 9 : carte des fréquences des homozygoties 677T dans le monde (Leclerc et Rozen, 2007).

2.2.2. Autres polymorphismes du gène MTHFR

Un défaut d'activité de la protéine 5,10MTHFR avec une activité résiduelle est dû à plusieurs autres polymorphismes. La majorité d'entre eux sont découverts chez seulement une ou deux familles, il s'agit des polymorphismes T1317C, G1793A, T1081C, G1027T, T1084C et T1711C. Certains de ces polymorphismes ont été décrits en association avec le polymorphisme C677T et ceci diminue l'activité enzymatique de la protéine MTHFR de façon remarquable, alors que d'autres n'altèrent pas la séquence des acides aminés et leur rôle n'est pas bien décrit (Paluku *et al*, 2009).

3. Corrélation entre l'homocystéine et les autres facteurs de risque de la thrombose

L'hyperhomocystéinémie est un facteur de risque de thrombose veineuse profonde. G.Berrut *et al* ont montré que la mutation C677T du gène de la 5,10 méthylénetétrahydrofolate réductase (MTHFR) à l'état homozygote est associée à une

augmentation de l'homocystéine plasmatique totale et par conséquent constitue un facteur de risque veineuse profonde (Berrut, 2003).

L'homocystéine altère les propriétés antithrombotiques de l'endothélium. Elle diminuerait la capacité des cellules endothéliales à inhiber l'agrégation plaquettaire. Par ailleurs, l'exposition des cellules endothéliales à l'homocystéine augmente l'expression du facteur tissulaire ainsi que l'activation du facteur V en facteur Va favorisant ainsi l'initiation et la propagation de la coagulation génératrice de thrombine. De plus, cette exposition altère les systèmes anticoagulants thrombomoduline/protéine C et anti-thrombine III. Elle inhibe la synthèse et l'activité de la thrombomoduline, l'activité de la protéine C, l'activation du système anticoagulant thrombomoduline/protéine C par la thrombine ainsi que les capacités de liaison de l'antithrombine III à la surface endothéliale en diminuant l'expression de sulfate d'héparine. Par ailleurs, en diminuant la liaison et l'action de l'activateur du plasminogène de type tissulaire (t-PA) à la surface des cellules endothéliales, l'homocystéine inhiberait la fibrinolyse dépendante de l'endothélium (figure 10). L'ensemble de ces observations suggèrent donc que l'hyperhomocystéinémie favorise le développement de thromboses (Durand *et al*, 1998).

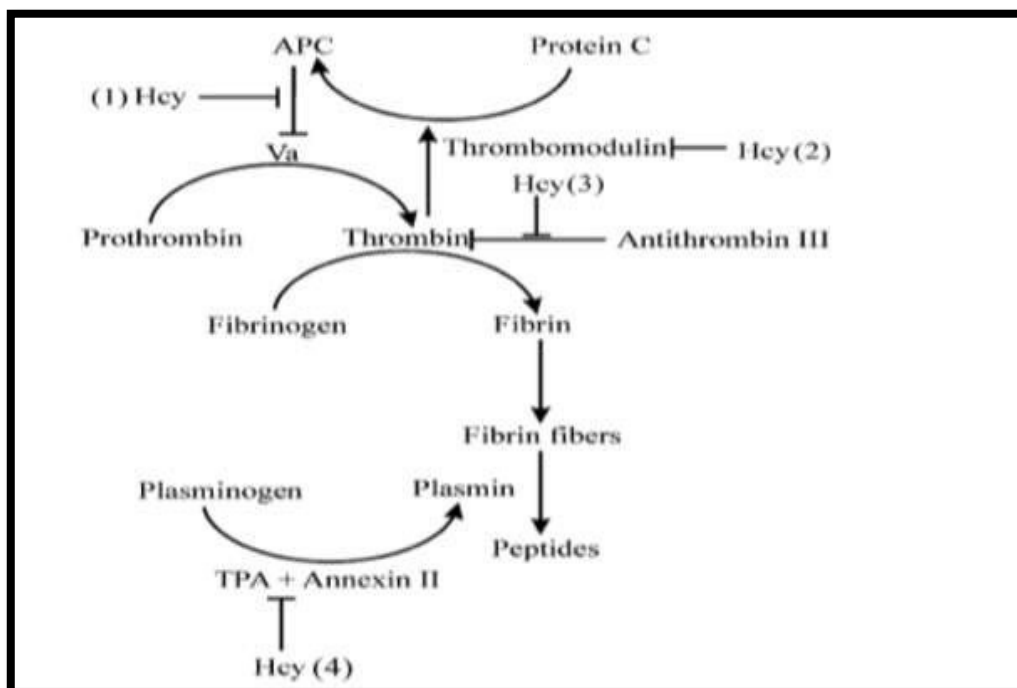


Figure 10 : Influence de l'homocystéine sur la coagulation du sang et la fibrinolyse (Perna *et al*, 2007).

*Patients et
méthodes*

Patients et méthodes

Nous avons bénéficié d'un stage de courte durée au sein du laboratoire de biochimie et le laboratoire de génétique et biologie moléculaire au CHU de Constantine. Au cours de ce stage nous avons assisté à l'extraction d'ADN et nous avons pu manipuler quelques étapes de la PCR-RFLP. Ensuite nous avons analysé les résultats obtenus au cours d'une thèse de doctorat.

Ci-dessous figure une description des critères respectés pour le recrutement des deux populations d'étude, du matériel et des méthodes utilisés au cours de cette thèse afin d'obtenir des résultats du génotypage du polymorphisme C677T de la MTHFR et les taux d'homocystéine.

1. Populations d'étude

Ils ont été recrutés au niveau du service de la cardiologie et la médecine interne au CHU de Constantine, le total de recrutement est de 72.

1.1. Patients

✓ Critères d'inclusion

Les patients inclus dans l'étude sont des sujets ayant un épisode de thrombose unique ou récidivante s'intégrant ou non à un contexte familial.

✓ Critères d'exclusion

Ont été exclus les thromboses post chirurgicales ou secondaires à un cancer et les malades qui se traitent par des médicaments qui interfèrent avec le métabolisme des folates, B6, B12

1.2. Témoins

La population témoin est au nombre de 105 sujets sains, elle se compose des employés de l'université, de l'hôpital et des bénévoles.

✓ Critères d'inclusion

Les sujets supposés sains appariés selon l'âge et le sexe.

✓ Critères d'exclusion

Ont été exclus les sujets ayant des antécédents personnels ou familiaux de la MTEV, les femmes enceintes ou sous contraception orale.

2. Prélèvements sanguins

Les prélèvements sanguins se font sur la veine du pli du coude par ponction veineuse franche. Ils ont été réalisés au niveau du service d'hospitalisation du patient ou en ambulatoire (au laboratoire de biochimie du CHUC).

Le prélèvement sanguin préconisé pour :

- L'extraction de l'ADN : est recueilli stérilement dans un tube contenant d'EDTA (éthylène-diamine-tétra-acétique) comme anticoagulant.
- Dosage de l'homocystéine totale : les échantillons sanguins ont été collectés chez le patient à jeun, sur un tube hépariné.

3. Dosage de l'homocystéine

3.1. Recueil et traitement de l'échantillon

Le prélèvement sanguin est effectué à jeun sur tube hépariné, placé immédiatement dans de la glace, à l'abri de la lumière, acheminé au laboratoire de biochimie du CHU de Constantine dans un délai maximum d'une heure de temps, centrifugé à raison de 4000 tours /min pendant 15 min. Le plasma sanguin est divisé en 2 aliquotes, l'un pour le dosage de l'homocystéine l'autre laissé en réserve. Les échantillons numérotés et codifiés, ont été conservés à l'abri de la lumière à -80° C.

3.2. Principe du test

C'est un immunodosage par compétition, sur l'automate IMMULITE 2000 qui réalise un cycle de prétraitement à bord des échantillons plasmatiques ou sériques par la solution de S-adenosyl-L-homocystéine hydrolase (SAH) et de dithiothreitol (DTT) dans un godet réactionnel ne contenant pas de bille (Annexe I). Après une incubation de 30 minutes l'échantillon prétraité est transférée dans un second tube contenant une bille de

polystyrène revêtu de SAH et un anticorps spécifique de SAH. Pendant une incubation de 30 minutes, le SAH modifié provenant de l'échantillon prétraité entre en compétition avec le SAH fixé pour se lier à l'anticorps anti-SAH marqué à la phosphatase alcaline. Le conjugué non lié est éliminé par lavage et séparation par ultracentrifugation, puis le substrat est ajouté.

3.3. Lecture et interprétation des résultats

Les résultats sont directement calculés par le système logiciel et sont exprimés en $\mu\text{mol/l}$. la limite de détection est de $50\mu\text{mol/l}$, au-delà de cette valeur, il faut opérer sur dilution. Normes ($5\text{-}15\mu\text{mol/l}$) selon le prospectus des laboratoires Abbott.

4. Analyse moléculaire

4.1. Extraction d'ADN à partir de sang total

5 ml à 10 ml (1ml de sang renferme 30 à 50 μg d'ADN) de sang périphérique ont été prélevés sur un anticoagulant EDTA. L'extraction d'ADN a été réalisée par la méthode utilisant des solvants non organiques (la méthode au NaCl). L'ADN de chaque sujet a été extrait à partir de leucocytes du sang périphérique.

Les principales étapes sont suivantes :

- **Lyse des leucocytes** : afin de lyser les cellules du sang dont les leucocytes, on utilise un tampon de lyse, la protéinase K et le détergent SDS (Sodium Dodécyle Sulfate).
- **Extraction de l'ADN** : l'ADN des leucocytes est extrait et les protéines qui étaient associées à l'ADN sont digérées et précipitées par utilisation du NaCl.
- **Solubilisation** : après la formation d'une pelote d'ADN dans le surnageant avec la précipitation par éthanol, on la solubilise en utilisant l'eau distillée stérile. (Annexe II)

4.2. Quantification et contrôle de la pureté de l'ADN

Le contrôle de la pureté d'ADN est réalisé par un spectrophotomètre, le maximum d'absorbance de l'ADN est à 260 nm, par contre celui des protéines se situe à 280 nm.

Quand on réalise un extrait cellulaire d'ADN, il est accompagné par des protéines dont la présence peut être indésirable. La valeur du rapport $260/A_{280}$ fournit une bonne indication

de la pureté de l'ADN. Il a été établi qu'un rapport mesuré par spectrophotomètre, d'une valeur comprise entre 1.8 et 2 indique que l'ADN extrait est pur alors que s'il est inférieur, on peut envisager une contamination par des protéines. Une valeur supérieure à 2 indique, en générale, une présence importante d'ARN.

La concentration des ADN extraits est estimée par la mesure de l'absorbance à 260nm. Sachant qu'une unité de DO à 260nm est équivalente à 50 µg /ml d'ADN, il est possible d'évaluer la quantité d'ADN d'un échantillon par la formule suivante :

$$[\text{ADN}] \text{ en ng}/\mu\text{l} = \text{A}_{260} \times 50 \times \text{facteur de dilution}$$

4.3. Méthode de génotypage du polymorphisme C677T de la MTHFR

Le génotypage du polymorphisme C677T de la MTHFR est déterminé par la méthode PCR/RFLP. Une région de 198 pb du gène de la MTHFR a été amplifiée par la méthode PCR en utilisant des amorces spécifiques (Tableau 1). L'amplification est suivie d'une digestion enzymatique par l'enzyme *Hinf I* (enzyme de restriction).

Tableau 1 : Séquences des amorces, longueur des produits de PCR et la taille des fragments de la digestion (pb).

Mutations	Séquences des amorces	Produits de PCR	Enzymes de restriction	Homozygote sauvage	Hétérozygote	Homozygote muté
MTHFR C677T	5' TGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGGA3' 5' AGGACGGTGCGGTGAGAGTG3'	198	<i>HinfI</i>	198	198,175	175

4.3.1. Préparation du milieu réactionnel de la PCR

Le milieu réactionnel de PCR comprend tous les constituants nécessaires à la réalisation d'une PCR. Une quantité de 49 µl de ce mélange est mélangée avec 1µl d'ADN dans chaque microtube. Un blanc (mix sans ADN) est préparé afin de prévenir la présence d'une éventuelle contamination.

