

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

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



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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم بيولوجيا الحيوان

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Génétique*

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Étude génétique des leucémies aiguës myéloïdes (LAM)
prospection par méta-analyse de l'effet des polymorphismes
C677T et A1298 du gène *MTHFR***

Présenté et soutenu par : DIB Chaima

Le 23/09/2021

DJEGHIM Nejela

Jury d'évaluation :

Président : CHELLAT Djalila (PROF - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Encadreur : REZGOUN Mohamed Larbi (MC-A - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur : GHARZOULI Razika (MC-A - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire
2020 - 2021

Remerciements

Nous remercions Dieu avant tout pour la volonté, la santé et la force qu'il nous a données tout au long de nos nombreuses années d'études pour commencer et terminer ce message.

Tout d'abord, ce travail ne serait pas riche et n'aurait pas été possible sans l'aide et la supervision de Monsieur **REZGOUN Mohamed Larbi**. Nous ne cesserons de le remercier pour sa direction exceptionnelle, pour la confiance qu'il nous a accordée pour mener à bien ce travail, pour sa simplicité, son efficacité, et surtout sa rigueur scientifique et sa disponibilité lors de la préparation de cette thèse. Nous avons bénéficié au cours de nos études, de votre enseignement clair et précis, votre gentillesse, vos qualités humaines, votre Modestie n'ont rien d'égale que votre compétence. Nous lui disons : « Vous êtes un excellent modèle pour nous, notamment dans le domaine scientifique ».

Nous adressons également nos sincères remerciements aux membres du jury qui ont accepté d'évaluer ce modeste travail, à savoir **Pr CHELLAT Djalila**, présidente et **Dr GHARZOULI Razika**, examinatrice, de notre jury de soutenance.

Nous adressons nos vifs remerciements à tous nos professeurs pour leur générosité et leur grande patience.

Nous tenons à remercier tout le personnel professionnel et administratif de la faculté SNV de l'UFM Constantine 1 pour les efforts déployés pour assurer le service et le développement des étudiants de l'enseignement supérieur.

Enfin, nous voudrions saisir cette occasion pour adresser nos sincères remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Aujourd'hui, après toutes ces années, je suis honorée mais surtout heureuse de dédier ce travail à toutes les personnes qui m'aiment et qui m'ont aidé de près ou de loin à réaliser ce souvenir.

- *A mes chers parents qui n'ont jamais arrêté, priez pour moi, soutenez-moi et aidez-moi pour que je puisse atteindre mes objectifs.*

Sans eux, je n'aurais certainement pas étudié longtemps.

Mes Paroles me manquent à cause de tout ce que vous avez fait pour moi, je demande au Très Miséricordieux de vous accorder toute une longue vie pour enfin goûter le fruit de l'arbre que vous avez entretenu.

- *C'est un moment pour moi de dédier ce travail également à mes chers frères, Abdallah et Mouad pour me soutenir et m'encourager. Que Dieu vous accorde santé, bonheur, courage et surtout réussite.*

- *À ma famille et en particulier ma cousine Aya*

- *Je souhaite personnellement remercier ma binôme et amie **Nedjla** avec laquelle j'ai pris beaucoup de plaisir à travailler.*

- *A mes chères amies **Nour, Chaima, Ryma, Oumayma, khawla et Sofia** ... pour leurs aides et leurs soutiens dans les moments difficiles.*

- *Ce travail est donc l'aboutissement du soutien et des engagements qu'ils m'ont prodigués tout au long de ma scolarité.*

Chaimaa

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour à :

- *Mes chers parents qui m'ont soutenu le long de mon parcours, pour leur confiance, leur aide morale, leur amour, leurs encouragements, leurs sacrifices ainsi que leurs précieux conseils.*
- *A mon frère Mehdi que j'aime profondément et à qui je souhaite une réussite et plein de succès dans sa vie*
- *Mes deux grand-mères, mes tantes et oncles, mes cousins et cousines sans exception.*
- *À mes collègues de promotions dont l'entraide intellectuelle nous a permis d'affronter les difficultés durant notre cursus étudiant et de tisser de très bonnes relations amicales, en particulier mon binôme Chaima qui m'a accompagnée avec patience durant la période du travail.*
- *Mes adorables amies avec qui j'ai partagé les meilleurs moments : Dounia, Ghada, Sérine, Ryma et Nada.*
- *Mes enseignants et mes enseignantes de génétique moléculaire et en particulier monsieur Mohamed Larbi REZGOUN et madame CHELLAT Djalila.*
- *Toutes personnes que je n'ai pas citées et qui m'ont aidé de près ou de loin, je les en remercie.*

Nedjla

Abréviations

- AGM** : Aorte -Gonade-Mésonéphros
- ARF** : ADP ribosyl binding factor
- ATRA** : ALL-Trans -Retinoic Acid
- AHAI** : Anémie Hémolytique Auto-Immune .
- BCR** : Breakpoint cluster Region
- BFU-MK** : Burst Forming- cluster Unit Megakaryocytic
- BFU-E** : Burst Forming -Unit
- BMC** : Biologie Moléculaire et Cellulaire
- BOM** : Biopsie Ostéo-Médullaire.
- CBF** : Core Binding Factor
- CFU** : Colony Forming Unit
- CFU-E** : Colony Forming Unit Erythrocytic
- CFU-GM** : Colony Forming Unit -Granulocyte Monocytic
- CFU-MK** : Colony Forming Unit -Megakaryocytic
- CMA** : Comprehensive Meta Analysis
- CMP(s)** : Common Myeloid Progenitor
- CSH** : Cellule Souche Hématopoïétique
- DNMT** : DNα Méthyl-Transférase
- EPO** : Erythropoietin
- EV2** : Environmental Viral integration 2
- FAB** : French-American-British
- FCH** : Facteur de Croissance Hématopoïétique
- FLT3-IID** : Internal Tandem Duplex
- FLT3-TKD** : Tyrosine Kinase Domaine
- GEMM** : Granulocytic, Erythrocytic, Macrophage and Megakaryocytic
- GR** : Globules Rouges
- HWE** : Hardy-Weinberg Equilibrium
- IC** : Intervalle de Confiance
- ICAM** : Inter-Cellular Adhesion Molecule
- IGE** : Immuno-Globuline E
- JAK2** : Janus Kinase 2
- LAL** : Leucémies Aiguës Lymphoblastiques ou Lymphoïdes

LAM : Leucémies Aiguës Myéloblastiques ou Myéloïdes
LLC : Leucémie Lymphoïde Chronique
LMC : Leucémie Myéloïde Chronique
MEC : Matrice Extra-Cellulaire
MEDLINE : Medical Literature Analysis And Retrieval System Online
MGG : May Grünwald Giemsa
MNI : MeNingioma
MPO : Myélo-Per-Oxydase
MTHF : Méthyl-Tetra-Hydro-Folate
MTHFR : Méthylène-Tétra-Hydro-Folate Réductase
NCBI : National Center of Biotechnologies Information
NDP(H) : Nicotinamide Adénine Dinucléotide phosphate (H)
NPM-1 : Nucléophosmine
OR : Odds Ratio
ORL : Oto- Rhino-Larynx
PECAM : Platelet Endothelial cell Adhesion Molecule -1
PML : Pro-Myelocytic Leukemia
PNB : Poly-Nucléaires Basophiles
PNE : Poly-Nucléaires Éosinophiles
PNN : Poly-Nucléaires neutrophiles
PTAI : Purpura Thrombopénique Auto-immun.
RC : Rémission complète
SMD : Syndromes myélo Dysplasiques .
SMP : Syndrome Myélo-Prolifératif
SNP : Single Nucleotide Polymorphism
SLP : Syndrome Lympho-Prolifératif
TLR : Toll Like receptor
TPO : Thomboprotéine
US SEERS : Surveillance, Epidemiology and End Results Program
VCAM : Vascular Cell Adhesion Molecule

Table des matières

Introduction

Page 01

Partie bibliographique

Chapitre I : Sang, moelle et hématopoïèse

1- Sang	03
1-1- Plasma	03
1-2- Éléments figurés	03
1-2-1- Hématies	04
1-2-2- Polynucléaires	04
1-2-3- Monocytes	05
1-2-4- Lymphocytes	06
1-2-5- Plaquettes	06
2- Moelle osseuse	07
3- Hématopoïèse	07
3-1- Définition	07
3-2- Régulation de l'hématopoïèse	09
3-3-1- Micro-environnement médullaire	10
3-3-2- Les facteurs de croissance	10
3-3- Physiopathologie de l'hématopoïèse	11

Chapitre II : Leucémies aiguës myéloïdes

1- Définition	13
2- Épidémiologie	13
3- Étiologie	15
3-1- Les LAM secondaires	15
3-1-1- Les LAM induites par les agents alkylants	16
3-1-2- Les LAM liées à l'utilisation d'inhibiteurs de topoisomérase II	16
3-2- Les LAM <i>de novo</i>	16
3-2-1- Les facteurs constitutionnels (génétiques)	16
3-2-2- Les facteurs acquis	17
3-2-3- Les facteurs environnementaux	18
4- Classification	18
4-1- Classification FAB (Franco-Américano Britannique)	19
4-2- Classification OMS (Organisation Mondiale de la Santé)	20
5- Aspects cliniques	21
6- Aspects biologiques	22
7- Le Pronostic	24
8- Traitements	24