Les constituants de ce mélange (mix) sont : 0.032 pmole/µl de chaque amorce, 0.2 mM des dNTP, 0.04U de la Taq polymérase, 2.5 mM MgCl₂ et 1X du tampon.

Le déroulement des cycles de la PCR a été assuré par le thermocycleur en respectant les conditions d'amplification suivantes :

- Une dénaturation initiale pendant 5 minutes à 94°C, suivi de 35 cycles avec :
 - ✓ Une dénaturation à 94°C pendant 30 secondes.
 - ✓ Une température d'hybridation à 65°C pendant 30 secondes.
 - ✓ L'élongation à 72°C pendant 40 secondes.
- Une élongation finale de 10 minutes à 72°C.

4.3.2. Contrôle des produits de PCR :

Le contrôle de la PCR s'effectue par une électrophorèse sur un gel d'agarose 2% (2g d'agarose +100ml de TBE 1X) mélangé à 10 µl de BET. Ce dernier est un agent intercalant qui se fixe entre les bases de l'ADN à l'intérieur de la double hélice et qui rendra les ADN fluorescents par exposition aux UV. Le gel est déposé sur une plaque d'une cuve horizontale.

Dans chaque puits du gel, on dépose une quantité de 10 µl d'amplificat mélangée avec 3 µl du bleu de bromophénol (BBP) qui est un colorant permettant de suivre le front de migration. Le dépôt se fait du côté de la cathode (-) et le système est soumis à une migration sous un courant de 60 à 120 volts pendant 30 mn.

Après la migration, le gel est soumis aux rayons UV. Les molécules de bromure d'éthidium (BET) fixées aux ADN émettent une lumière visible et photographiable ; permettent ainsi de visualiser les fragments amplifiés sous forme des bandes fluorescentes de la même

4.3.3. Digestion par l'enzyme de restriction *Hinf I* du fragment amplifié

Les produits de la PCR sont soumis à une digestion enzymatique par l'enzyme de restriction *HinfI*. Pour cela un mix est préparé en mélangeant 0.25U/µl de l'enzyme de restriction et 30 µl du produit de PCR dans un volume finale de 50µl. Le mélange est incubé pendant une nuit dans une étuve à 37°C.

Pour l'électrophorèse ; un gel d'agarose à 3 % est préparé, les fragments d'ADN obtenus sont comme suit :

- 198 paires de bases (pb) dans le cas d'absence d'une mutation. Le fragment d'ADN amplifié n'est pas digéré par l'enzyme et apparaît sur le profil électrophorétique sous forme d'une seule bande correspondante au type homozygote sauvage (CC),
- 175 pb dans le cas d'une présence de la mutation sur les deux allèles. Le fragment d'ADN est digéré par l'enzyme et apparaît sur le profil électrophorétique sous forme d'une seule bande correspondante au type homozygote muté (TT). Une bande de 23 pb qui ne sera pas visible sur le profil électrophorétique à cause de son faible poids moléculaire,
- Deux bandes superposées d'une taille de 175 pb et 198 pb ; dans le cas d'une présence de la mutation sur un seul allèle ce qui correspond au type hétérozygote (CT) (Figure 11).

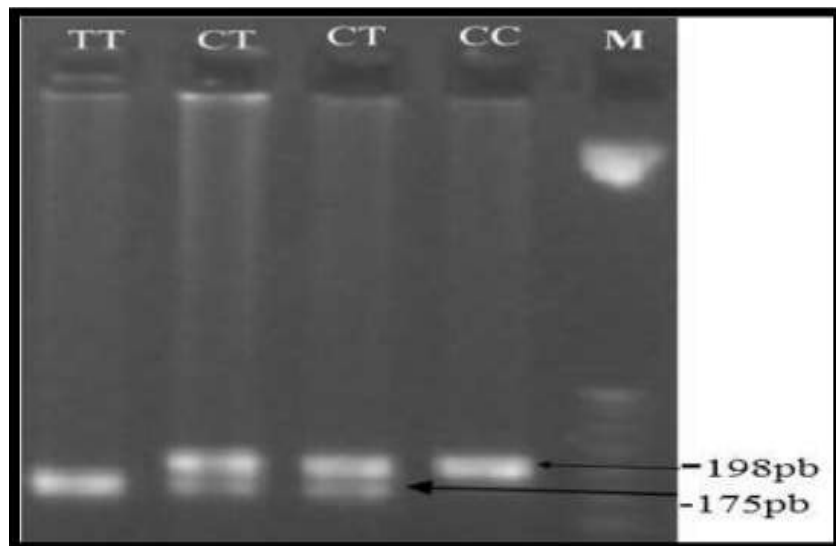


Figure 11 : Profil de digestion du polymorphisme C677T de la MTHFR (Moussaoui, 2016).

5. Analyse statistique

Les données ont été exprimées en pourcentages et fréquences pour les variables qualitatives et en moyenne \pm écart type pour les variables quantitatives.

L'analyse statistique a été effectuée par l'excel pour le calcul des fréquences, la moyenne et l'écart type. La comparaison des variables est réalisée par le logiciel le R 3.1.2 (www.r-project.org).

La comparaison des proportions, a été évaluée au moyen du test du Chi-carré, et la comparaison des variables continues est effectuée par le test de Student.

La régression logistique univariée a été utilisée pour calculer les odds ratio avec intervalles de confiance de 95%.

Le seuil critique à priori est de 0.05. Si la valeur de p calculée à posteriori est inférieure à ce seuil, la différence entre les paramètres est déclarée statistiquement significative.

Résultats

Résultats

1. Etude descriptive des cas et des témoins

Le travail de la thèse dont on a tiré ces données portait sur un effectif considérable. Les résultats qu'on a traités ne concernent qu'un groupe de 104 témoins et 72 patients.

1.1. Moyenne d'âge

Tableau 2 : Age moyen des deux populations d'étude

	Patients (n=72)	Témoins (n=104)
Moyenne \pm Ecart type	38.71 \pm 15.61	36.66 \pm 13.42

La moyenne d'âge est 38.71 \pm 15.61 ans chez la population malade avec des extrêmes de 12 à 74ans et elle est de 36.66 \pm 13.42 ans chez la population témoin avec des extrêmes de 17 à 62 ans (Tableau 2).

1.2. Répartition selon le sexe

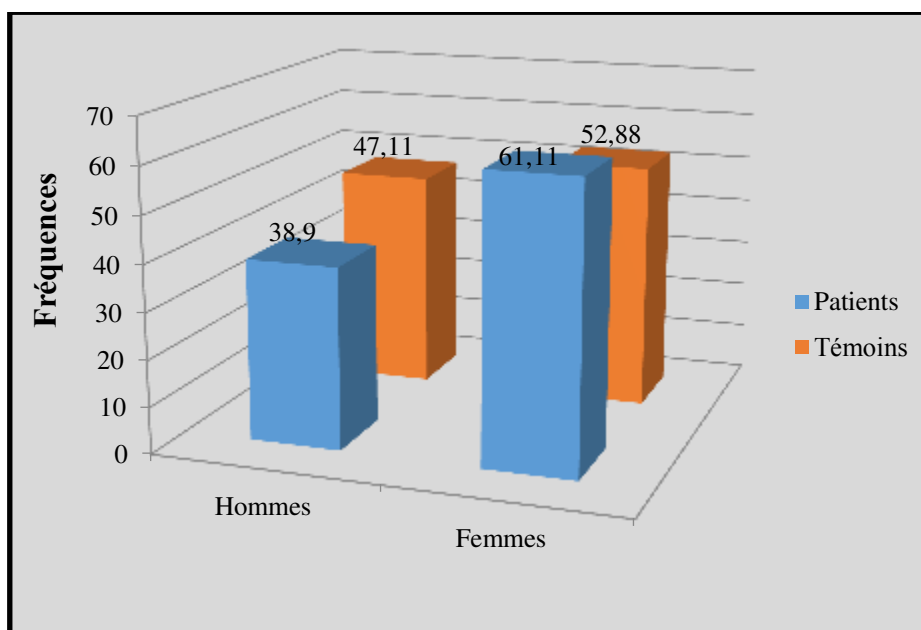


Figure 12 : Représentation graphique de la répartition de la population générale selon le sexe.

La fréquence du sexe féminin est supérieure à celle du sexe masculin chez les deux populations d'étude (Figure 12).

1.3. Répartition par tranches d'âge selon le sexe

Tableau 3 : Répartition des deux populations par tranches d'âge et selon le sexe.

Tranches d'âge	Patients		Témoins	
	Hommes N (%)	Femmes N (%)	Hommes N (%)	Femmes N (%)
< 20	3 (10.71)	2 (4.55)	2 (4.08)	0
20-29	7 (25)	10 (22.73)	15 (30.63)	20 (36.37)
30-39	8 (28.58)	15 (34.09)	16 (32.65)	17 (30.90)
40-49	2 (7.14)	8 (18.18)	10 (20.40)	10 (18.19)
50-59	3 (10.71)	6 (13.64)	4 (8.16)	7 (12.72)
≥ 60	5 (17.85)	3 (6.81)	2 (4.08)	1 (1.82)
Totale	28 (100)	44 (100)	49 (100)	55 (100)

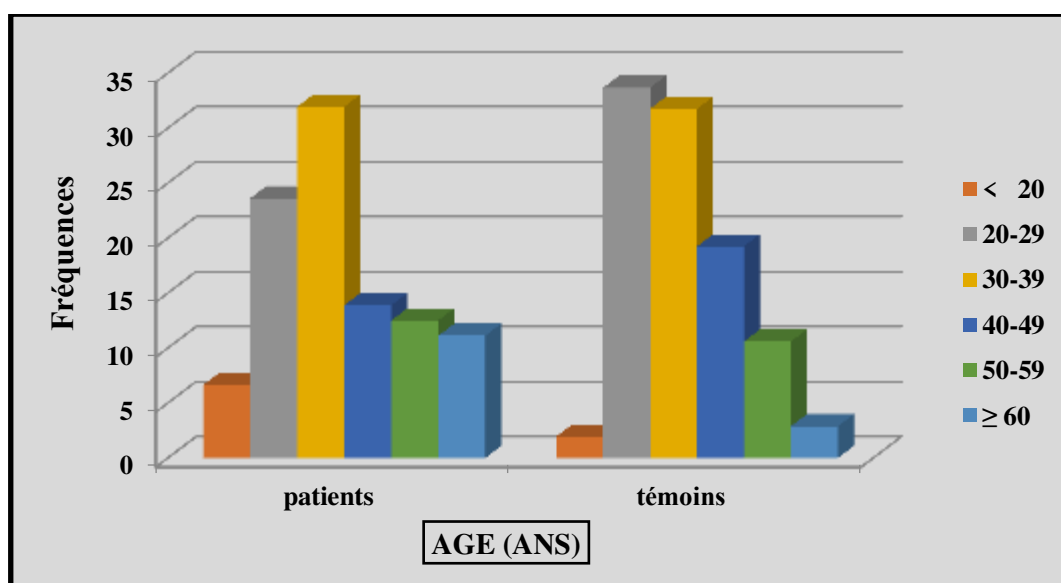


Figure 13 : Représentation graphique de la répartition des deux populations par tranches d'âge.

La répartition des patients et des témoins selon l'âge montre une fréquence plus élevée de la tranche d'âge (20-29) et (30-39). Cela montre que les deux populations d'étude font partie de la catégorie des jeunes (Figure 13).

Le tableau 3 montre une fréquence élevée du sexe féminin par rapport au sexe masculin dans presque toutes les tranches d'âge, en particulier au niveau de la classe (30-39) sauf que dans les deux classes inférieure à 20 ans et supérieur à 60 ans ; on observe une fréquence élevée pour le sexe masculin.

1.4. Caractéristiques relatives à la MTEV

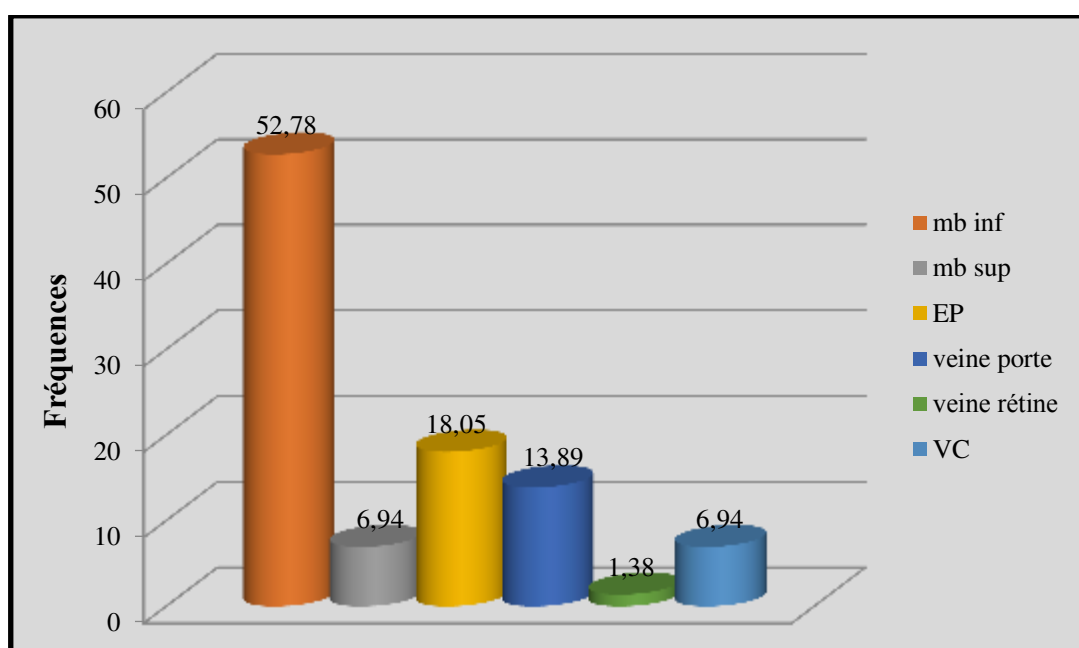


Figure 14 : Représentation graphique de la répartition des différentes localisations de la thrombose veineuse.

Cette représentation graphique montre que la thrombose veineuse est située principalement au niveau des membres inférieurs (mb inf) avec une fréquence de 52.78%. Les autres localisations sont celles des membres supérieurs (mb sup) (6.94%) ; l'embolie pulmonaire (EP) (18.05%) ; des thromboses de la veine porte (13.89%) ; des thromboses de la veine rétine (1.38%) et la veine cérébrale (VC) (8.94%) (Figure 14).

1.5. Facteurs de risque de la MTEV chez les deux populations

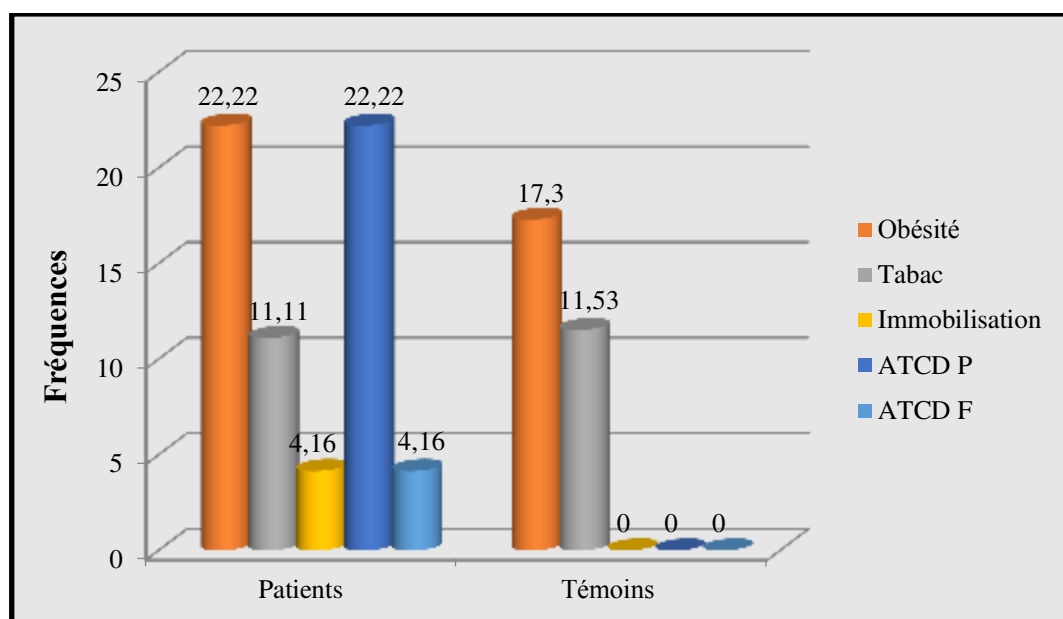


Figure 15 : Représentation graphique des facteurs de risque acquis chez les deux populations.

La figure 15 montre que l'obésité et le tabac occupent les fréquences les plus élevées chez les deux populations d'étude. La population malade est marquée par la présence de certaines caractéristiques qui sont considérés comme des facteurs de risque pour le développement de la maladie à savoir : les antécédents personnels (ATCD P) avec une fréquence élevée (22.22%) suivi par les antécédents familiaux (ATCD F) et l'immobilisation.

1.6. Facteurs de risque chez les femmes de la population malade

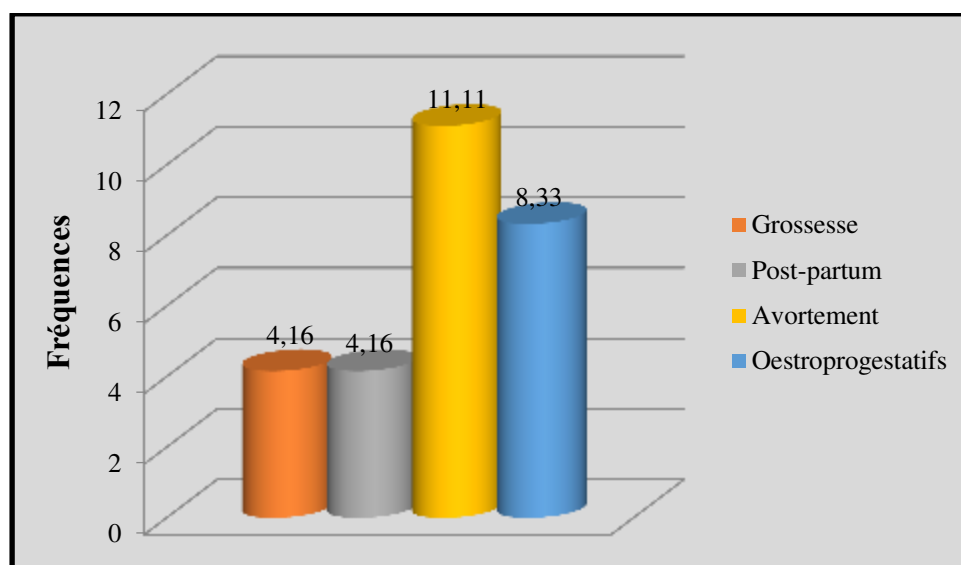


Figure 16: Représentation graphique des facteurs gynécologiques.

La représentation graphique de la figure 16 montre une distribution des facteurs gynécologiques chez la population malade. L'avortement occupe la fréquence la plus élevée (11.11%) suivi par l'utilisation des oestroprogestatifs (8.33%). Le post-partum et la grossesse ont les fréquences les plus faibles (4.16%) (Figure 16).

2. Etude des caractéristiques biologiques des cas et témoins

1.2. Fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme C677T de la MTHFR

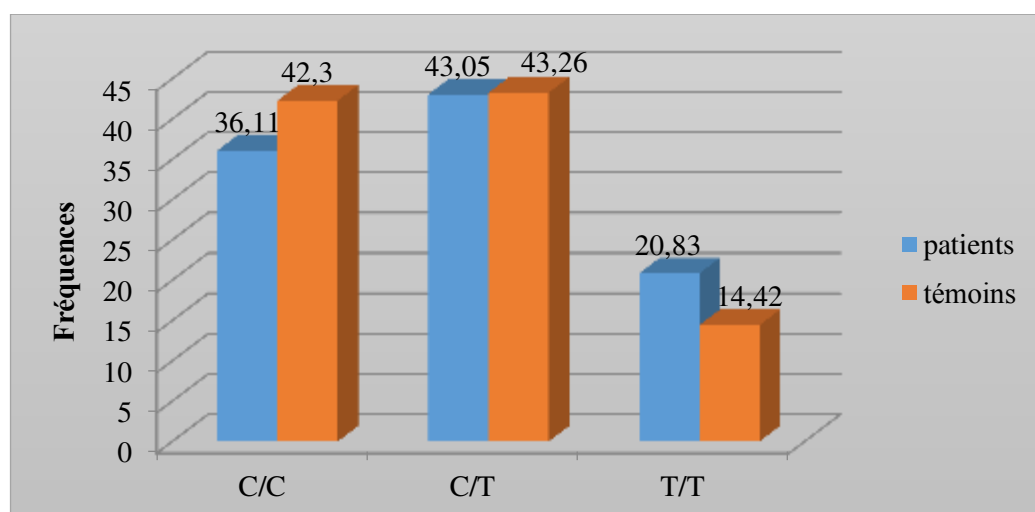


Figure 17 : Représentation graphique des fréquences génotypiques du polymorphisme C677T de la MTHFR chez des témoins et des patients.

Les fréquences du génotypique hétérozygote (C/T) de la population malade sont proches que de celles de la population témoin alors que les autres fréquences génoytypiques sont un peu différents (Figure 17).

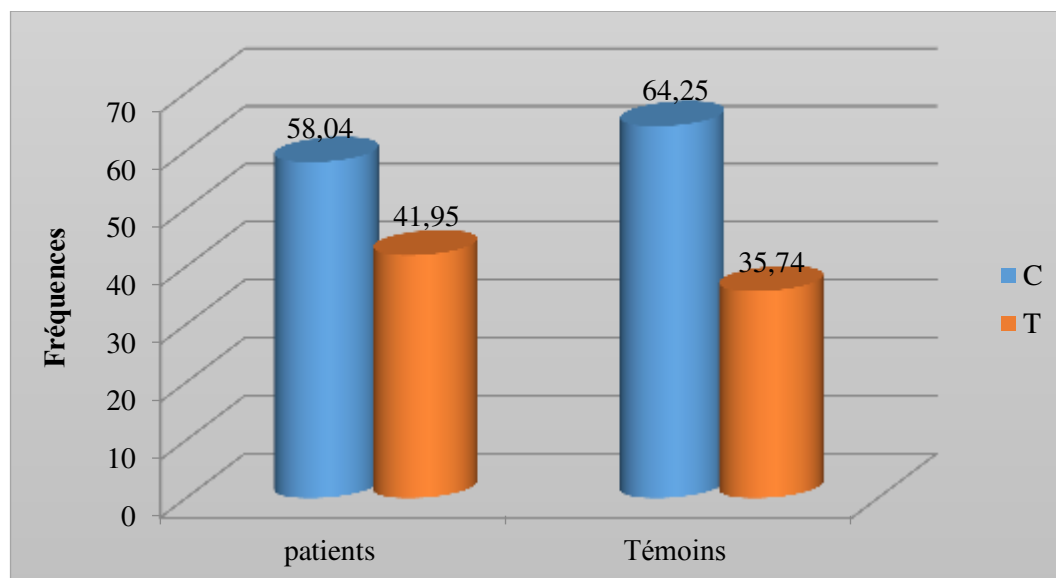


Figure 18 : Représentation graphique des fréquences alléliques du polymorphisme C677T de la MTHFR chez des témoins et des patients.

La fréquence de l'allèle C est plus élevée chez les deux populations par rapport la fréquence de l'allèle T (Figure 18).