Chapitre III : Génétique des LAM

1- Mécanismes moléculaires de la leucémogénèse	25
2- Altérations géniques rencontrées dans les LAM	26
2-1- Les mutations de type 1	27
2-1-1- <i>N-RAS</i> et <i>K-RAS</i>	27
2-1-2- <i>FLT3</i>	28
2-1-3- <i>C-KIT</i>	28
2-1-4- <i>CBL</i>	29
2-1-5- <i>PTPN11</i>	29
2-1-6- <i>JAK2</i>	29
2-2- Les mutations de type 2	30
2-2-1- Translocation concernant <i>CBF</i>	30
2-2-2- <i>PML/RARα</i>	31
2-2-3- <i>MLL</i>	31
2-3- Les mutations non classées	31
2-3-1- <i>DNMT</i>	32
2-3-2- <i>TET2</i>	32
2-3-3- <i>IDH1/IDH2</i>	32
2-3-4- <i>NPM1</i>	33
2-3-5- <i>ASXL1</i>	34
2-3-6- <i>WT1</i>	34
2-3-7- <i>BAALC</i>	34
2-3-8- <i>ERG</i> , <i>EVII</i> et <i>MNI</i>	35
2-3-9- <i>P53</i>	35
2-4- Épigenétique des LAM	35
3- Cytogénétique des LAM	36
4- Biologie moléculaire des LAM	39
5- <i>MTHFR</i> et LAM	39
5-1- Gène <i>MTHFR</i> et métabolisme des folates	39
5-2- Polymorphismes génétiques du gène <i>MTHFR</i> et conséquences pathologiques	41
5-3- Polymorphismes de la <i>MTHFR</i> et LAM	42

Partie pratique

Patients et méthodes

1- Principe	43
2- Polymorphisme d'intérêt	44
3- Réalisation de la méta-analyse	45
3-1- Stratégies de recherche	45
3-2- Sélection des études	45
3-3- Extraction des données	46
3-4- Tests statistiques.....	46

Résultats

Résultats et discussion	50
-------------------------------	----

Conclusion et perspectives	78
----------------------------------	----

Références bibliographiques	80
-----------------------------------	----

Résumés

Liste des figures

Figure 01 : modèle général de l'hématopoïèse	09
02 : répercussions métaboliques de l'activité de la MTHFR	40
03 : représentation schématique des mutations et polymorphismes du gène <i>MTHFR</i> ...	42
04 : modèle de représentation graphique en forêt (forest plot)	48
05 : modèle de représentation graphique en entonnoir (funnel plot)	49
06 : représentation graphique des fréquences génotypiques rapportées dans différentes études cas témoins sur l'implication du polymorphisme C677T du gène <i>MTHFR</i> dans la survenue de la LAM	55
07 : représentation graphique des fréquences alléliques rapportées dans différentes études cas témoins sur l'implication du polymorphisme C677T du gène <i>MTHFR</i> dans la survenue de la LAM	56
08 : représentation graphique des fréquences génotypiques rapportées dans différentes études cas témoins sur l'implication du polymorphisme A1298C du gène <i>MTHFR</i> dans la survenue de la LAM	59
09 : représentation graphique des fréquences alléliques rapportées dans différentes études cas témoins sur l'implication du polymorphisme A1298C du gène <i>MTHFR</i> dans la survenue de la LAM	60
10 : méta-analyse C677T MTHFR et LAM (modèle dominant)	64
11 : biais de publication C677T MTHFR et LAM (modèle dominant)	64
12 : méta-analyse C677T <i>MTHFR</i> et LAM (modèle récessif)	65
13 : biais de publication C677T <i>MTHFR</i> et LAM (modèle récessif)	65
14 : méta-analyse C677T <i>MTHFR</i> et LAM (modèle allélique)	66
15 : biais de publication C677T <i>MTHFR</i> et LAM (modèle allélique)	66

16 : méta-analyse A1298C <i>MTHFR</i> et LAM (modèle dominant)	71
17 : biais A1298C <i>MTHFR</i> et LAM (modèle dominant)	71
18 : méta-analyse A1298C <i>MTHFR</i> et LAM (modèle récessif)	72
19 : biais A1298C <i>MTHFR</i> et LAM (modèle récessif)	72
20 : méta-analyse A1298C <i>MTHFR</i> et LAM (modèle allélique)	73
21 : biais de publication A1298C <i>MTHFR</i> et LAM (modèle allélique)	73

Liste des tableaux

I : tableau de contingence croisé	47
II : modèles de comparaison pour l'étude de l'effet des polymorphismes <i>MTHFR</i> ...	47
III : études retenues pour la méta-analyse de chaque polymorphisme	51
IV : recueil des fréquences génotypiques et alléliques rapportées dans différentes études cas-témoins sur l'implication du polymorphisme C677T du gène <i>MTHFR</i> dans la survenue de la LAM	53
V : recueil des fréquences génotypiques et alléliques rapportées dans différentes études cas-témoins sur l'implication du polymorphisme A1298C du gène <i>MTHFR</i> dans la survenue de la LAM	57
VI : résultat de la méta-analyse C677T <i>MTHFR</i> et LAM	63
VII : résultat de la méta-analyse C677T <i>MTHFR</i> et LAM en tenant compte de l'ethnicité	67
VIII : résultat de la méta-analyse A1298C <i>MTHFR</i> et LAM	70
VIII : résultat de la méta-analyse A1298C <i>MTHFR</i> et LAM en tenant compte de l'ethnicité	74

La leucémie est un cancer qui prend naissance dans la cellule souche de la moelle osseuse. C'est une affection maligne caractérisée par une prolifération anarchique du tissu hématopoïétique, regroupent les leucémies et les lymphomes. Communément appelées « cancers du sang », ces pathologies, correspondent à un ensemble extrêmement hétérogène de proliférations myéloïdes et lymphoïdes malignes atteignant les organes lymphoïdes et non lymphoïdes. Les leucémies sont à distinguer des lymphomes, qui sont des dérivés des cellules lymphoïdes, et qui se développent, le plus souvent, à partir des ganglions (**Mauvieux et al., 2006**).

En fonction de la rapidité à laquelle la maladie se développe et évolue on subdivise deux types de leucémies ; les leucémies chroniques et les leucémies aiguës : les leucémies chroniques se développent lentement au fil des mois ou même des années. Elles sont dues à l'accumulation de cellules sanguines matures, par défaut d'apoptose, ou à la prolifération incontrôlée de cellules hématopoïétiques indifférenciées. Dans le cas où cette prolifération concerne les lymphocytes (lymphocytes de la lignée B), on parlera de Leucémie Lymphoïde Chronique (LLC), si elle concerne les cellules myéloïdes (principalement la lignée granulocytaire) on parlera de Leucémie Myéloïde Chronique (LMC). La leucémie aiguë débute de manière soudaine et se développe en quelques jours ou quelques semaines, elle est caractérisée par une progression et une prolifération rapide dans la moelle osseuse et le sang de cellules immatures. Selon l'origine des lymphoblastes ou des médullo-blastes, on distingue deux grandes catégories de leucémies aiguës : les Leucémies Aiguës Lymphoblastiques ou Lymphoïdes (LAL), et les Leucémies Aiguës Myéloblastiques ou Myéloïdes (LAM) (**Kelly et Gilliland, 2002 ; Gisselbrecht, 2003**).

Environ 57 000 cas de leucémie surviennent chaque année, et les LAM sont les hémopathies malignes les plus fréquentes survenant principalement chez l'adulte, et dont l'incidence augmente avec l'âge (**Pui, 2006**). Elles sont caractérisées par une prolifération anormale et excessive de cellules hématopoïétiques immatures généralement présentes dans la moelle osseuse et le sang. Ces cellules, communément appelées blastocystes, sont bloquées dans leur différenciation à un stade précoce et inhibent le fonctionnement de la moelle osseuse normale (**Mbensa et al., 1993**). Le diagnostic et la prise en charge thérapeutique de la LAM accordent aujourd'hui une grande place aux techniques de cytogénétique (classique et moléculaire) et de biologie moléculaire en complément des techniques habituelles (hémogramme, myélogramme et cytochimie). Le traitement reste difficile en raison des résistances et des rechutes aux traitements de chimiothérapie conventionnelle. Des thérapies ciblées basées sur la connaissance de la physiopathologie des LAM sont en cours de développement (**Wang et Chen, 2008**).

Même si la plupart des leucémies n'ont pas de causes connues, on peut en revanche retrouver divers facteurs de risque susceptibles de favoriser leur apparition. Dans les LAM, les facteurs causals reconnus sont des facteurs génétiques endogènes (constitutionnels ou acquis) ou environnementaux. Cependant, au cours de la dernière décennie, un grand nombre d'études ont été menées qui prédisent l'implication des mutations du gène de la Méthylène-Tétra-Hydro-Folate Réductase (*MTHFR*) dans la survenue des LAM, via leur impact délétère sur la méthylation de l'ADN, le stress oxydatif, les phénomènes d'empreinte génétique et d'épigénèse humaine. L'enzyme *MTHFR* réduit l'acide folique en 5 Méthyl-Tetra-Hydro-Folate (5-MTHF), forme active du cycle des folates, qui permet le recyclage de l'homocystéine (donneur de méthionine et de cystéine) et la synthèse du glutathion (**Menezo, 2016**).

Une mutation de ce gène entraîne une capacité jusqu'à 75% plus faible de générer le 5-MTHF. Il existe de nombreux polymorphismes ou SNP (Single Nucleotide Polymorphism) du gène *MTHFR*, les deux principaux décrits dans la littérature scientifique sont ceux qui ont le plus grand impact clinique : C677T et A1298C. Ces polymorphismes ont été liés à une activité enzymatique réduite du *MTHFR*, ce qui conduit à une accumulation de 5, 10-méthylènetétrahydrofolate et à une hypo-méthylation de l'ADN. En effet, le 5,10-méthylènetétrahydrofolate donne un groupe méthyle, qui convertit le dUMP en dTMP (**Frosst et al., 1995**).

À ce jour, plusieurs études ont étudié l'association entre les polymorphismes *MTHFR* et le risque de survenue de LAM (**Robien et Ulrich, 2003 ; Barbosa et al., 2008 ; Liu et al., 2016**), mais les résultats de ces études sont parfois contradictoires. Pour contribuer à clarifier l'effet potentiel des polymorphismes de la *MTHFR* sur le risque de survenue d'une LAM, nous avons mené ce travail de recherche. Nous nous sommes assigné les objectifs suivants :

- Faire une synthèse bibliographique actualisée sur les aspects cliniques et biologiques des LAM. L'aspect génétique (gènes impliqués et altérations génétiques et épigénétiques rencontrées) de ces hémopathies sera développé de façon exhaustive.
- Prospecter par une méta-analyse regroupant toutes les études ayant été menées sur la thématique, l'implication des deux polymorphismes les plus communs de la *MTHFR* (OMIM : 607093), C677T (*rs* 1801133) et A1298C (*rs* 1801131), dans le risque de survenue de la LAM.

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

SANG, MOELLE ET HÉMATOPOÏÈSE

1- Sang

Le sang est un tissu biologique mésenchymateux spécialisé, un liquide rouge visqueux et dense dont le pH est légèrement alcalin (pH entre 7,2 et 7,5). C'est l'un des principaux liquides organiques de l'organisme où des cellules vivantes, des éléments figurés sont en suspension très concentrée dans une matrice extracellulaire liquide homogène et épais appelé le sang. Le sang joue plusieurs rôles essentiels en raison de la diversité des cellules qu'il contient aux propriétés et fonctions biologiques distinctes. Il distribue l'oxygène, les hormones et les nutriments à toutes les cellules, les tissus et les organes du corps, ainsi que leurs rôles dans l'inflammation et la phagocytose des globules blancs et l'élimination des déchets **(Théron, 2007 ; Leblanc, 2011)**.

1-1- Plasma

Le plasma est un liquide sanguin de couleur jaunâtre sous une forme légèrement visqueuse où toutes ces cellules sont en suspension. Il représente à lui seul 55% du volume sanguin. Il est composé à 90% d'eau et contient plus de 100 solutés: des nutriments, des hormones, des gaz, des ions et d'anticorps. Le plasma est avant tout un fluide riche en protéines, dont la principale protéine albumine, l'immunoglobuline ainsi que les facteurs de coagulation et le fibrinogène. Il remplit plusieurs fonctions, notamment le transport des cellules sanguines et des nutriments, la régulation de l'eau et des sels minéraux dans le corps, l'irrigation des tissus et la défense contre les infections et les caillots sanguins **(Kebbous et Midouche, 2015)**.

1-2- Éléments figurés

Le sang est un fluide vital que notre corps produit chaque jour à un rythme insensé de plusieurs milliards de cellules par jour, et il se compose de cellules sanguines en suspension dans le plasma qui représentent 45% de son volume total. Les éléments sanguins sont classés en 3 classes: les hématies (globules rouges ou les érythrocytes), les leucocytes (globules blancs) et les plaquettes (également appelées les thrombocytes ou cellules plaquettaires). Toutes ces cellules sont synthétisées dans un tissu spongieux de nos os appelés moelle osseuse selon le processus d'hématopoïèse à partir d'une seule cellule souche hématopoïétique, mais la différenciation est activée par différentes hormones. Et ces éléments picturaux du sang ont une vie limitée : il y a un équilibre dynamique entre leur production et leur destruction **(Binet, 2003)**.

1-2-1- Hématies

Les globules rouges, également appelés érythrocytes ou Globules Rouges (GR) sont des cellules annulées présentes dans le sang dépourvues d'organites cellulaires contenant une solution d'hémoglobine responsable de la couleur rouge du sang. Des Cellules incapables de mouvement sain, mais extrêmement défavorables avec des formes de disques plats souvent biconcaves. Ce sont les plus petits composants du sang (7,7 μm de diamètres) et les plus nombreux (5×10^6) (Gill et Anctil, 2006). Après plusieurs étapes de différenciation, les érythrocytes se déplacent dans la circulation sanguine où ils jouent le rôle de transporteurs d'oxygène. Ces petits éléments, qui ne contiennent pas de noyau, consistent principalement en une membrane et un cytoplasme en plus de l'eau, des ions minéraux et du glucose provenant du plasma, qui sont deux composants de base des protéines de l'hémoglobine et des enzymes érythrocytaires (Provan et Gribben, 2005).

1-2-2- Polynucléaires

- a- **Polynucléaires neutrophiles (PNN)** : désignent un type de globules blancs, qui sont des cellules rondes spécialisées de 15 à 20 μm qui proviennent de la moelle osseuse et représentent 15 à 30% de l'ensemble de ces cellules. Le PNN mature est conservé dans un compartiment de réserve pendant 5 à 7 jours au niveau de la moelle osseuse qui circule en une dizaine d'heures dans le sang et passe dans les tissus où il remplit sa fonction principale de lutte contre les bactéries notamment en phagocytose et bactéricide grâce à sa capacité à migrer dans les tissus vers le site de la lésion (Provan et Grobber, 2005). Ce sont les cellules multinucléés les plus nombreuses avec une durée de vie estimée dans les tissus d'environ 24 heures, et leur valeur physiologique varie de 50 à 80%. Leur objectif est les tissus qu'ils acquièrent pour remplir leur rôle dans la défense antibactérienne non spécifique, dans le cas d'un nombre supérieur à la normale, alors on parle de noyaux neutrophiles et dans le cas contraire de neutropénie (Binet, 2003).
- b- **Polynucléaires éosinophiles (PNE)** : c'est une cellule de 12 à 17 μm , avec un noyau le plus souvent bilobé, et un cytoplasme rempli de granules massifs, ronds et réguliers chargés d'histamine orange et jaune (Vaubourdoll, 2013). Ils ont des structures similaires aux PNN. Leur âge est de 8 à 12 jours par rapport aux neutrophiles, les PNE ont moins de pouvoir phagocytaire. Les substances émises sont des agents chimiques éosinophiles, l'histamine et la prostaglandine D2 stimulent la réaction d'hypersensibilité immédiate, fonction principale des éosinophiles (Binet, 2003). Cette réaction se produit par la liaison de l'immunoglobuline E (IgE) à l'antigène (Ag) dont le nombre augmente chez certains parasites et en cas de polynucléaires (Provan et Gribben, 2005).

- c- **Polynucléaires basophiles (PNB)** : les basophiles sont le principal acteur de la réaction allergique et de divers événements immunitaires et inflammatoires, et jouent un rôle majeur dans l'hypersensibilité immédiate, comme les mastocytes très proches. Les cellules âgées de quelques heures à quelques jours travaillent principalement pour se débarrasser des granules. Par la suite, le noyau polynucléaire est capable d'une nouvelle synthèse à partir de granules spécifiques. Ils agissent en libérant des composés vasoactifs (histamines) et en modulant les immunomodulateurs présents dans leurs granules après stimulation impliquant ou non des IgE (**Kebbous et Midouche, 2015**).

1-2-3- Monocytes

Les monocytes sont des cellules appartenant à un groupe hétérogène de leucocytes qui circulent dans le sang et naissent dans la moelle osseuse puis se propagent dans le sang (**Geissmann et al., 2001**). Après que les vaisseaux sanguins restent à l'intérieur des cellules, les monocytes deviennent verts dans les différents tissus (rate, ganglions, tissus conjonctifs sous la peau, les poumons et les membranes séreuses) sous forme de macrophages). Ils représentent 2 à 10% de tous les globules blancs avec une très courte durée de vie dans le sang (environ 24 h) . et peuvent rester dans la circulation jusqu'à un à deux jours (**Italiani et Boraschi, 2014**). Les monocytes ont des caractéristiques morphologiques typiques, de forme irrégulière avec une taille variable entre 20-40 μm , un noyau ovale ou en forme de rein sans noyau, leur chromatine n'est pas très dense (**Valensi, 2005**). Cette cellule est capable de se répandre facilement sur verre et plastique. Les monocytes, comme les autres globules blancs, participent aux défenses spécifiques de l'organisme. Ils ont pour rôle de protéger et de défendre l'organisme contre les bactéries, les substances, les substances étrangères, les virus, les parasites et les cellules tumorales. Son rôle plus précis est de délivrer des antigènes aux lymphocytes. Il est également responsable de la phagocytose, il intègre et détruit les agents pathogènes et les restes de petites cellules. Les monocytes qui proviennent de la moelle osseuse proviennent de Cellules Souches Hématopoïétiques (CSH) et se développent à partir de la lignée des myéloïdes vulgaires. Les cellules souches conduisent alors à la formation d'une unité qui forme la colonie précurseur de granulocytes macrophages diploïdes, qui sont ensuite transférés dans les tissus. Une augmentation du nombre de monocytes dans le sang périphérique est associée à des injections en phase de récupération après neutropénie et états inflammatoires chroniques, mais aussi à des maladies du système sanguin (néoplasmes myéloprolifératifs ou leucémies aiguës par exemple) (**Akashi et al., 2000**).

1-2- 4- Lymphocytes

Les lymphocytes sont de petites cellules rondes (environ 7 μm de diamètre) avec un noyau et font partie de la famille des leucocytes (santé future) qui sont relativement nombreux et représentent entre 20 et 40% des leucocytes circulant dans l'organisme, se retrouvent dans le sang, provenant de la moelle osseuse, après que les organes lymphoïdes centraux sont occupés par leur maturation (moelle osseuse pour les lymphocytes B, thymus pour les lymphocytes T) (**Godin-Ethier, 2011**). Il existe généralement trois groupes de lymphocytes: les lymphocytes B, T et NK, dont les principaux sont les lymphocytes B et T qui participent à la réponse immunitaire adaptative. Contrairement à la réponse immunitaire innée, cette deuxième étape de la réponse immunitaire adaptative implique de nombreux leucocytes, notamment: des lymphocytes B qui produisent des anticorps et des protéines complexes qui ont la capacité de reconnaître et de neutraliser spécifiquement les agents pathogènes, tandis que les lymphocytes T (T pour Thymus en finissant leur maturation dans le thymus) sont responsables de l'immunité cellulaire en détruisant les cellules reconnues comme étant spécifiquement infectées. Seules les études immunitaires spécialisées des marqueurs membranaires peuvent différencier les lymphocytes B et T. L'hyper lymphocytose correspond à un taux de lymphocytes supérieur à 8000 à 9000/ml (**Kebbous et Midouche, 2015**).