2.2. Taux moyens d'homocystéine

Tableau 4: Taux moyens de l'homocystéine.

Hcy ($\mu\text{mol/l}$)	Patients (N=72)	Témoins (104)	P-value
Moyenne \pm Ecart type	17.21 \pm 10.53	15.2 \pm 7.89	NS

La moyenne du taux d'homocystéine dans la population témoin est normale alors que dans la population malade une légère élévation du taux d'homocystéine a été observée avec une moyenne de 17.21 (Tableau 4).

3. Etude d'association

Tableau 5 : Association des deux facteurs biologiques à la MTEV.

	Odds Ratio	IC (95%)	P value
<u>MTHFR C677T</u>			
CC			
CT	1.4	(0.8 - 2.4)	NS
TT	1.7	(0.8 - 3.4)	NS
<u>Homocystéine</u>			
Normal			
HHC	1.7	(0.6 - 4.9)	NS

Le tableau ci-dessus montre qu'il n'existe pas une association significative entre les génotypes CT ou TT de la MTHFR et la MTEV avec un odds ratio de 1.4 (0.8-2.4) et 1.7 (0.8-3.4) respectivement. Comme également montré que l'hyperhomocystéinémie ne sont pas associés au risque de la maladie avec un OR de 1.7 (0.6-4.9) (Tableau 5).

4. Etude d'influence des différents génotypes de la MTHFR C677T sur les taux moyens d'homocystéine

Tableau 6: Taux moyens d'homocystéine plasmatique par génotypes de la MTHFR C677T.

Génotype de la MTHFR C677T	Moyenne d'Hcy ± écart-type (µmol/l)		P- value
	Témoins (104)	Patients (72)	
CC	13.75 ± 4.85	14.27 ± 8.59	NS
CT	15.31 ± 8.19	16.85 ± 9.31	NS
TT	19.05 ± 12.32	23.02 ± 13.85	NS
P-value	NS	0.034	

Le tableau ci-dessus rapporte les taux moyens d'homocystéine plasmatique par différents génotypes de la MTHFR C677T. Chez les patients, les taux moyens d'homocystéine sont significativement plus élevés chez les homozygotes mutés TT comparativement à ceux normaux CC (P=0.034).

Chez les témoins, il n'existe pas de différence significative des taux plasmatiques moyen d'Hcy entre les trois génotypes de la MTHFR C677T. La comparaison des taux moyens d'homocystéinémie entre cas et témoins ne montre aucune différence significative chez les deux groupes et ce pour les trois génotypes (Tableau 6).

Discussion

Discussion

Dans ce travail, nous avons analysé une partie des résultats d'une thèse de doctorat, nous nous sommes intéressées au polymorphisme C677T de la MTHFR chez 107 témoins et 72 patients présentant la thromboembolie veineuse (MTEV) accompagné par les taux moyens de l'homocystéine. Nous avons aussi étudié et comparé les données suivantes : l'âge, le sexe, différentes localisations de la MTEV et les différents facteurs de risques de la MTEV.

1. Liaison de la MTEV avec l'âge

L'analyse des résultats montre que la catégorie la plus touchée par cette maladie est jeune (31.94%). Cela montre que le risque de la MTEV n'a pas augmenté avec l'âge. Ce résultat est comparable à celui de Traoré ayant trouvé une fréquence de 32% (Traoré, 2006).

De nombreuses études ont détaillé la relation entre l'âge et la survenue de la MTEV, en effet certaines de ces études qui s'accordent avec nos résultats ont prouvé que l'âge n'apparaît plus comme un facteur de risque indépendant (De Moerloose et Boneu, 1999).

Néanmoins d'autres études ont approuvé que le risque de la maladie thromboembolique augmente significativement avec l'âge. L'étude d'Oger et al. estime une fréquence de la TVP asymptomatique à 3.3 % ; entre l'âge de 55 ans et 69 ans, et une fréquence de 4.1 % entre 70 et 80 ans et 17,8 % après 80 ans (Oger *et al*, 2002).

De même en 2010 Blondon et al. ont montré que l'incidence de la MTEV augmente avec l'âge et qu'après 40 ans le risque double tous les dix ans. Plusieurs mécanismes sont proposées notamment la limitation de la mobilité physique, la stase sanguine accrue, la comorbidité et l'augmentation de facteur VIII et du fibrinogène (Blondon *et al* , 2010)

2. Liaison de la MTEV avec le sexe

L'analyse des résultats montre une fréquence élevée du sexe féminin par rapport au sexe masculin dans presque toutes les tranches d'âge. Les résultats concernant la relation entre le sexe et le risque de récurrence de la MTEV sont très hétérogènes et contradictoires.

Une étude similaire a prouvé que l'incidence de la MTEV est plus fréquente chez les femmes en âge de procréer, et qu'elles sont les plus touchées par rapport aux hommes au sein de la même tranche d'âge. Cette différence, est due principalement à l'utilisation d'une contraception orale qui augmente deux à six fois le risque de thrombose. En revanche, ce

risque chez les femmes âgées est substantiellement inférieur à celui des hommes dans le même groupe d'âge (Nordström *et al*, 1992 ; Silverstein *et al*, 1998; Oger, 2000).

Toutefois l'étude de Kyrle *et al* a prouvé que le risque relatif de récurrence associé au sexe masculin est de 3.6 avec une incidence à 5 ans de 30.7% chez les hommes versus 8.5% chez les femmes, les auteurs de cette étude ont également constaté que le risque de récurrence est faible chez les femmes, et ce qu'elles poursuivent ou non un traitement hormonal (Kyrle *et al*, 2004)

3. Localisation de la thrombose veineuse

Le site principal de la thrombose veineuse dans notre étude se situe au niveau des membres inférieurs suivi par l'embolie pulmonaire, sans négliger les autres sites notamment : les membres supérieurs ; la veine cérébrale et la veine porte.

Une étude marocaine qui s'accorde avec nos résultats a montré que la localisation au niveau des membres inférieurs était la plus fréquente ; sauf concernant le cas d'une atteinte de la veine rétine. Les résultats de cette étude étaient comme suit : membres inférieurs (80.1%) ; l'embolie pulmonaire (4.4 %) ; membres supérieurs (4.4%) ; veine cérébrale (2.94 %) et la veine porte observée chez 16 patients (11.7 %) (Rouf, 2015). Une autre étude tunisienne avait constaté des localisations du thrombus veineux similaires à nos résultats ; seulement cette étude n'a pas marqué des cas d'une atteinte de la veine rétine et l'embolie pulmonaire (Salah *et al*, 2013).

4. Facteurs de risque

4.1. Obésité

L'analyse des résultats a montré que la fréquence de l'obésité est également répartie entre les malades et les témoins. Ce qui indique qu'elle ne représente pas un facteur de risque de la maladie. Une étude contradictoire de salah *et al*. a prouvé que l'obésité est une situation à risque de la MTEV, et qu'elle est responsable d'une diminution de la mobilité. Ce facteur était retrouvé à une fréquence de 18.2% principalement chez les femmes (femmes 24.5% versus hommes 13.4%) (Salah *et al*, 2013).

4.2. Tabac

Le tabagisme ne peut pas être considéré comme un facteur de risque à cause de sa fréquence qui est également répartie entre les cas et les témoins. Nos résultats s'accordent avec les résultats d'une étude épidémiologique qui n'a pas trouvé d'association entre le

tabagisme et la MTEV (Tsai *et al*, 2002).

En revanche, d'autres études prospectives ont constaté que le tabagisme augmente le risque de la MTEV par (11.8%) conjointement avec l'immobilisation prolongée , l'âge supérieur à 60 ans, le diabète sucré et l'obésité (Mongo-ngamami, 2016).

De même l'étude de Mammeri et al. en 2015 a prouvé que les facteurs de risque cardiovasculaires sont significativement associés à la maladie thromboembolique veineuse idiopathique. Les auteurs de cette étude ont montré que les patients présentant une thrombose veineuse idiopathique sont évalués sur la présence des facteurs de risque telles que : le statut tabagique, l'hypertension artérielle, l'obésité, le diabète, la dyslipidémie et les antécédents familiaux (Mammeri *et al*, 2015).

4.3.Immobilisation

L'analyse des résultats a montré une fréquence d'immobilisation chez les patients estimée à 4.16%, ce faible taux peut être dû au traitement anticoagulant administré directement au cours de l'hospitalisation.

L'étude de Jeandel a prouvé que la fréquence des thromboses veineuses dépasse 50 % après 5 ou 6 jours d'alitement sans traitement antithrombotique quelle que soit la nature chirurgicale ou médicale de la pathologie à l'origine du décès (Jeandel, 2006).

Plusieurs études ont conclu que l'immobilisation était associée au risque de la MTEV: Isma *et al*, (2009), ont trouvé que pour 17% des patients atteints de TVP et 18% atteints d'EP, le facteur de risque était l'immobilisation. Selon Ouldzein *et al*, (2008), l'alitement représente 35% des patients atteints d'EP. Une autre étude de Healy. B *et al*, (2010), a montré que l'immobilité due à une position assise prolongée au travail, était associée à un risque de la MTEV 2.8 fois plus élevé. Pour 36.3% des femmes, la MTEV était associée à l'immobilisation, selon une étude menée par Fletcher *et al*, (2009).

4.4. Antécédents thromboemboliques veineux

Les antécédents thromboemboliques veineux, personnels et familiaux présentent une fréquence de 26.38% au sein de la population malade. Une étude a prouvé que les antécédents personnels et familiaux de la MTEV augmentent le risque de récurrence avec une incidence d'évènements cliniques estimés entre 0 et 20 %. Cette incidence très variable pourrait être influencée par au moins deux facteurs intriqués : l'existence d'anomalies biologiques thrombophiliques et le caractère temporaire (ou non) de la présence d'un

facteur de risque lors d'un premier événement thromboembolique (Benhamou *et al*, 2005). Pour Hansson *et al*. le taux de récurrence est estimé à 7% après un an, 21.1% après 5 ans lors d'un suivi après le premier épisode, alors que les récurrences à 5ans sont de 27.9% après un deuxième épisode (Hansson *et al*, 2000).

Dans notre population d'étude on a détecté des pathologies associées à la MTEV : le diabète présent chez 5 cas ; hypertension artérielle (HTA) chez 3 cas ; et un seul cas pour chacune de l'artériopathie oblitérante des membres inférieurs (AOMI). Une étude similaire a détecté également des cas associées à d'autres pathologies tels que ; le diabète et l'HTA (5.4%) (Rouf, 2015).

5. Facteurs de risque cliniques chez les femmes

Pour la contraception orale, une étude française a rapporté que l'utilisation d'œstrogènes seuls ou le plus souvent associés à un progestatif, est fréquente tout au long de la vie des femmes, mais elle expose à une augmentation du risque de la maladie veineuse thromboembolique (MVTE) (Pierre-Yves *et al*, 2015).

Dans notre étude la contraception orale a été détectée chez 8.33% des cas, ceci est compatible à d'autres études qui montrent que le risque absolu de survenue de thrombose veineuse chez une femme prenant un œstroprogestatif reste faible, estimé de 1 à 2 pour 10 000 femmes traitées par an (Rosing *et al*, 1997 ; Silverstein *et al*, 1998).

Une autre étude montre également que le risque thrombotique est dix fois plus élevé pendant le post-partum que pendant la grossesse (Ray *et Chan*, 1999). Alors que dans notre étude ; la grossesse et le post-partum représentent un risque similaire de la MTVE (4.16%) sauf que l'avortement représente le risque le plus élevé.

6. Etude du polymorphisme C677T du gène de la MTHFR

6.1. Fréquence du polymorphisme C677T de la MTHFR

La fréquence hétérozygote et homozygote pour la mutation MTHFR C677T est observée chez 43.26% et 14.42% des témoins respectivement ; ces fréquences étaient similaires à celles d'une étude algérienne (Bourouba *et al*, 2008). En outre, le taux du génotype TT était plus élevé que ceux observés au Maroc (6 %) (Paluku *et al*, 2009) et la Tunisie environ (5.4%) (Jerbi *et Harzallah*, 2005). Nos résultats sont étroitement comparables avec ceux des communautés de l'Europe du Sud comme l'Espagne, la France, et l'Italie (Sacchi *et al*, 1997) et aussi ceux des Caucasiens (12%) et les Asiatique (10%)

(Arruda *et al*, 1998).