1-2-5- Plaquettes

Les plaquettes dans le sang ou les thrombocytes humains sont de plus petits éléments stéréoscopiques du sang qui résultent de la fragmentation du cytoplasme des grandes cellules hématopoïétiques de la moelle osseuse appelées les mégacaryocytes (**Hertwig et Italiano, 2003**). Ils n'ont donc pas de noyau et sont réamplifiés dans le sang car ils sont âgés de 7 à 12 jours avant d'être éliminés par phagocytose des macrophages dans le système rétinien des tissus à l'intérieur du corps, de la rate et de la moelle osseuse. Les plaquettes sont les acteurs essentiels du maintien d'un vaisseau sanguin sain. Sa fonction principale est d'assurer une hémostase dite « primaire » conduisant à la formation d'un thrombus riche en thrombocytes ou thrombus blanc. Parmi les nombreux récepteurs à la surface des plaquettes, sont les récepteurs TLR (Toll-like Receptor) pour l'interaction entre immunité innée et adaptative (**Furie, 2008**). Ainsi la réponse plaquettaire est variable en fonction de l'activation par un stimulus hémostatique. Cependant, nous réalisons maintenant qu'il a également un rôle important dans les processus de guérison, la régulation de l'inflammation, l'angiogenèse et la séparation des vaisseaux lymphatiques et sanguins (**Leslie, 2010 ; Julien et Berthet, 2015**).

2- Moelle osseuse

La moelle osseuse est un tissu vivant, spécialisé, spongieux et mésenchymateux située au milieu des os de l'organisme responsable de la production de diverses cellules sanguines. Chez un adulte, la masse de moelle osseuse obtenue pèse de 1,6 à 3 kg (**Bryon, 1998**). Il se compose de tissu hématopoïétique (on parle donc d'hématopoïèse ou de moelle rouge) et de tissu adipeux (moelle grasse ou jaune). La moelle sanguine rouge est disséquée anatomiquement en plusieurs parties osseuses, constituées de l'extérieur vers l'intérieur d'un squelette, d'une chambre vasculaire, d'un microenvironnement conjonctif vasculaire et enfin d'un parenchyme hématopoïétique, à droite, c'est là que les cellules souches se développent en globules rouges et blancs et les plaquettes. L'emplacement de la moelle osseuse varie selon qu'il s'agit d'un fœtus, d'un nouveau-né et d'un adulte. Chez le fœtus, elle est située à l'intérieur de toutes les cavités osseuses. Alors que chez l'adulte, elle se trouve dans les boîtes d'os spongieux de certaines épiphyses au niveau des vertèbres, des os plats. Cette moelle remplit de nombreuses fonctions, la fonction hématopoïétique car elle est le siège de l'hématopoïèse, une fonction de défense qui a un rôle de macrophage et d'immunité, et est capable de s'auto-renouveler pour maintenir la réserve de cellules sanguines à vie (**Mauch, 1995 ; Ferrant, 2004**).

3- Hématopoïèse**3-1- Définition**

C'est l'ensemble des mécanismes qui assurent la production continue et régulière des différentes cellules sanguines. Le sang apparaît chez l'homme dès le 21^{ème} jour de l'embryogenèse. Il est produit dans l'AGM (Aorte-Gonade-Mésonéphros) et le sac vitellin (origine mésodermique). Entre le 2^{ème} et le 7^{ème} mois, le foie et la rate prennent la relève ; et ce n'est que dans les derniers mois de la vie intra-utérine que la moelle osseuse devient le site principal de la formation du sang. Après la naissance, la moelle osseuse est le site exclusif de production sanguine. Jusqu'à 5 ans tous les os ont une activité hématopoïétique, ensuite cette activité va progressivement se limiter au niveau des os courts et plats (sternum, côtes, vertèbres, os iliaques). Le système hématopoïétique doit produire tout au long de la vie des cellules spécialisées en quantité très importante pour assurer le renouvellement des cellules lymphoïdes et myéloïdes. La plupart des cellules sanguines ont une durée de vie transitoire, elles doivent donc être renouvelées : 120 jours pour les globules rouges, 7 à 10 jours pour les plaquettes et quelques heures pour certains granulocytes (**Agnès, 2008**).

L'hématopoïèse se déroule en 4 étapes successives dont le passage d'une étape à une autre est sous influence de signaux (cytokines et autres) :

- **Cellules souches hématopoïétiques** : caractérisées par l'auto-renouvellement, la totipotence et la capacité de différenciation permettant leur engagement vers une lignée hématopoïétique (Agnès, 2008).
- **Progéniteurs** : la première différenciation d'une cellule souche multipotente après sa mise en cycle se fait vers la lignée lymphoïde ou vers la lignée myéloïde. Morphologiquement identiques aux cellules souches, ils perdent leur totipotence et deviennent pluripotents avec une capacité de renouvellement plus faible. Acquisition de nouveaux marqueurs (CD34, CD33, HLA-DR, etc.). La cellule souche lymphoïde possède la potentialité de différenciation vers trois types de cellules : lymphocytes T, B (CFU-L) et les cellules NK. Dans la cellule souche myéloïde (CFU-GEMM) chaque nom de progéniteur est défini par l'association du préfixe CFU (Colony Forming Unit) suivi de(s) lettre(s) qui caractérisent les lignées (GEMM : Granuleuse, Érythrocytaire, Macrophage et Mégacaryocytaire). Cette cellule va poursuivre son programme de différenciation et donner naissance à des progéniteurs encore plus engagés : CFU-GM Granulo-Macrophagique : P. Neutrophiles et Monocytes, BFU-MK et CFU-MK (Mégacaryocytaire) : Plaquettes, BFU-E (Burst Forming Unit) et CFU-E : Hématies (Schmidt *et al.*, 2013).
- **Précurseurs** : ils sont les premières cellules morphologiquement identifiables de chaque lignée. Acquisition des marqueurs embryonnaires spécifiques des différentes lignées. Le compartiment des précurseurs a pour but la multiplication et la maturation cellulaire terminale. Ils sont localisés dans la moelle osseuse et explorés par le myélogramme et la BOM (Biopsie Ostéo-Médullaire) (Schmidt *et al.*, 2013).
- **Cellules matures** : l'ensemble de l'hématopoïèse a lieu dans la moelle osseuse. Seules les cellules terminales, matures et fonctionnelles, vont passer dans le sang : polynucléaires neutrophiles, éosinophiles et basophiles, hématies, plaquettes, lymphocytes et monocytes. Pour la plupart de ces cellules le sang ne représente qu'un lieu de passage et de transport entre leur lieu de production (la moelle) et le lieu de leurs fonctions (les tissus). Les lymphocytes et les monocytes seront de plus capables de nouvelles différenciations après leur séjour sanguin (Schmidt *et al.*, 2013) (figure 01).

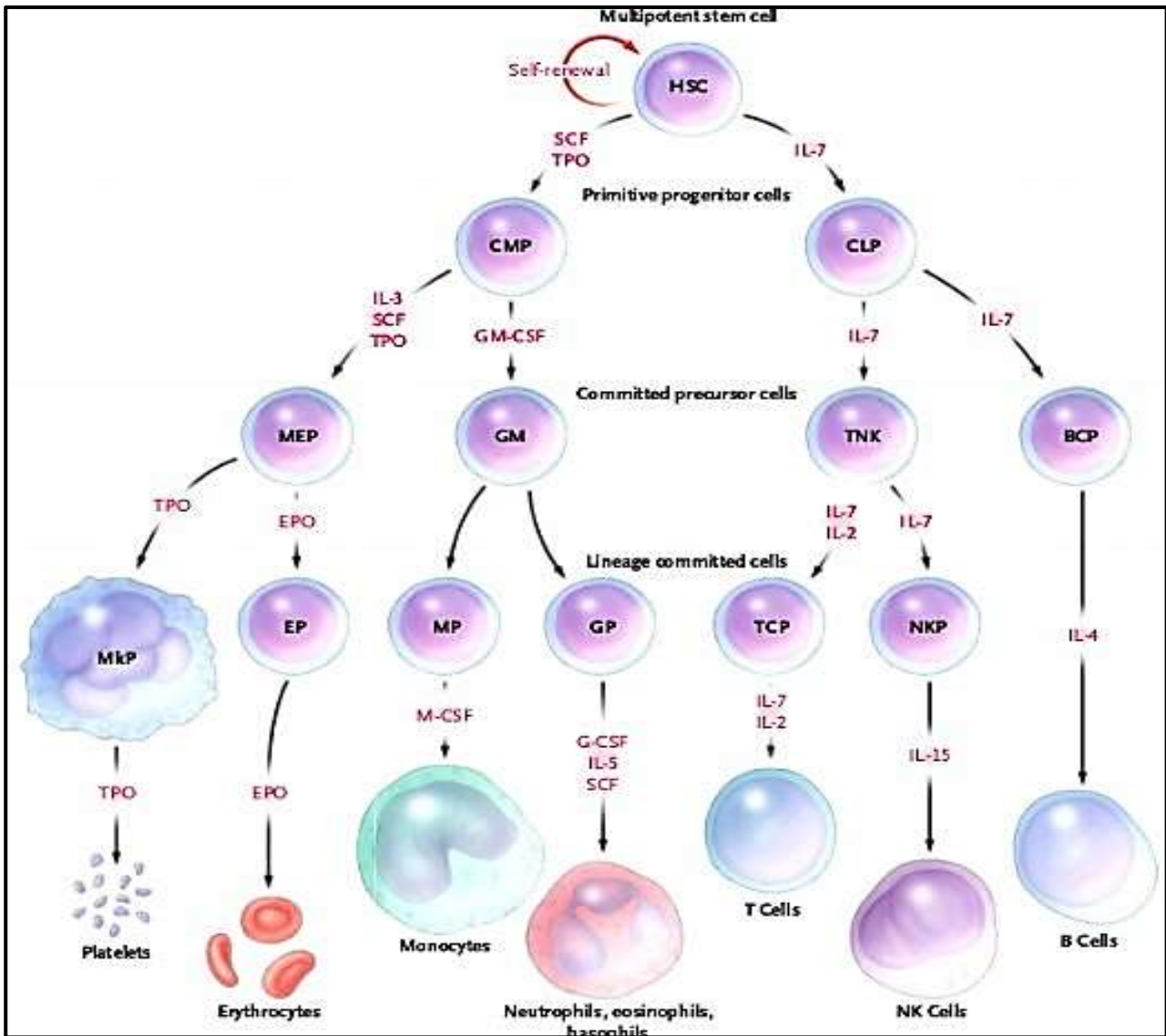


Figure 01 : modèle général de l'hématopoïèse (Kaushansky *et al.*, 2006).

Le développement des cellules sanguines débute à partir d'une CSH, qui peut subir soit un auto-renouvellement ou une différenciation en une lignée des cellules progénitrice commune myéloïde (CMPs) ou Lymphoïdes (CLPs) qui donne naissance à d'autres progéniteurs plus différenciés. Les cytokines et facteurs de croissance favorisant (en rouge) la survie, la prolifération et/ou la différenciation.

3-2- Régulation de l'hématopoïèse

La régulation de l'hématopoïèse est complexe. Elle dépend essentiellement de facteurs de croissance et de l'existence d'un microenvironnement médullaire. Cette régulation spécifique est importante étant donné la différence de durée de vie et la diversité de fonctions des cellules sanguines (Chaker, 2010).

3-2-1- Micro-environnement médullaire

Afin de se renouveler, proliférer et se différencier, les CSH vivent dans un environnement constitué de diverses cellules et de protéines matricielles (protéines fibreuses, glycoprotéines et protéoglycanes) qui sont produites par les cellules stromales (cellules mésenchymateuses, cellules réticulaires, fibroblastes, lymphocytes, macrophages et cellules sinusoides vasculaires). Les constituants de cet environnement interagissent entre eux et avec les CSH et l'ensemble constitue la niche hématopoïétique. Ces interactions sont principalement responsables du maintien des CSH dans la moelle osseuse et permettent également la transmission de signaux qui modulent la survie, la prolifération et la différenciation cellulaire. Les cellules stromales libèrent de divers Facteurs de Croissance Hématopoïétiques (FCH). Certains de ces FCH peuvent se fixer transitoirement aux protéoglycannes de la Matrice Extra-Cellulaire (MEC) (par exemple le GM-CSF se lie à l'héparane sulfate) et assurent ainsi la production de divers composants permettant le maintien de la croissance des CSH : CXCL12, angiopoïétine-1, VCAM-1, KL, la protéine c-KIT est son récepteur de surface (Robb, 2007). Les progéniteurs hématopoïétiques expriment plus de 20 récepteurs d'adhésions différents (Coulombel, 1997). Parmi ces molécules, on trouve des intégrines responsables de l'adhésion cellulaire à la matrice extracellulaire telles que la fibronectine, la laminine ou le collagène. Des molécules d'adhésion cellule-cellule telles que l'ICAM (Inter-Cellular Adhesion Molecule), VCAM (Vascular Cell Adhesion Molecule) et PECAM-1 (Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule-1) (Ifrah et Calm, 2014).

3-2-2- Les facteurs de croissance

Aussi appelés cytokines et CSF (Colony Stimulating Factor), il s'agit de glycoprotéines agissant comme de véritables « hormones hématopoïétiques », capables de stimuler l'hématopoïèse. Elles sont synthétisées par divers types de cellules sanguines, endothéliales, fibroblastes. On distingue plusieurs types de facteurs de croissance selon leur lieu d'action au cours de l'hématopoïèse :

- **Action sur les progéniteurs précoces, peu spécifiques de lignées** : SCF, Flt3-L, IL-3, famille de l'IL-6 (IL-6, IL-11, LIF, OSM) (Robb, 2007).
- **Action plus restreinte, plus tardive** :
 - **Pour les granulocytes, les macrophages, ou les mastocytes** : GM-CSF permet l'orientation vers la production de progéniteurs Granulocytaires / Monocytaires, G-CSF permet la différenciation vers les neutrophiles, M-CSF permet la différenciation vers les monocytes, IL-5 qui permet la différenciation vers les éosinophiles et SCF ou KL (Kit ligand) qui permet la différenciation mastocytaire.

- **Pour les mégacaryocytes** : thrombopoïétine (TPO) et son récepteur appelé MPL, présent sur les plaquettes et sur les mégacaryoblastes. La TPO est synthétisée par le foie.
- **Pour les érythroblastes** : principalement l'érythropoïétine (EPO), synthétisée par les cellules péri-tubulaires du cortex rénal, sensible à la pression en oxygène du sang. Les proérythroblastes et les CFU-E entrent en apoptose en l'absence d'EPO, qui est donc plutôt un facteur anti-apoptotique.
- **Pour les cellules lymphoïdes** : SCF et IL-7 orientent la différenciation des CS pluripotentes en progéniteur lymphoïde, IL-7 : aide à la différenciation des progéniteurs B (BCP), IL-2, IL-4, IL-7 : aide à la différenciation des progéniteurs T (TCP).
- **Autres** : hormone de croissance, insuline, les stéroïdes, hormone thyroïdienne vitamines et oligoéléments (la vitamine B12 et l'acide folique ainsi que le fer) et les androgènes (Robb, 2007).

3-3- Physiopathologie de l'hématopoïèse

L'hématopoïèse est un processus complexe, encore imparfaitement compris. Des altérations de l'hématopoïèse peuvent conduire à diverses pathologies, réactionnelles (aplasies) ou malignes (hémopathies), on distingue selon la nature de la pathologie :

- **Excès de production** : Syndromes Myélo-Prolifératifs (SMP) et Syndromes Lympho-Prolifératifs (SLP).
- **Défaut de production** : Syndromes Myélo-Dysplasiques (SMD), aplasies médullaires, carences et toxicité médicamenteuse.
- **Excès de destruction** : pathologies immunologiques ou auto-immunes (PTAI : Purpura Thrombopénique Auto-Immune, AHAI : Anémie Hémolytique Auto-Immune), soustraction (saignements, cytophérèse, plasmaphérèse).
- **Défaut de destruction** : pathologies d'accumulation (LLC, LMC) (Schmidt *et al.*, 2013).

Avant de devenir globules rouges, globules blancs ou plaquettes, les cellules passent par toute une série d'étapes de maturation dont le point de départ est la cellule souche hématopoïétique. Dans la plupart des cancers hématologiques, ce processus de maturation est perturbé en raison de la survenue d'altérations dans une cellule qui se met alors à se multiplier de façon anormale. L'accumulation de ces cellules freine ensuite le fonctionnement normal des autres cellules (lutte contre les infections, prévention des saignements, etc.). Plus les altérations apparaissent tôt dans le processus de maturation, plus l'agressivité du cancer risque d'être élevée (Chan, 2004).

On distingue 3 grandes familles de cancers du sang : les leucémies qui sont caractérisées le plus souvent par la présence de cellules anormales circulant dans le sang, les myélomes qui se manifestent notamment par des lésions osseuses, et les lymphomes qui touchent principalement les ganglions. Les syndromes myélodysplasiques sont des maladies de la cellule souche hématopoïétique qui prédisposent au développement d'une leucémie aiguë myéloïde. Des mutations récurrentes et des altérations délétères avec le microenvironnement médullaire sont à l'origine de l'initiation de la maladie et de l'amplification d'un progéniteur clonal. Les mécanismes responsables de la sélection clonale sont recherchés grâce à des modèles de lignées cellulaires *in vitro* et de xéno greffes chez la souris de cellules hématopoïétiques et stromales mésenchymateuses dérivées des patients (**Chan, 2004 ; Sternberg, 2004**).

Les processus qui aboutissent à la transformation leucémique d'un progéniteur hématopoïétique normal sont encore mal compris. Un modèle séduisant de leucémogénèse fait intervenir une succession d'événements géniques responsables, d'une part de l'arrêt de la différenciation, et d'autre part d'un défaut d'apoptose et d'un excès de prolifération. Ces événements géniques touchent fréquemment des gènes codant des facteurs de transcription hématopoïétiques ou des récepteurs ou molécules impliqués dans la transduction des signaux anti-apoptotiques en réponse aux cytokines et facteurs de croissance. Il peut s'agir des translocations (fusions de gènes), des délétions complètes ou partielles, des amplifications ou des mutations ponctuelles (**Porcu et al., 2000**).

CHAPITRE II

LEUCÉMIES AIGUËS MYÉLOÏDES

1- Définition

La Leucémie Aiguë Myéloïde (LAM) est également appelée myéloblastique constitue un groupe hétérogène d'hémophilie maligne qui se caractérise par un ensemble de prolifération clonale incontrôlée de cellules myéloïdes immatures (appelées blastes) qui ont perdu leur capacité à se différencier. C'est un cancer qui commence dans les cellules souches myéloïdes, qui se développe anormalement en cas de leucémie et remplace les globules sanguins normaux : globules rouges, granulocytes, monocytes et plaquettes, ce qui conduit à une accumulation dans la moelle osseuse, envahissant le sang périphérique et éventuellement autres organes (hématopoïétiques et non hématopoïétiques). La propagation s'accompagne d'une production insuffisante d'éléments sanguins normaux par la moelle osseuse (**Chalandon et Swerdlow, 2005**).