6.2. Association du polymorphisme C677T de la MTHFR à la MTEV

Dans notre travail, un odds ratio a été calculé, afin de montrer une corrélation possible entre le génotype hétérozygote CT de la MTHFR et la maladie thromboembolique veineuse. On a trouvé (OR = 1.4; IC [0.8-2.4] avec P : non significatif) ce qui montre que ce polymorphisme n'est pas un facteur de risque pour le développement de la maladie.

Une étude similaire a montré qu'il n'existe pas une association entre la forme hétérozygote de la MTHFR et la MTEV, (OR = 1.04, et P > 0.05) (Mechri, 2008), un résultat similaire a été prouvé par Houcher en 2010 (Houcher, 2010).

Nous n'avons pas trouvé d'association significative entre le génotype MTHFR 677TT et la thrombose veineuse. Nos résultats sont semblables à ceux obtenus par Bezemer et al ayant trouvé un OR égale à 0.94 avec un P significatif (Bezemer *et al*, 2007). Cependant, il existe des rapports montrant une association positive entre le génotype MTHFR 677TT et la thrombose veineuse (Arruda *et al*, 1997 ; Margaglione *et al*, 1998).

6.3. Association de l'hyperhomocystéinémie à la MTEV

Au cours de notre travail, un odds ratio a été calculé afin de déterminer un lien possible entre l'hyperhomocystéinémie et la MTEV (OR = 1.7; 95% CI (0.6 – 4.9)). Ce résultat ne maintient pas de corrélation significative entre l'hyperhomocystéinémie et le risque thromboembolique veineux. D'autres facteurs peuvent intervenir pour favoriser la survenue d'une telle pathologie.

L'étude de Ducros et al, a prouvé que l'hyperhomocystéinémie n'est pas un facteur de risque de cette maladie (Ducros *et al*, 2002), de même l'étude de Den Heijer M et al. en 2005, montre une modeste corrélation entre l'homocystéine et la thrombose veineuse (Den Heijer *et al*, 2005). Néanmoins des études contradictoires prouvent que l'hyperhomocystéinémie est considérée comme étant un facteur de risque à la maladie thromboembolique veineuse avec un odds ratio de 3,54 IC 95 % [1,2-9,1] (Qurré *et al*, 1998).

Dans la présente étude, chez le groupe des malades, la comparaison des taux moyens d'Hcy par génotype MTHFR montrent que les taux plasmatiques d'Hcy sont significativement élevés chez les génotypes homozygotes TT comparativement à ceux

hétérozygotes CT et normaux CC. La mutation homozygote TT constitue ainsi un déterminant des HHC.

Toutefois, chez les témoins, ces élévations n'avaient pas atteint un seuil statistiquement significatif. Ceci signifie que la mutation C677T de la MTHFR à elle seule n'explique pas les HHC observés chez les témoins. Ces résultats sont contradictoires avec ceux rapportés par d'autres auteurs (Ünlü *et al*, 2005 ; Pereira *et al*, 2004), cependant ceci est en accord avec plusieurs études (Gaustadnes *et al*, 1999 ; Lin *et al*, 2000 ; Cattaneo *et al*, 1997) ayant trouvé que la mutation TT homozygote de la MTHFR investiguée n'était pas associée à la thrombose veineuse profonde, mais elle exprimait des niveaux plasmatiques d'Hcy plus élevés en comparaison aux génotypes CC ou CT.

Ces résultats suggèrent donc l'existence d'un troisième facteur dans l'interaction avec la MTHFR qui serait nécessaire pour déterminer une augmentation des taux d'homocystéine plasmatique. L'étude de Cattaneo en 1999 montre que la concentration en homocystéine dépend des interactions génétiques et environnementales entre les défauts enzymatiques, l'âge, le sexe, l'apport en vitamines (vitamine B12, vitamine B6 et acide folique), le tabagisme (Cattaneo, 1999).

De même que Jacques *et al* suggèrent que les folates, sont un bon candidat pour expliquer l'augmentation des taux plasmatiques en homocystéine (Jacques *et al*, 1996). Aussi D'Angelo et Harrington montrent que Le génotype MTHFR 677TT n'augmente les taux d'homocystéine que lorsqu'il est associé à de faibles taux de la vitamine B. Une consommation suffisante d'acide folique (vitamine B9), de la vitamine B6 ou de la vitamine B12 normalise l'homocystéine sérique dans les transporteurs MTHFR 677TT (D'Angelo *et al*, 2003 ; Harrington *et al*, 2000).

Conclusion

Conclusion et perspectives

La maladie thromboembolique veineuse est une maladie multifactorielle ; il serait intéressant de connaître les facteurs de risque de cette maladie. Au cours de notre étude nous avons analysé une partie des résultats obtenus lors d'une thèse de doctorat ; au sein de laquelle ; la fréquence des facteurs de risque acquis a été déterminée. Cette étude s'intéresse également à trouver un lien possible entre deux facteurs biologiques à savoir : le polymorphisme C677T de la MTHFR et l'hyperhomocystéinémie et le risque de développer la maladie thromboembolique veineuse.

Les résultats nous ont permis tout d'abord de confirmer que le risque de la MTEV n'a pas augmenté avec l'âge ; aussi les femmes étaient exposées à un risque accru de la MTEV comparés aux hommes. La population malade était marquée par des caractéristiques cliniques qui sont considérées comme facteurs de risque acquis de la maladie notamment : les antécédents personnels et familiaux de la MTEV, la grossesse, le post-partum, les avortements, la contraception orale et l'immobilisation.

Au cours de l'analyse des résultats nous n'avons pas trouvé d'association significative entre le génotype homozygote T/T et le génotype hétérozygote C/T du polymorphisme C677T du gène de la MTHFR, et le risque de maladie thromboembolique veineuse. De même ; l'hyperhomocystéinémie n'est pas considérée comme un facteur de risque indépendant de la maladie. Il a été prouvé également que le génotype TT ne sont pas responsables de l'augmentation des valeurs d'homocystéine chez les témoins par contre chez les malades le génotype TT peut être un déterminant d'hyperhomocystéinémie.

Sur la base des résultats obtenus, nos perspectives à l'avenir sont :

- D'investiguer d'autres hypothèses sur le lien possible entre la MTEV d'autres facteurs de risques à savoir ; les polymorphismes G1691A du facteur V Leiden et G20210A du gène de la prothrombine.
- D'approfondir l'exploration du métabolisme de l'homocystéine en vue de la recherche des déterminants nutritionnels responsables des HHC à savoir le dosage des vitamines B9 et B12 B6.

*Références
bibliographiques*

Abdollahi M, Cushman M, Rosendaal FR. Obesity: risk of venous thrombosis and interaction with coagulation factor levels and oral contraceptive use. *Thromb Haemost.* 2003 ; 89(3): 493-8.

Abecassis L, Padin S, Soni T, Bihan F. Le Bihan. Homocystéine et bilan de thrombose. *Analyses prospectives* .2004 ; 17 : 83-88.

Aiach M, Emmerich J, Scarbin P, Farge-Bancel D, Bounameaux H, Fiessinger J, Bergman J. La maladie thromboembolique. *Ann. Med. Interne* 2000; 151, 2: 153-57.

Arceci R, Hann I, Smith O, Chalmers E A, Williams M , Thomas A, Bauman M, Massicotte. *Pediatric hematology* Third edition 2006; p.624-642; et p.672-690.

Arruda V, Siqueira L, Gonçalves M, von Zuben P, Soares M, Menezes R. Prevalence of the mutation C677→ T in the methylenetetrahydrofolate reductase gene among distinct ethnic groups in Brazil. *Am J Med Genet* 1998;78:332–5.

Arruda VR, von Zuben PM, Chiaparini LC, Annichino-Bizzacchi JM, Costa FF. The mutation Ala677! Val in the methylene tetrahydrofolate reductase gene: a risk factor for arterial disease and venous thrombosis. *Thromb Haemost* 1997; 77: 818-821.

Aubard Y, Darodes N, Cantaloube M, Aubard V, Diallo D, Teissier M . Hyperhomocystéinémie et grossesse : une association dangereuse. *J Gynecol Obstet Biol Reprod.* 2018; 29: 363-372.

Benhamou D, Mignon A, Aya G, Brichant J, Bonnin M, Chauleur C. Prophylaxis of thromboembolic complications in obstetrics and gynaecology. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation.* 2005; 24: 911–920.

Berrut G, Ghali A, Quere I, Ternisien C, Gallois I, Roy P, Marre M, Fressinaud P. La mutation C677T du gène de la 5,10–méthyltétrahydrofolate réductase est associée aux thromboses veineuses idiopathiques. *médecine interne.* 2003 ; 24 : 569–576.

Berruyer M, Hanss M, Ffrench P, Dechavanne M, Anomalies constitutionnelles de l'hémostase ; Revue Française des Laboratoires, 2002 ; N° 339.

Berthélémy, Stéphane. Le bilan d'hémostase et de coagulation. Actualités Pharmaceutiques. 2015 ; 542 : 59-61.

Bertina R, Koeleman B, Koster T, Rosendaal F, Dirven R, de Ronde H, van der Velden P, Reitsma P. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. 1994; 369, 64.

Bertina R. Genetic approach to thrombophilia. Thromb Haemost. 2013; 86 (1): 92.

Bezemer I, Doggen C, Vos H. No association between the common MTHFR 677C->T polymorphism and venous thrombosis: results from the MEGA study. 2007; 167(5): 479-501.

Bezemer ID, Van Der Meer F, Eikenboom JC. The value of family history as a risk indicator for venous thrombosis. 2009 ; 169(6): 610-5.

Bina S. Epidemiologie de la maladie thromboembolique. Service de chirurgie traumatologique et orthopedique du chu gabriel toure. 2007. Thèse de doctorat.

Blondon M, Le Gal G, Righini M. Stratégie diagnostique et intérêt comparatif des scores cliniques pour le diagnostic d'embolie pulmonaire. Medecine Interne. 2010; 11: 742-749.

Botto L, Yang, Q. 5, 10-Methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies: a HuGE review. Am J Epidemiol.2000;151: 862-877.

Bourouba R, Houcher B, Djabi F, Egin Y, Akar N. The prevalence of methylenetetrahydrofolate reductase 677 CT, factor V 1691 GA, and prothrombin 20210 GA mutations in healthy populations in Setif, Algeria. Clin Appl Thromb. 2008; 15: 529–534.

Cattaneo M, Chantarangkul V, Taioli E, Santos JH, Tagliabue L. The G20210A mutation of the prothrombin gene in patients with previous first episodes of deep-vein thrombosis: prevalence and association with factor V G1691A, methylenetetrahydrofolate reductase C677T and plasma prothrombin levels. Thromb Res. 1999; 93: 1–8.

Cattaneo M, Tsai M, Bucciarelli P, Taioli E, Zighetti M, Bignell M, Mannucci PM. A common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene (C677T) increases the risk for deep-vein thrombosis in patients with mutant factor V (factor V: Q506). *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997; 17: 1662– 1666.

Cattaneo M. Hyperhomocysteinemia and thrombosis. *Semin Thromb Hemost* 2006;32 :716-723.

Chalal N, Demmouche A. Maladie thromboembolique veineuse dans la région de Sidi Bel Abbès, Algérie: fréquence et facteurs de risqué. *Pan African Medical Journal.* 2013; 17: 1-7.

CHEN M. Influence des donneurs de méthyle et du métabolisme de l'homocystéine dans la physiopathologie des MICI : études de population et modèle expérimental chez le raton carencé. université henri poincaré - NANCY I. 2009. Thèse de doctorat.