2- Épidémiologie

Les hémopathies malignes regroupent des entités très distinctes issues du tissu lymphoïde ou myéloïde. Les classifications épidémiologiques n'ont pas pu la prendre en compte pendant une période suffisamment longue pour le rendre possible, à partir des registres publics d'incidence et de décès pour chaque entité. Les données publiées regroupent ces entités en grandes catégories (**Dscheler et Lubbert, 2006**). Elles représentent moins de 3% de tous les cancers, mais elles sont l'un des types cancéreux les plus mortels et les LAM environ 25% de l'ensemble des leucémies. L'incidence globale de la LAM est d'environ 4 à 5 nouveaux cas pour 100 000 personnes par an, et cette incidence augmente progressivement avec l'âge, en particulier après 50 ans, selon les données du programme US SEERS (Surveillance, Epidemiology, and End Results Program) (**Deschler et al., 2006**). L'âge médian au diagnostic est de 67 ans avec une légère prédominance masculine et chez les Noirs américains (**Ries et al., 2009**). Elle affecte préférentiellement les hommes (ratio de 4,6 contre 3 pour 100 000 habitants) et les personnes âgées. Cependant, les très jeunes enfants (moins de 6 mois), et rarement, la LAM est diagnostiquée avant l'âge de 40 ans. Les LAM représentent également 80% des cas de leucémie aiguë chez l'adulte. Les LAM chez les personnes âgées représentent un problème de santé plus général, car une augmentation récente de l'incidence a été observée en raison du vieillissement de la population occidentale et de l'augmentation de l'administration d'agents générateurs de leucémie toxiques dans le traitement de divers cancers (**Xie, 2003**). En ce qui concerne la leucémie aiguë, elle représente 41,5% des cas de leucémie avec des taux d'incidence standard de 4,3 pour 100 000 chez les hommes et de 3,2 pour 100 000 chez les femmes (**Hill et Doyon, 2005**).

La leucémie varie considérablement chez les enfants et les adultes, environ un tiers des adultes développant un cancer une fois. Pourtant, cette différence de distribution a été observée pour la leucémie. En fait, la leucémie est le type de cancer le plus courant chez les enfants alors qu'elle ne représente qu'un faible pourcentage des cas diagnostiqués chez les adultes (**Brionne et Nowokczyn, 2009**).

En France, on note que le taux d'incidence standardisé selon l'âge est de 0,7 pour 100 000 personne par an chez l'enfant. , alors que chez les enfants de moins de 15 ans il n'y a pas de prédominance selon les données épidémiologiques pour les leucémies aiguës, les proportions ambiguës étant rares. On estime que les leucémies dites bi-phénotypiques représentent 3 à 4% de tous les cas de leucémies aiguës en France ; Il a été observé chez les adultes et les enfants (**Elliot et al., 2000**).

En Algérie, les données disponibles sur les cancers montrent une augmentation isolée de l'incidence, et que depuis 1990, environ 30 000 nouveaux cas de cancer sont diagnostiqués chaque année. Cet effet peut parfois être observé contre des changements importants dans les conditions d'enregistrement. L'augmentation annuelle de l'incidence de la LAM se poursuit avec 247 cas enregistrés en 2006, 265 en 2006, 292 en 2008, 303 en 2009 et 320 en 2010 avec des augmentations de 7,7%, 10,2, 3,7% et 5,6%. respectivement avec un taux d'augmentation moyen de 6,80% pour toute la période d'étude, réduisant l'incidence annuelle de 0,7 en 2006 à 0,9 en 2010 pour 100 000 habitants. L'âge moyen du diagnostic rapporté par cette étude est inférieur de 42 ans à celui rapporté dans l'étude précédente et est relativement bas par rapport à la tendance mondiale. Ce fait s'explique facilement par la taille relative de la population algérienne. Les caractéristiques cytologiques montraient une thrombopénie sévère, qui pourrait refléter un retard de prise en charge des patients au niveau des structures hospitalières spécialisées (**Troussard et Maarouf, 2006**). Les proportions de sous-types de leucémie aiguë myéloïde sont en grande partie les mêmes que celles décrites dans la littérature, mais à un taux très faible et des formes non spécifiques (1% vs 7%). Cette étude a révélé une nette tendance à l'augmentation de l'incidence annuelle des leucémies aiguës myéloïdes au cours de la période d'étude, qui ne peut s'expliquer non seulement par l'augmentation annuelle attendue de la population algérienne, mais aussi par l'amélioration des connaissances médicales, des soins et de l'inscription dans les services d'hématologie. Cependant, une réelle augmentation des cas enregistrés liée au vieillissement de la population et à l'amélioration des diagnostics doit également être envisagés. (**Winberg et Arber, 2010**). Le taux d'incidence annuel global pour 100 000 personnes montre une augmentation de 0,7 en 2006 à 0,91 en 2010. Cependant, ce taux est encore faible par rapport aux pays occidentaux (**Benakli, 2009**).

Il est important de souligner que le principal inconvénient de cette étude réside dans le fait que les données sur les ancêtres des troubles sanguins ou des chimiothérapies et/ou radiothérapies antérieures n'ont pas été incluses (**Djouadi-Lahlou, 2009**).

3- Étiologie

À ce jour, la cause de la leucémie aiguë myéloblastique n'est pas connue. Un petit nombre de facteurs de risque prédisposant ont été identifiés en raison d'événements catastrophiques. Les expositions au benzène, aux radiations ionisantes à forte dose, et aux chimiothérapies anticancéreuses sont des facteurs de risque bien établis et particulièrement bien décrits dans les hémopathies myéloïdes tandis que les déficits immunitaires congénitaux ou acquis et les infections virales ou bactériennes favorisent le risque d'hémopathies malignes lymphoïdes. Un facteur de risque augmente la probabilité de survenue d'un cancer, mais ne provoque pas, en soi, le cancer ; par ailleurs, si vous présentez un facteur de risque, cela ne signifie pas nécessairement que vous allez développer un cancer. Un facteur de risque n'est pas une cause en soi. Certaines personnes présentant ces facteurs de risque ne développeront jamais de LAM, tandis que d'autres personnes ne présentant aucun de ces facteurs de risque développeront tout de même une LAM. En général, dans une approche étiologique des LAM, il faut faire la distinction entre deux types : les LAM secondaires et les LAM *de novo* (**Glass, 2003**).

3-1- LAM secondaires

Lorsqu'un facteur de risque a été identifié, la LAM est dite « secondaire ». Elles surviennent soit après une exposition à des facteurs prédisposant tels que des agents toxiques ou thérapeutiques soit dans l'évolution d'une autre hémopathie maligne du type SMD ou SMP (Syndromes Myélo-Prolifératifs) (**Collignon et al., 2012**). Les facteurs de risques acquis comprennent l'exposition à divers éléments :

- Des radiations ionisantes dans un contexte thérapeutique (radiothérapie), professionnel ou accidentel.
- Des toxiques : pesticide, benzène et ses dérivés, tabac, etc.
- L'existence d'un syndrome myélodysplasique (anémie réfractaire avec ou sans excès de blastes) ou d'un syndrome myéloprolifératif (principalement la leucémie myéloïde chronique, mais aussi la maladie de Vaquez, la thrombocytémie essentielle, la splénomégalie myéloïde).
- L'exposition à des médicaments cytotoxiques dont la cible principale est l'ADN : les agents alkylants et les inhibiteurs de topoisomérase II (**Fenaux et al., 2016**).

3-1-1- LAM induites par les agents alkylants

Comme la cyclophosphamide, le chlorambucil, le melphalan, etc. La survenue de LAM secondaire intervient 2 à 5 ans après leur administration. Le caryotype montre souvent des anomalies complexes. Les LAM après utilisation prolongée d'agents alkylants (une phase de latence \approx 3 à 7 ans), souvent précédées (2/3 des cas) par une phase de SMD. Ces LAM sont fréquemment associées à des anomalies des chromosomes 7 et 5, et moins souvent du chromosome 17 (Fenaux *et al.*, 1999).

3-1-2- LAM liées à l'utilisation d'inhibiteurs de topoisomérase II

Les LAM après utilisation d'inhibiteurs de topoisomérase II (épipodophyllotoxines ou anthracyclines) avec latence courte entre 1 à 2 ans), sans précession par une phase de SMD. Le caryotype est normal, ou il existe des anomalies cytogénétiques du gène *MLL* en 11q23, translocations t(8;21), t(15;17), t(8;16) ou inv(16). Les LAM surviennent alors plus précocement. L'identification des formes secondaires de LAM est primordiale, car il s'agit de formes souvent plus résistantes, notamment lorsqu'elles sont secondaires à des hémopathies myéloïdes préexistantes ou à des traitements par chimiothérapie et (ou) radiothérapie. Leur pronostic est également plus sombre (Fenaux *et al.*, 1999).

3-2- LAM *de novo*

On connaît de nombreux facteurs préférentiels qui se distinguent classiquement en facteurs génétiques et acquis d'une part, et facteurs environnementaux d'autre part (Antoni, 2012).

3-2-1- Facteurs constitutionnels (génétiques)

Parmi ces facteurs, le plus important est la trisomie 21. C'est un facteur de risque majeur de leucémie infantile. Appelé aussi syndrome de Down, caractérisé par la présence d'un chromosome 21 supplémentaire, le risque de développer une LAM est 15 fois plus élevé que dans la population générale (Deschler et Lubbert, 2006).

Parmi les autres maladies génétiques constitutionnelles, on peut citer le syndrome de Klinefelter, qui touche les garçons et se caractérise par la présence d'un chromosome X supplémentaire ou d'un variant chromosomique XXY au lieu du XY normal, un syndrome de Bloom une mutation déterminée par une maladie génétique récessive, l'anémie de Fanconi ; une maladie génétique qui affecte les enfants et se caractérise par un arrêt du traitement (Deschler et Lubbert, 2006).

Une déplétion progressive de la moelle osseuse, entraînant une anémie, une diminution du nombre de plaquettes et de globules blancs, le syndrome de Sahachmann-Diamond, la maladie de Kostmann et le syndrome de Wiskott-Aldrich, ataxie télangiectasie, neurofibromatose de Recklinghausen, ostéogénèse imparfaite et syndrome de Li-Fraunemi (**Pui, 1995**).

Certaines déficiences immunitaires congénitales favorisent l'émergence de remèdes homéopathiques malins dès l'enfance. Certaines thérapies immunosuppressives peuvent également être impliquées dans le développement de la LAM, mais aussi de la LAL. Les antécédents familiaux des frères et sœurs sont rarement mentionnés (**Breems et al., 2005**). En fait, le risque augmente de 2 à 4 pour la leucémie aiguë dans la fratrie. Elle doit être très élevée pour un vrai jumeau d'un enfant atteint de leucémie aiguë : 20% si l'homéopathie est initiée avant 6 ans et 100% si elle apparaît avant 1 an, et le risque est élevé dans l'année qui suit le diagnostic (**Deschler et Lubbert, 2006**).

Les cas de leucémie familiale sont extrêmement rares, seuls 10 cas ont été rapportés dans la littérature et sont principalement liés au syndrome de Li-Fraunemi. Cependant, plusieurs conditions constitutionnelles prédisposent au risque de leucémie aiguë. Ce risque est estimé à 25% chez les vrais jumeaux, et il est augmenté en présence d'une anomalie chromosomique ou en cas de défaut de réparation chromosomique (**Deschler et Lubbert, 2006**).

3-2-2- Facteurs acquis

Une histoire d'homéopathie pernicieuse peut être évoquée dans la recherche de l'étiologie d'une LAM. En effet, la leucémie myéloïde aiguë secondaire survient parfois après le développement d'un état pré-leucémique (SPM ou SMD) dans l'histoire naturelle de certaines leucémies chroniques fréquemment (**Buchner et al., 2006**). Les facteurs de risque acquis comprennent :

- L'exposition à des médicaments cytotoxiques dont la cible principale est l'ADN. La survenue d'une LAM secondaire survient 2 à 5 ans après sa prise en charge. Le caryotype montre souvent des anomalies complexes et des inhibiteurs de la topoisomérase II, puis les LAM surviennent plus tôt et présentent diverses anomalies cellulaires telles que des anomalies du gène *MLL* situé en 11q23, ou une inversion du chromosome 16. Le Groupement qui reflète le développement réel du transcrit malin primaire et l'accumulation d'anomalies cytogénétiques. Cependant, la part pertinente de la maladie et des traitements reçus (chimiothérapie, radiothérapie) reste à déterminer dans le processus hématopoïétique. Le rôle des agents infectieux est souvent évoqué et parfois confirmé dans la survenue d'une LAM (**Buchner et al., 2006**).

- Exposition à des substances toxiques : pesticides, benzène et ses dérivés, tabac, etc.
- Présence d'un syndrome myélodysplasique (anémie réfractaire avec ou sans souffles excessifs ou syndrome myéloprolifératif (principalement LMC, mais aussi maladie de vaguez, thrombocytopénie essentielle, splénomégalie médullaire) (**Buchner et al., 2006**).

L'identification des formes secondaires de LAM est essentielle, car il s'agit souvent de formes plus résistantes, notamment lorsqu'elles sont secondaires à une myélopathie préexistante ou à des traitements par chimiothérapie et/ou radiothérapie (**Buchner et al., 2006**).

3-2-3- Facteurs environnementaux

En ce qui concerne les cancérogènes toxiques, l'exposition classique au benzène, décrite en 1928, peut provoquer diverses maladies du sang et notamment la LAM (**Deschler et Lubbert, 2006**). Ces derniers sont reconnus comme maladies professionnelles si l'exposition au Benzène (usines produisant des vernis, des peintures émaillées, des plastiques, des tasses, des pneus lubrifiants, des teintures, des détergents, etc.) (**Lichtman, 2007**). L'exposition aux rayonnements ionisants est également reconnue comme un agent causal, d'autant plus que 82 000 personnes ont été étudiées après les explosions nucléaires d'Hiroshima et de Nagasaki. Il est désormais admis que le tabagisme et l'utilisation de pesticides peuvent être propices à l'hématopoïèse (**Moormaan et al., 2002**). L'augmentation du risque de LAM chez les fumeurs, évoquée dans les années 1970, a été récemment confirmée par une étude américaine avec un risque relatif de 1,4 à 2 selon la consommation de tabac et la prédominance de certains sous-types cytogénétiques, notamment + (8,21) (**Van Maele-Fabry et al., 2008**).

La place entre l'utilisation de pesticides et la survenue de lymphocytes est significativement augmentée pour les LAM, le risque semble être plus précisément associé à l'utilisation de pesticides contenant des organochlorés et organophosphorés, et l'exposition prénatale à divers pesticides est associée à le développement de la leucémie avec l'incidence du cancer du sang chez l'enfant, une étude belge a montré une augmentation de l'incidence de la LAM chez les agriculteurs qui utilisaient des pesticides, notamment des PCDD/DBD (**Lichtman, 2007**).

4- Classification

Un hémogramme sanguin complet avec lecture précise des frottis sanguins et médullaires par réactions cytochimiques permet encore de classer la plupart des formes myéloïdes de leucémies aiguës (**Braham-Jmili et al., 2006**).

Cette classification est basée sur leur évolution (aiguë à progression rapide et chronique à progression lente) ainsi que sur l'origine des cellules leucémiques. La LAM est en outre classée en sous-types, et la plupart des cancers et des tumeurs solides sont classés en fonction du type cellulaire, de l'agressivité et de la tendance à se propager à d'autres organes et tissus. Mais sur la base de l'apparition de cellules cancéreuses (leucémique) ainsi que des anomalies génétiques associées (**Mandal, 2013**).

L'étude d'autres marqueurs cytogénétiques, immunologiques et moléculaires est devenue nécessaire pour décrire le diagnostic de la LAM. Il existe deux principaux systèmes utilisés pour classer les MAMA en sous-types. L'une d'elle est la classification FAB qui était en usage auparavant et a été remplacée par la nouvelle classification de l'OMS après l'avènement de l'ère « moléculaire » (le développement de la cytogénétique, de la biologie moléculaire et des techniques d'immunophénotypage (**Braham-Jmili et al., 2006 ; Mandal, 2013**)).

4-1- Classification FAB

Le groupe Franco-Américain-Britannique (FAB), constitué de médecins et de biologistes, a été développé dans les années 1970 et constitué en 1976 puis révisé en 1985. La première classification consensuelle des LAM sous le nom de FAB, prenait en compte des critères cytologiques et a permis de distinguer la LAM en huit types observables 0 à 7, donc leucémie ou cellules blastiques, le type M0 à M3 appartient à la lignée cellulaire de la granulosa avec blocage au stade médulloblastique de M0, M1 et M2 ou blocage au stade protéolytique de blastes M3 Les types M4 et M5 appartiennent à la lignée monophylétique et sont bloqués au stade monoblastique. Les blastes M6 appartiennent à la monophylétique et sont bloqués au stade pro-érythroblastique. Enfin, les blastes de type M7 appartiennent à la lignée plaquettaire et sont bloqués au stade mégacaryoblaste. Cette distinction repose sur l'apparition de leucémies observées au microscope après coloration au May-Grünwald Giemsa (MGG) (**Karen et al., 2011**).

Les sous-types morphologiques de LAM comprennent également des entités rares non observées dans le système FAB, telles que la leucémie basophile qui a été proposée comme sous-type IX. M8 en 1999. Il a donc pris en compte également des paramètres morphologiques et cytochimiques spécifiques. En comptant les bouffées dans le sang et la moelle osseuse (**Karen et al., 2011**).

4-2- Classification OMS

Développée à la fin des années 1990, cette classification reposait sur la présence ou l'absence d'anomalies cytogénétiques récurrentes en 2001 et complétait la classification des FAB en intégrant des critères génétiques et cliniques. Ainsi que les antécédents pathologiques et thérapeutiques des patients) permet une catégorisation de plusieurs entités de LAM ayant une présentation clinique, une évolution et une réponse différente aux traitements. Elle est également abaissée à 20% le pourcentage de blastes médullaires, nécessaires pour poser le diagnostic. alors c'est une revue biochimique qui utilise une combinaison de toutes ces méthodes (Kebbous et Midouche, 2015).

En 2008, une révision de la classification des LAM a été réalisée en tenant compte des caractéristiques moléculaires. Ils sont donc regroupés sous le nom. Leucémie aiguë myéloïde avec caractéristiques du myélome (LAM - CM) les entités suivantes : LAM survenant après un syndrome myélodysplasique (SMD) connu, LAM sans phase de SMD connue, mais avec dysplasie multilignée et LAM sans phase de SMD connue, mais avec anomalie cytogénétique évocatrice de SMD. De plus, notez que la LAM avec des antécédents de SMD ou avec des antécédents de traitements de chimiothérapie présente certaines caractéristiques qui conduisent à l'établissement de deux nouveaux types de LAM : la LAM avec myélodysplasie « multilignée » et la LAM ou SMD. Le type de LAM avec des marqueurs dysplasiques affectant de nombreuses lignées se développe par la LAM associée à la LAM myélodysplasique associée à cette classe devenant une LAM avec des antécédents de MDS ou de néoplasmes MDS / NMp / myéloprolifératifs (Vardiman, 2010).

Leucémie aiguë myéloïde avec anomalies génétiques caractéristiques des myélodysplasies et enfin LAM avec au moins 50% de cellules dysplasiques dans au moins deux lignées. Le type de chimiothérapie « secondaire » de la LMA/SMD n'est plus divisé en fonction du type de traitement inclus, la plupart des patients recevant à la fois des agents alkylants et des inhibiteurs de la topoisomérase. La LAM n'est pas associée à des anomalies génétiques spécifiques, mais le fait que les patients obtiennent un pronostic bien pire que les patients atteints de LAM *de novo* suggère que d'autres différences biologiques entrent en jeu, de sorte que cette catégorie a été maintenue (Vardiman, 2010).

Un type de LBA n'entrant pas dans les autres catégories peut également se développer. Les leucémies avec différenciation érythroïde ou à cellules géantes ont été reclassées en LAM myélodysplasique, et les leucémies mégalo-blastiques associées à des anomalies génétiques spécifiques ont été reclassées en LAM, certaines anomalies génétiques étant reclassées en LAM avec anomalies génétiques fréquentes (Vardiman, 2010).