Chraïti H, Abdelkafi M, Boudokhane M, Binous M, Ben Soussia R, Fodha M, Bannour I, Bouzouita W, Nacef K, Hlali K, Hamza H, Fodha M. Les thromboses veineuses mésentériques supérieures. *Sang Thrombose Vaisseaux* 2011 ; 23 : 373-6.

Coombes R. Venous thromboembolism caused 25 000 deaths a year, say MPs. *British Medical Journal.* 2005; 330: 559.

Coutelour DI, Hyperhomocysteinémie et Thromboses Veineuses Profondes, Thèse de doctorat, Université Henri Poincaré, Nancy I.2000.P20.

D'Angelo A, Coppola A, Madonna P. Etal. Therole of vitamin B12 in fasting hyperhomocysteinemia and its interaction with the homozygous C677T mutation of the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene: a case-control study of patients with early-onset thrombotic events. *Thromb Haemost.* 2000;83: 563-570.

De Bree A, Verschuren W, Bjorke-Monsen A. Effect of the methylenetetrahydrofolate reductase 677C T mutation on the relations among folate intake and plasma folate and homocysteine concentrations in a general population sample. *Am J Clin Nutr* 2003; 77: 687- 93.

De Lonlay P, Dubois S, Valayannopoulos V, Depondt E, Ottolenghi C, Rabier D. Prise en charge médicale et diététique des maladies héréditaires du métabolisme. Springer.2013 ; 487.

De Moerlose P, Boneu B. Traitement anticoagulant et éducation du patient : une nécessité. Sang Thromb Vaiss 1999;9:647–652.28.

Den Heijer M, Lewington S, Clarke R. Homocysteine, MTHFR and risk of venous thrombosis: a meta-analysis of published epidemiological studies. J Thromb Haemost 2005; 3(2): 292-9.

Dominice Dao M, Righini M. thrombose veineuse. Expérience du service de médecine premier recours d'hôpitaux Universitaires de Genève. 2013.

Doran FSA, Drury M, Sivyer A. A simple way to combat the venous stasis which occurs in the lower limbs during surgical operations. Br J Surg, 1964, 51 : 486-492.

Ducros V, Barro C, Yver J, et al. Homocystéine et maladie thromboembolique veineuse une étude cas-témoin. Annales de Biologie Clinique 2002 ; 60(3) : 356-369.

Durand P. Altération du métabolisme de l'homocystéine et maladies cardiovasculaire. RFL 1998 ; 307 : 33-44.

Ehrenforth S, Nemes L, Mannhalter C, Rosendaal FR, Koder S, Zoghalmi-Rintelen C. Impact of environmental and hereditary risk factors on the clinical manifestation of thrombophilia in homozygous carriers of factor V:G1691A. J Thromb Haemost 2004;2 (3):4306.

Elalamy I. Mécanismes et facteurs de risque des thromboses veineuses. Encyclopédie Méd Chi, Angéiologie,2002; 19-2095, 8p.

Eldibany MM, Caprini JA. Hyperhomocysteinemia and thrombosis: an overview. Arch Pathol Lab Med. 2007; 131: 872.

Enga KF, Braekkan SK, Hansen_Krone IJ, Le Cessie S, Rosendaal Fr et Hansen JB. Cigarette smoking and the risk of venous thromboembolism: The Tromsø Study. J Thromb Haemost. 2012 ;10(10): 2068-74.

Eric Bernard, Antoine Lafuma, Philippe Ravand. Épidémiologie de la maladie thromboembolique veineuse. La presse médicale 2005 ; 34 n°6 : 415-19.

Farge-Bancel D, Florea L, Bosquet L, Debourdeau P. Traitement de la maladie thromboembolique veineuse chez le cancéreux. Pathologie Biologie, in press, corrected proof, available online April 2008.

Feki M, Houman H, Ghannouchi M, Smiti-Khanfir M, Hamzaoui K, Matri LE, Mebazaa A, Kaabachi N. Hyperhomocysteinaemia is associated with uveitis but not with deep venous thrombosis in Behçet's disease. Clin Chem Lab Med. 2004; 42: 1417–1423.

Fletcher HM, Wharfe G, Williams NP, Pedican M, Brooks A, Scott P, Gordon-Strachan G. Venous thromboembolism in Jamaican women: experience in a university hospital in Kingston. West Indian Med J. 2009; 58(3) :243-249. PubMed| Google Scholar

Fowkes FJ, Price JF et Fowkes FG. Incidence of diagnosed deep vein thrombosis in the general population: systematic review. Eur J Vasc Endovasc Surg.2003; 25: 1-5.

Gaustadnes M, Rüdiger N, Møller J, Rasmussen K, Larsen TB, Ingerslev J. Thrombophilic predisposition in stroke and venous thromboembolism in Danish. Blood Coagul Fibrinolysis. 1999; 10: 251–260.

Gensini GF, Prisco D, Falciani M, Comeglio M, Colella A. Identification of candidates for prévention of venous thromboembolism. Semin Thromb Hemos 1997; 23:55-56.

Gensini GF, Prisco D, Falciani M, Comeglio M, Colella A. Identification of candidates for prévention of venous thromboembolism. Semin Thromb Hemos 1997; 23:55-56.

Glocker EO, Kotlarz D, Boztug K. Inflammatory bowel disease and mutations affecting the interleukin-10 receptor. N Engl J Med 2009; 361: 2033-45.

Goldhaber SZ, Kessler CM, Heit JA, Elliott CG, Friedenbergr WR, Heiselman DE. Recombinant tissue-type plasminogen activator versus anoveldosingregimentof urokinase in acute pulmonary embolism: a randomized controlled multicenter trial. J. Am. Coll. Cardiol.1992, 20: 24-30.

Goldhaber SZ. Clinical overview of venous thromboembolism. 1998; 3 : 35-40.

Goldhaber SZ. DVT prevention: What is happening in the real world? Seminar in thrombosis and hemostasis 2003; vol 29: p.23-32 Supl.

Goyette P, Pai A, Milos R, Frosst P, Tran P, Chen Z, Chan M, Rozen R. Gene structure of human and mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). Mammalian Genome 1998, 9: 652-6.

Grenet.2004. Anatomie cardiovasculaire. www.infirmiers.com.

Guilland J, Favier A, Potier de Courcy G, P Galan, Herberg S. L'hyperhomocystéinémie : facteur de risque cardiovasculaire ou simple marqueur. Pathologie Biologie. 2003 ; 51 : 111-121.

Hamidi RM, Physiopathologie de la maladie thromboembolique, Réanimation médicale CHU Béni-Messous. 2017.

Hansson PO, Sorbo J, Eriksson H. Recurrent venous thromboembolism after deep vein thrombosis: incidence and risk factors. Arch Intern Med. 2000; 160(6):769-774.

Harrington DJ, Malefora A, Schmeleva V. Genetic variations observed in arterial and venous thromboembolism—relevance for therapy, risk prevention and prognosis. Clin Chem Lab Med. 2003;41:496-500.

Haslett C, Chilvers ER. Médecine interne principes et pratiques. Davidson. Ed Maloine, 2002.

Healy B, Levin E, Perrin K, Weatherall M, Beasley R. Prolonged work- and computerrelated seated immobility and risk of venous thromboembolism. 2010; 103(11): 447–454.

Hirmerová J. Homocysteine and venous thromboembolism is there any link? Cor Vasa. 2013; 55: e248–e258.

Homberger A, Linnebank M, Winter C, Willenbring H, Marquardt T, Harms E, Koch HG. Genomic structure and transcript variants of the human methylenetetrahydrofolate reductase gene. European journal of human genetics. 2000; 8: 725-729.

Houcher Z. Association of Methylenetetrahydrofolate Reductase C677T and Cystathionine Synthase Polymorphisms in Cardiovascular Disease in the Algerian Population. GENE testing and molecular biomarkers. 2010; 6: 775-780.

Isma N, Svensson PJ, Gottsater A, Lindblad B. Prospective analysis of risk factors and distribution of venous thromboembolism in the population-based Malmo Thrombophilia Study (MATS). Thromb Res. 2009; 124(6): 663-666.

Jacq F. Quel bilan étiologique réaliser au décours d'embolies pulmonaires récidivantes? Rev Mal Respir 1999 ; 16: 1018-1025.

Jacques PF, Bostom AG, Williams RR. Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase, and plasma homocysteine concentrations. Circulation 1996;93:7-10

Jakubowski H. Pathophysiological consequences of homocysteine excess. J Nutr 2006, 136: 1741S-1749S.

Jeandel C. Épidémiologie et facteurs de risque de la maladie thrombo-embolique veineuse du sujet âgé. Sang Thrombose Vaisseaux. 2006 ; 18 : 22-6.

Jean-luc G, Maladie thrombo-embolique veineuse. juin. Association des Anciens élèves de l'Institut Pasteur (AAIP). 2014 ; 56 - N° 219.

Jerbi Z et Harzallah L. Étude du polymorphisme C677T du gène du méthylène tétrahydrofolate réductase dans la population tunisienne. Ann Biol Clin. 2005 ; 5 : 487-491.

Jude B, Sophie S, Christophe Z, Trillot N, Les thrombophilies constitutionnelles, Laboratoire d'Hématologie, Hôpital Cardiologique, CHRU, Lille. 2016.

Kamphuisen PW, Eikenboom JC, Rosendaal FR, Koster T, Blann AD, Vos HL. High factor VIII antigen levels increase the risk of venous thrombosis but are not associated with polymorphisms in the von Willebrand factor and factor VIII gene. *Br J Haematol* 2001 ; 115:156-158.

Kyrle PA et Eichinger S. Deep vein thrombosis, *Lancet*. 2005; 365 : 1163-1174.

Kyrle PA, Minar E, Bialonczyk C. The risk of recurrent venous thromboembolism in men and women. 2004; 350:2558—63.

Kyrle PA, Minar E, Bialonczyk C. The risk of recurrent venous thromboembolism in men and women. *N Engl J Med* 2004;350:2558—63.

Lazareth I, Priollet P. Thromboses veineuses superficielles. In : *Thromboses des veines des membres inférieurs*. Paris: Doin, 1994: 111-119.

Leclerc D, Rozen R. Génétique moléculaire de MTHFR, les polymorphismes ne sont pas tous bénins. *M/S*, 2007, 23, 3, 297-302.

Lensen R, Rosendaal F, Vandenbroucke J, Bertina R. Factor V Leiden: the venous thrombotic risk in thrombophilic families. *Br J Haematol* 2000; 110:939-945.

Levasseur R. Tissu osseux et hyperhomocystéinémie. *Revue du rhumatisme*. 2009;76(5) : 390-396.

Lin JS, Shen MC, Tsai W, Lin B. The prevalence of C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene and its association with venous thrombophilia in Taiwanese Chinese. *Thromb Res*. 2000; 97: 89–94.

Ma J, Stamfer MJ, Hennekens CH. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, plasma folate, homocysteine and risk of myocardial infarction in US physicians. *Circulation* 1996; 94: 240-6.

Madouni S et Madani K. La prise en charge de l'émophilie. Mémoire de l'internat. Faculté de Médecine Dr.B .Benzerdjeb-Tlemcen département de médecine. 2014.

Maggisano R, Harrison A. Le système veineux. 2004.

Mammeri A, Guermaz A, Taharboucht S, Kessal F , Hamrou F, Hatri A, Hocine O, Zekri S, Brouri M. Maladies vasculaires. 2015; 5: 316.

Margaglione M, D'Andrea G, D'Addeda M, Giuliani N, Cappucci G, Iannaccone L, et al. The methylenetetrahydrofolate reductase TT677 genotype is associated with venous thrombosis independently of the coexistence of the FV Leiden and the prothrombin A20210 mutation. Thromb Haemost 1998; 79: 907-911.

Martinelli I. Risk factors in venous thromboembolism. Thromb Haemost 2001 ; 86: 395-403.

Mckinley WO, Jackson AB, Cardenass DD, Devivo MJ. Long-term medical complications after traumatic spinal cord injury: a regional model systems analysis. Arch Phys Med Rehabil 1999; 80: 1402-1410.

Mechri A. Etude de la mutation C677T de la méthylène-tétrahydrofolate réductase (MTHFR) dans les accidents thromboemboliques veineux. Mémoire de magistère en génétique des pathologies humaines. Université Mentouri Constantine. 2008.

Mismetti P, Rivron-Guillot K, Moulin N. Place des filtres caves dans le traitement de la maladie thromboembolique veineuse chez les patients cancéreux. Pathologie Biologie, in press, corrected proof, available online May 2008.

Moeloose P. HEMOSTASE. Service d'Angiologie et Hémostase Hôpitaux Universitaires et Faculté de Médecine de Genève. 2006. 1-27.

Mongo-ngamami S, Ondze-kafata L I Ellenga-mbolla, B F. Évaluation du risque de maladie thromboembolique veineuse et de sa prévention chez des patients hospitalisés à Brazzaville. Maladies Vasculaires.2016: 1-6.

Morange PE, Emmerich J, Tregouet DA. Les facteurs de risque génétique de la thrombose veineuse : où en sommes nous ? Sang Thrombose Vaisseaux. 2010 ; 22 : 421-7.

Moussaoui S. Etude des facteurs de risque génétiques de la maladie thromboembolique veineuse chez une population de l'Est-Algérien. 2016. Thèse de doctorat Université Frères Mentouri Constantine.

Mudd S.H, Levy H.L, Scovby F., Disorders of transsulfuration. In: Scriver C.R., Beaudet A.L., Sly W.S., Valle D., (Eds.), The metabolic and molecular basis of inherited disease, 7th ed., MacGraw Hill, New York, 1995: 1279-1237.

Mudd SH, Finkelstein JD, Refsum H, Ueland PM, Malinow MR, Lentz SR, Jacobsen DW, Brattstrom L, Wilcken B, Wilcken DE, Blom HJ, Stabler SP, Allen RH, Selhub J, Rosenberg IH. Homocysteine and its disulfide derivatives: a suggested consensus terminology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000, 20: 1704-6.

Næss IA, Christiansen SC, Romundstad P, Cannegieter SC, Rosendaal FR, Hammerstrøm J. Incidence and mortality of venous thrombosis: a population-based study. *J Thromb Haemost* 2007; 5: 692–9.

Namour F, Olivier J, Abdelmouttaleb I, Adjalla C, Debard R, Salvat C, Gueant JL. Transcobalamin codon 259 polymorphism in HT-29 and Caco-2 cells and in Caucasians: relation to transcobalamin and homocysteine concentration in blood. *Blood* 2001, 97: 1092-8.

Nordström M, Lindblad B, Bergqvist D, Kjellström T. A prospective study of the incidence of deep-vein thrombosis within a defined urban population. *J Intern Med* 1992;232:155–60.

Oger E, Bressollette L, Nonent M. High prevalence of asymptomatic deep vein thrombosis on admission in a medical unit among elderly patients. *Thromb Haemost* 2002 ; 88 : 592-7.

Oger E. Incidence of venous thromboembolism: a community-based study in Western France. EPI-GETBP Study Group. Groupe d'Etude de la Thrombose de Bretagne Occidentale. *Thromb Haemost.* 2000; 83: 657-660.

Ouldzein H, Nourredine A, Cherradi R, Rahal N, Mechmeche R et Haouala H. Management of pulmonary embolism in a cardiology department. *Ann Cardiol Angeiol.* 2008; 57: 52–57.

Paluku They-They, Hamzi TK, Mazabraud A ; Nadifi S. Fréquence du polymorphisme 677C>T du gène du méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR) dans les populations arabe et berbère du Maroc. *Antropo* 20, 7. Pathologie vasculaire et troubles circulatoires. Collège Français des Pathologistes (CoPath). 2009.

Pecheniuk NM, Deguchi H, Elias DJ, Xu X, Griffin JH. Cholesteryl ester transfer protein genotypes associated with venous thrombosis and dyslipoproteinemia in males. *J Thromb Haemost.* 2006 Sep; 4: 2080-2.

Pelluard. Le coeur et les vaisseaux : Histologie des vaisseaux sanguins. 2016.

Pepe, G, Camacho Vanegas, O., Giusti, B., Brunelli, T., Marcucci, R., Attanasio, M., Rickards, O., De Stefano, G. F., Prisco, D., Gensini, G. F., and Abbate, R. Heterogeneity in world distribution of the thermolabile 677C>T mutation in 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase: *Am J Hum Genet.* 1998 ;63:917-20.

Pereira AC, Schettert IT, Morandini Filho AAF, Guerra-Shinohara EM, Krieger JE. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) c677t gene variant modulates the homocysteine folate correlation in a mild folate-deficient population. *Clin Chim Acta.* 2004; 340: 99–105.

Perna AF, Satta E, Acanfora F, Lombardi C, Ingrosso D, De Santo NG. Increased plasma protein homocysteinylation in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2007, 69: 869–876.

Philbrick, John T, Shumate, Rebecca, Siadaty, Mir S. Air travel and venous thromboembolism: a systematic review. *Journal of general internal medicine,* 2007 ; 22 : 1071-14.

Pierre-Yves Scarabin, Marianne Canonico, administration d'œstrogènes et risque de maladie veineuse thromboembolique chez les femmes : une revue des données actuelles. 2015. Inserm UMR 1018, Centre de recherche en épidémiologie et santé des populations, Villejuif, France

Piolot, A, Nadler F, Parez N. L'homocystéine: ses liens avec les maladies cardiovasculaires ischémiques. *Rev Med Interne* 1996 ; 17 : 34-45.

Qurré I, JF Chassé z, E Dupuy, E Bellet, P Molho-Sabatier, G Tobelem, C Janbon I. Homocystéine, 5,10-méthylène tétrahydrofolate réductase et thrombose veineuse profonde. Enquête au près de 120 patients en médecine interne, *Rev Mdd Interne* 1998 ; 19 : 29-33.

Rahal H, Radouani M A, Knouni H, Barkat A. Thrombose veineuse profonde par déficit en protéine C chez un nouveau-ne. Elsevier Masson SAS. 2015: 1-4.

Ray JG, Chan WS. Deep vein thrombosis during pregnancy and the puerperium: a meta-analysis of the period of risk and the leg of presentation. *Obstet Gynecol Surv* 1999;54: 265–271.

Regragui A. Pathologie circulatoire. [www. médrano.co.ma](http://www.médrano.co.ma).2005.

Ribuot C .2011. Différenciation fonctionnelle des vaisseaux. www.medatice-grenoble.fr .

Rosing J,Tans G,Nicolaes GA,Thomassen MC,vanOerleR, van der Ploeg PM. Oral contraceptives and venous thrombosis: different contraceptives. *Br J Haematol* 1997; 97:233–238.

ROUF S. La thrombose veineuse profonde: expérience du service de médecine interne chu d'oujda.2015.

Roux A, Sanchez O, Meyer G. Quel bilan de thrombophilie chez un patient atteint de maladie veineuse thromboembolique. Elsevier Masson SAS.2008 ; 17 : 355—362.

Ryan, Weir D. Relevance of folate metabolism in the pathogenesis of colorectal cancer.2001; 138, 164-176.

Sacchi E, Tagliabue L, Duca F. High frequency of the C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene in Northern Italy. *Thromb Haemost* 1997; 78: 963-4.

Saffroy R., Lemoine A., Debuire B.MTHFR (5,10- Methylenetetrahydrofolate reductase). *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol*. 2005.

Salah R B, Frikha F, Kaddour N, Saidi N S noussi M, Marzouk S, Jallouli M, Frigui M, Bahloul Z. Profil étiologiques des thromboses veineuses profondes en milieu de médecine interne : une étude rétrospective de 318 cas. *Annales de cardiologie et d'angiologie*. 2013: 1-6.

Selhub J. Homocysteine metabolism. *Annu Rev Nutr* 1999; 19: 217-46.

Semenza, J, Delfino R, Ziogas A, Anton-Culver H. Breast cancer risk and methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism. *Breast Cancer Res Treat.*2003;77, 217223.

Silverstein MD, Heit JA, Mohr DN, Petterson TM, O’Fallon WM, Melton LJ 3rd. Trends in the incidence of deep vein thrombosis and pulmonary embolism: a 25-year population-based study.1998; 158:585–593.

Stevenson, R, Schwartz, C, Du, Y. Z., and Adams, M. J., Jr. (1997). Differences in methylenetetrahydrofolate reductase genotype frequencies, between Whites and Blacks: *Am J Hum Genet.* 1997; 60 : 229-30.

Timp JF, Braekkan SK, Versteeg HH. Epidemiology of cancer- associated venous thrombosis. *Blood.* 2013, 122, 1712-23.

Traoré Mamadou Zie Epidémiologie de la maladie thromboembolique. BAMA KO, 2006 ; 34-06-71.

Trousseau A. Phlegmatia alba dolens: in clinique médicale de l’hôpital- Dieu de Paris. Baillièrè (Paris) 1865; 3: 654-712.

Tsai AW, Cushman M, Rosamond WD, Heckbert SR, Polak JF, Folsom AR. Cardiovascular risk factors and venous thromboembolism incidence: the longitudinal investigation of thromboembolism etiology. *Arch Intern Med.* 2002; 162: 1182-9.

Ueland PM. Homocysteine species as components of plasma redox thiol status. *Clin Chem* 1995, 41: 340 –342.

Valérie O. La maladie veineuse thromboembolique: étude des facteurs de risque de récurrence. Médecine humaine et pathologie. Université Paris Sud - Paris XI, 2011. Français.

Wilcken B, Bamforth F, Li Z. Geographical and ethnic variation of the 677 C > T allele of 5, 10 methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): findings from over 7000 newborns from 16 areas worldwide. 2003; 40 : 619-25.

Sites web:

http://campus.cerimes.fr/anatomie-pathologique/enseignement/anapath_4/site/html/2.html

(consulté le 21/04/2018)

<https://ghr.nlm.nih.gov/gene/MTHFR> (consulté le 29/03/2018).

Annexes

ANNEXE I

Tableau 1 : Les différents effets de l'HHC sur l'endothélium et l'hémostase (Hirmerová, 2013).

L'endothélium vasculaire	Dysfonctionnement endothéliale <ul style="list-style-type: none">- Altération de la vasodilatation endothéliale- Un phénotype pro-inflammatoire et prothrombotique de l'endothélium
Les plaquettes	Augmentation de la synthèse du thromboxane Augmentation de la réactivité plaquettaire
La fibrinolyse	Altération de la fibrinolyse <ul style="list-style-type: none">- Diminution de la liaison de l'activateur tissulaire du plasminogène (tPA)- Diminution de la génération du plasmine- Augmentation du niveau de TAFI
Les facteurs et les inhibiteurs naturels de la coagulation	Augmentation de la synthèse du facteur tissulaire Diminution de l'activité du facteur VII Diminution de l'inactivation du facteur Va Augmentation de l'activation du facteur V Diminution de l'activité de l'antithrombine Augmentation de la génération de thrombine Modification du fibrinogène Inhibition de l'activité de thrombomoduline Inhibition de l'activation de la protéine C

ANNEXE II

Technique d'extraction d'ADN

1. Préparation des leucocytes :

- Dans un tube Falcon de 50 ml, mettre le sang et compléter à 50 ml avec du TE 20:5, laisser 10 mn dans la glace.
- Centrifuger 10 mn à 3900 rpm
- Jeter le surnageant
- Ajouter quelques ml de TE 20:5 au culot et le remettre en suspension
- Compléter à 25 ml avec du TE 20:5 et laisser 10 mn dans la glace
- Centrifuger dans les mêmes conditions
- Jeter le surnageant : obtention d'un culot leucocytaire

2. Extraction de l'ADN :

- Transvaser le culot des leucocytes dans un tube falcon de 15 ml
- Ajouter 3 ml de tampon de lyse en dilacérant le culot
- Ajouter 200 µl de SDS à 10%
- Ajouter 100 µl de protéinase K à 10 mg/ml
- Agiter le tube sur une roue à 27 °C une nuit
- Le lendemain, refroidir dans la glace
- Ajouter 1 ml de NaCl 4 M et agiter vigoureusement à la main
- remettre 5 mn dans la glace (précipitation des protéines)
- Centrifuger 15 mn à 2500 rpm
- Transvaser le surnageant dans un tube falcon de 50ml, ajouter deux fois son volume d'éthanol absolu préalablement refroidi (environ 8 ml) et agiter en retournant le tube plusieurs fois : la pelote d'ADN se forme
- Récupérer la pelote d'ADN avec une pipette pasteur et la rincer deux fois dans l'éthanol à 70 %
- Mettre la pelote dans un tube nunc de 1.5ml.

3. Solubilisation :

- Ajouter entre 300 et 1000 µl d'eau distillée stérile selon la grosseur de la pelote.
- Laisser une nuit sur agitateur rotateur à 37°C, puis à température ambiante jusqu'à dissolution complète (1 à 2 jour).

Préparation des solutions utilisées pour l'extraction d'ADN

1. TE 20 :5 : (Tris 20 mM, EDTA 5 mM, pH 7.5)

- Tris : 2,422 g/l
- EDTA : 1,86 g/l
- Ajuster le pH avec Hcl 1 N

2. Tampon de lyse :

- NaCl 400 mM
- EDTA 2 mM
- Tris 10 mM
- pH 8,2

Préparation du TBE 10X et 1X

1. TBE 10X

- Tris 108 g
- Acide borique 55 g
- Ajuster le PH à 8,3 avec l'acide acétique glacial
- EDTA 9.3 g
- QSP H2O pour 1L

2. TBE 1X

- 100 ml de TBE 10X
- 900 ml H2O

Résumé

La maladie thromboembolique veineuse (MTEV) est une pathologie fréquente associée à une forte morbi-mortalité. En Algérie, ce type d'affection prend de plus en plus de l'ampleur, en l'absence de publications révélant sa fréquence et le poids thrombogène des facteurs de risque qui lui sont associés.

Objectif : Ce travail est une analyse d'une partie des résultats d'une thèse ; ayant pour objectifs de déterminer la fréquence du polymorphisme C677T et son influence sur l'augmentation des taux plasmatiques d'homocystéine ainsi que la corrélation de ces deux paramètres biologiques avec la maladie thromboembolique (MTEV) chez une population de l'Est-Algérien.

Matériels et méthodes : L'étude inclut 104 témoins et 72 patients thrombotiques. Le génotypage du polymorphisme C677T de la MTHFR est réalisé par la technique PCR/RFLP et les taux d'homocystéine plasmatique sont mesurés par un analyseur (IMMULITE 2000).

Résultats : L'âge moyen des patients est de 38.71 ± 15.61 ans et il est de 36.66 ± 13.42 ans chez les témoins, il existe une prédominance du sexe féminin (61.11% vs 38.9 %). 52,78% des TVP ont touché les membres inférieurs mais seulement 6.94% ont touché les membres supérieurs. Les autres localisations sont : l'embolie pulmonaire (18.05%) ; des thromboses de la veine porte (13.89%) ; des thromboses de la veine rétine (1.38%) et la veine cérébrale (VC) (8.94%).

Les facteurs de risque pouvant déclencher cette maladie et qui sont détectés au sein de notre population malade sont : l'obésité, le tabac, les antécédents personnels ou familiaux de la maladie, la contraception orale, le post-partum et l'immobilisation.

Il a été montré qu'il n'y avait pas d'association significative entre la mutation C677T de la MTHFR, hyperhomocystéinémie et le risque de thrombose veineuse. De même la mutation homozygote TT constitue un déterminant des HHC chez la population malade. Toutefois, chez les témoins, cette mutation n'explique pas à elle seule les HHC observés chez les témoins.

Conclusion : L'étude qu'on a menée nous confirme que la maladie thromboembolique peut être le résultat d'une combinaison de situations cliniques à risque. En revanche, d'autres études sont nécessaires afin d'investiguer les facteurs biologiques responsables de son déclenchement et qui peuvent expliquer l'augmentation des taux sériques de l'homocystéine.

Mots clés : homocystéine, polymorphisme C677T, thrombophilie, maladie thromboembolique veineuse.

المخلص

الجلطات الدموية الوريدية هو مرض شائع يرتبط بارتفاع معدلات المرض والوفيات. يحدث بشكل رئيسي في شكلين: خثار الأوردة العميقة والانسداد الرئوي. في الجزائر ، يكتسب هذا النوع من الحالات أهمية متزايدة ، في غياب المنشورات التي تكشف عن تواترها ووزنها الخثري لعوامل الخطر المرتبطة به.

هذا العمل هو تحليل لبعض نتائج الأطروحة. والهدف هو: تحديد وتيرة تعدد الأشكال C677T وتأثيرها على زيادة مستويات البلازما الهوموسيستين فضلا عن العلاقة بين هذين البارامترات البيولوجية مع مرض الانسداد التجلطي في عدد السكان من الشرق الجزائري.

وشملت الدراسة 104 شاهد و 72 مريضا خثاري. يتم تنفيذ التنميط الجيني لتعدد الأشكال FRMTH T7C67 بواسطة تقنية CRP /RFLP وتقاس مستويات الهوموسيستين البلازمية بواسطة محلل (IMMULITE 2000).

ويبلغ متوسط عمر المرضى 15.61 ± 38.71 سنة ويبلغ 13.42 ± 36.66 سنة في الشواهد ، فهناك غلبة على الإناث (61.11% مقابل 38.9%). أثرت 52.78% من TVP على الأطراف السفلية ولكن فقط 6.94% أثرت على الأطراف العلوية. التعريبات الأخرى هي: الصمة الرئوية (18.05%) ؛ تجلط في الوريد البابي (13.89%) ؛ تجلط في الوريد الشبكي (1.38%) والوريد الدماغي (8.94%) (%VC).

عوامل الخطر التي يمكن أن تؤدي إلى هذا المرض وتكتشف في مرضانا هي: السمنة ، التبغ ، التاريخ الشخصي أو العائلي للمرض ، منع الحمل عن طريق الفم ، ما بعد الولادة وعدم الحركة.

وقد تبين أنه لا يوجد ارتباط مهم بين طفرة C677T من MTHFR، فرط الهوموسيستين وخطر تخثر وريدي. وبالمثل ، فإن طفرة TT متماثلة الزيجات هي محدد لهرمون النمو في السكان المريضة. ومع ذلك ، في الشواهد ، هذه الطفرة وحدها لا تفسر HHC لوحظ في الضوابط.

تؤكد الدراسة التي أجريناها أن مرض الانسداد التجلطي يمكن أن يكون نتيجة لمزيج من الحالات السريرية الخطيرة. من ناحية أخرى ، هناك حاجة إلى مزيد من الدراسات للتحقيق في العوامل البيولوجية المسؤولة عن ظهوره ، والتي قد تفسر الزيادة في مستويات الهوموسيستين في الدم.

الكلمات الرئيسية: الهوموسيستين ، تعدد الأشكال C677T ، أهبة التخثر ، الوريدي الانصمام الخثاري.

Summary

Venous thromboembolism (VTE) is a common pathology associated with high morbidity and mortality. It occurs mainly in two forms: deep vein thrombosis (DVT) and pulmonary embolism (PE). In Algeria, this type of condition is gaining increasing importance, in the absence of publications revealing its frequency and the thrombogenic weight of the risk factors associated with it.

This work is an analysis of some of the results of a thesis; **OBJECTIVES:** To determine the frequency of C677T polymorphism and its influence on the increase of homocysteine plasma levels as well as the correlation of these two biological parameters with thromboembolic disease (VTE) in a population of East-Algerian.

The study included 104 controls and 72 thrombotic patients. Genotyping of the MTHFR C677T polymorphism is performed by the PCR / RFLP technique and plasma homocysteine levels are measured by an analyzer (IMMULITE 2000).

The average age of the patients is 38.71 ± 15.61 years and it is 36.66 ± 13.42 years in the controls, there is a predominance of the female sex (61.11% vs 38.9%). 52.78% of DVTs affected the lower limbs but only 6.94% affected the upper limbs. The other localizations are: pulmonary embolism (18.05%); thrombosis of the portal vein (13.89%); thrombosis of the retinal vein (1.38%) and the cerebral vein (VC) (8.94%).

The risk factors that can trigger this disease and are detected in our sick population are: obesity, tobacco, personal or family history of the disease, oral contraception, postpartum and immobilization.

It has been shown that there is no significant association between the C677T mutation of MTHFR, hyperhomocysteinemia and the risk of venous thrombosis. Similarly, the homozygous TT mutation is a determinant of HGH in the diseased population. However, in controls, this mutation alone does not explain the HGH observed in controls.

The study we conducted confirms that thromboembolic disease can be the result of a combination of risky clinical situations. On the other hand, further studies are needed to investigate the biological factors responsible for its onset, which may explain the increase in serum homocysteine levels.

Key words: homocysteine, C677T polymorphism, thrombophilia, venous thromboembolism.

Année universitaire : 2017/2018

Présentée par : Yahiaoui Roumaïssa
Oumertem Messouda

Etude de l'association du polymorphisme C677T de la MTHFR et l'hyperhomocystéinémie à la maladie thromboembolique veineuse chez une population de l'Est-Algérien (analyse des résultats d'une thèse).

Mémoire de fin de cycle en vue de l'obtention du diplôme de Master en Biochimie de la Nutrition.

La maladie thromboembolique veineuse (MTEV) est une pathologie fréquente associée à une forte morbi-mortalité. En Algérie, ce type d'affection prend de plus en plus de l'ampleur, en l'absence de publications révélant sa fréquence et le poids thrombogène des facteurs de risque qui lui sont associés.

Ce travail est une analyse d'une partie des résultats d'une thèse ; ayant pour objectifs de déterminer la fréquence du polymorphisme C677T et son influence sur l'augmentation des taux plasmatiques d'homocystéine ainsi que la corrélation de ces deux paramètres biologiques avec la maladie thromboembolique (MTEV) chez une population de l'Est-Algérien.

L'étude inclut 104 témoins et 72 patients thrombotiques. Le génotypage du polymorphisme C677T de la MTHFR est réalisé par la technique PCR/RFLP et les taux d'homocystéine plasmatique sont mesurés par un analyseur (IMMULITE 2000).

L'âge moyen des patients est de 38.71 ± 15.61 ans et il est de 36.66 ± 13.42 ans chez les témoins, il existe une prédominance du sexe féminin (61.11% vs 38.9 %). 52,78% des TVP ont touché les membres inférieurs mais seulement 6,94% ont touché les membres supérieurs. Les autres localisations sont : l'embolie pulmonaire (18.05%) ; des thromboses de la veine porte (13.89%) ; des thromboses de la veine rétine (1.38%) et la veine cérébrale (VC) (8.94%).

Les facteurs de risque pouvant déclencher cette maladie et qui sont détectés au sein de notre population malade sont : l'obésité, le tabac, les antécédents personnels ou familiaux de la maladie, la contraception orale, le post-partum et l'immobilisation.

Il a été montré qu'il n'y avait pas d'association significative entre la mutation C677T de la MTHFR, hyperhomocystéinémie et le risque de thrombose veineuse. De même la mutation homozygote TT constitue un déterminant des HHC chez la population malade. Toutefois, chez les témoins, cette mutation n'explique pas à elle seule les HHC observés chez les témoins.

L'étude qu'on a menée nous confirme que la maladie thromboembolique peut être le résultat d'une combinaison de situations cliniques à risque. En revanche, d'autres études sont nécessaires afin d'investiguer les facteurs biologiques responsables de son déclenchement et qui peuvent expliquer l'augmentation des taux sériques de l'homocystéine.

Mots clés: homocystéine, polymorphisme C677T, thrombophilie, maladie thromboembolique veineuse.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de biologie et génétique moléculaire

Membres du jury :

Président du jury :	OUNIS. L	Maitre de conférence classe «b » UFM Constantine.
Encadrant :	MOUSSAOUI.S	Maitre de conférences classe - UFM Constantine.
Examinatrice :	DAHMANI.I	Maitre assistante classe « b » UFM Constantine.

Date de soutenance : 28/06/2018