Enfin, deux nouveaux groupes ont été constitués : les syndromes prolifératifs dus à la trisomie 21 et les leucémies à blastocytoïdes. Des études moléculaires des anomalies génétiques associées à la leucémie ont permis de caractériser les protéines impliquées dans la formation de la leucémie. Cependant, les études morphologiques restent importantes en raison de la forte association avec des anomalies cytogénétiques et moléculaires concomitantes (**Vardiman, 2010**).

5- Aspects cliniques

Les symptômes cliniques sont très polymorphes, parfois très riches, parfois bas. Il est dominé par des signes déficients en myéloïde, reflétant une propagation plus lente de la tumeur aux lignes myéloïdes et lymphoïdes normales et des manifestations néoplasiques, reflétant une infiltration leucémique dans les organes hématopoïétiques et éventuellement d'autres (**Sébahoun, 2006**).

5-1- Syndromes d'insuffisance médullaire

Ils sont presque toujours présents et associés. On distingue trois tableaux en fonction des cytopénies sanguines :

- **Le syndrome anémique** : associés aux érythrocytes, ils apparaissent souvent de manière significative et rapide en quelques semaines. Conduit à une pâleur cutanéomuqueuse, des manifestations cardiaques (dyspnée, tachycardie et vertiges) et une asthénie (**Sébahoun, 2006**).
- **Le syndrome infectieux** : associée à l'importance de la neutropénie, l'atteinte de la lignée granulocytaire provoque une neutropénie voire une agranulocytose (définie comme un taux de cellules pléomorphes, neutrophiles $<0,5$ g/L), et de la fièvre présente dans la moitié des cas. Les foyers infectieux doivent être recherchés par examen clinique et prélèvements bactériologiques dirigés ou systématiques (hémoculture, prélèvements, peau et gorge buccale, urine, selles) (**Sébahoun, 2006**). Ces contrôles sont effectués périodiquement pendant le traitement. Les foyers les plus fréquents sont Oto-Rhino-Larynx (ORL) ou champ cutané (angine, stomatite, pneumonie et/ou lésions infectées) qui répondent mal aux antibiotiques usuels, infection souvent bactérienne, rarement variable ou fongique (**Sainty, 2006**).
- **Syndrome hémorragique** : il est associé à l'importance de la thrombopénie, le plus souvent du purpura cutané (pétéchies ou ecchymoses), de l'épistaxis et du saignement des gencives. Le danger est l'hémorragie cérébrale méningée, les gros hématomes et les hémorragies aux points de piqûre conduisent à une coagulopathie de consommation (**Sébahoun, 2006**).

5-2- Syndrome tumoral

Il survient particulièrement dans les leucémies aiguës à composante monocyttaire et LAL-T (Mauvieux *et al.*, 2005). Il traduit l'infiltration de l'explosion, qui s'exprime par :

- Hypertrophie des organes hématopoïétiques qui se manifeste par une splénomégalie récidivante, de taille modérée, parfois associée à une hépatomégalie et à une lympho-adénopathie diffuse, symétrique et indolore.
- Atteinte du nerf méningée qui est initialement rare. Il s'agit d'une méningite leucémique détectée par ponction lombaire en présence de méninges de singe ou de paralysie des nerfs crâniens. (Mauvieux *et al.*, 2005).
- Hypertrophie gingivale et atteinte cutanée (nodules rouge-violet indolores, indolores et incrustés dans le derme, mais fortement évocateurs d'une leucémie aiguë myéloïde) (Sébahoun, 2006).

6- Aspects biologiques

Selon l'OMS, le diagnostic des LAM repose sur la détection dans la moelle osseuse ou le sang périphérique de plus de 20% des blastes. Par conséquent, il sera nécessaire dans le cadre du bilan diagnostique d'effectuer une myélographie. Sur sang et moelle osseuse, ils sont évalués après comptage respectivement d'au moins 200 et 500 cellules nucléolaires Les nucléoblastes sont des cellules plus ou moins rondes de taille variable (de 15 à 30 μm) avec un rapport noyau/cytoplasme élevé. Le noyau contient un schéma régulier, de la micro-chromatine et un ou plusieurs nucléoles. Le cytoplasme quant à lui est basal et peut contenir des granules voire un ou plusieurs corps d'Auer, cependant cette description n'est pas adaptée aux monocytes (Krimech, 2020).

Une fois les blastes supplémentaires détectés, il faudra confirmer le caractère myéloïde de ces cellules. L'examen cytologique peut apporter une réponse en mettant en évidence des grains d'azur ou des corps d'Auer mieux encore dans le cytoplasme des blastes. L'examen cytochimique recherchera l'activité myéloperoxydase des cellules blastiques. Si la Myéloperoxydase (MPO) est retrouvée dans plus de 3% des blastes, le diagnostic de LAM peut être posé. À l'inverse, l'activité myéloperoxydase négative ne permet pas d'éliminer certains sous-types de LAM : LAM peu différenciée, monoblastique, érythroïde, mégalo-blastique ou bi-phénotypique, et on peut utiliser d'autres techniques de cytochimie (estérases). L'immuno-profilage des blastes par cytométrie en flux est devenu l'examen de référence, en conjonction avec l'examen cytologique et chimique oculaire, pour déterminer la nature myéloïde ou lymphoïde de la leucémie aiguë (Krimech, 2020)

Cette technique permet de mesurer l'expression d'antigènes spécifiques d'une lignée localisée sur les blastes (en surface ou dans le cytoplasme). Selon le type de balises trouvées toutes ces analyses ont été réalisées sur des blastes médullaires et/ou sanguins (cytologie, cytochimie, cytogénétique conventionnelle ou moléculaire, biologie moléculaire), associées aux caractéristiques des patients, permettant de poser le diagnostic de LAM selon la classification 2008 on peut confirmer le caractère myéloïde de la leucémie aiguë (**Tankéré et al., 2011**).

Depuis l'introduction de la nouvelle classification diagnostique de l'OMS, les analyses génétiques et moléculaires sont devenues des outils de diagnostic et ne sont plus seulement prédictives. Ainsi, le diagnostic de LAM en l'absence d'un taux de blastes > 20% peut être retenu si le caryotype retrouve l'un des défauts cytogénétiques suivants : t(15:17) (q22;q12), t(8:21) (q22;q22), inversion chromosomique 16 inv (16) (p13.1q22) ou t(16:16) (p13.1; q22). Il en est de même pour l'analyse en cytogénétique moléculaire et la recherche des gènes de fusion correspondants en biologie moléculaire (*PML-RARA*, *RUNXI-RUNXITI*, *CBFB-MYH11*) (**Fiancette, 2017**)

En l'absence d'anomalie cellulaire ou moléculaire caractéristique d'un sous-type de LAM, le terme « LAM non identifié » sera retenu et l'examen cytologique standard permettra la classification des LAM selon la classification FAB. Toutes ces analyses ont été réalisées sur des blastes médullaires et/ou sanguins (cytologie, cytochimie, cytogénétique conventionnelle ou moléculaire, biologie moléculaire), associées aux caractéristiques des patients, permettant de poser le diagnostic de LAM selon la classification 2008 de l'OMS (**Ducassou, 2016**).

L'utilisation de la cytogénétique et de la biologie moléculaire permet de mieux définir les entités morphologiques cellulaires (définies dans la classification FAB), d'identifier de nouvelles entités et de mieux comprendre les événements oncogènes à l'origine de cette maladie. Les anomalies chromosomiques et moléculaires rencontrées dans la LAM permettent de déterminer le type de LAM et ont également l'avantage d'être des facteurs pronostiques indépendants, indispensables pour des options thérapeutiques permettant également de surveiller la maladie résiduelle (rechutes) (**Dastugue, 2003**).

7- Le pronostic

Les facteurs pronostiques des LAM ont été largement étudiés par les différents groupes coopératifs impliqués dans le traitement de cette maladie. Les facteurs pronostiques sont les suivants : l'âge (le risque de résistance, de décès durant l'aplasie et de rechute augmente au-delà de 60 ans), l'hyperleucocytose ($> 40\ 000/\text{mm}^3$), type cytologique défavorable (LAM $<$ LAL, LAM4/M5 $<$ LAM1/LAM2, LA inclassables, bi ou multi-phénotypique), le caryotype (bon pronostic : t(1517) inv 16 t(8,21) = LAM2 / mauvais pronostic : anomalies du chromosome 5 et du 7, cassures multiples, etc.), la réponse initiale à la chimiothérapie Rémission Complète (RC) $_2 <$ RC $_1$ (plus d'1 cure de chimiothérapie pour obtenir la RC) et les syndromes tumoral (+++). D'autres facteurs pronostiques sont importants comme le caractère secondaire de la LAM, la classification FAB (M0, M6 et M7 défavorables), l'existence d'une localisation neuroméningée. Moins bien évalués sont les facteurs pronostiques mettant en jeu de façon immédiate le pronostic vital du patient qui, de ce fait, n'entre bien souvent dans aucun protocole en raison de sa gravité initiale ou de son évolution rapidement défavorable (Boissel et Dombret, 2006).

8- Traitement

Sans traitement, la LAM cause rapidement la mort par infection, hémorragie ou troubles respiratoires et cérébraux par augmentation importante des globules blancs. Le but du traitement est d'obtenir la disparition des blastes anormaux de la moelle osseuse et une remontée des polynucléaires, des plaquettes et de l'hémoglobine dans le sang. Cet état est appelé « rémission complète ». Sans traitement complémentaire, la rechute (réapparition des blastes dans la moelle osseuse) est le plus souvent observée. C'est pour cette raison, qu'après le premier traitement, dit d'« induction », les médecins proposent le plus souvent un traitement de « consolidation », et enfin un traitement d'« intensification » comportant soit une allogreffe de moelle, soit une autogreffe, soit d'autres cures de chimiothérapie. Chez les patients au-dessus de 60 ans, des traitements de chimiothérapie intensifs sont plus mal tolérés et les allogreffes de moelle conventionnelle ne sont pas possibles (Castaigne *et al.*, 2004).

CHAPITRE III

GÉNÉTIQUE DES LAM

1- Mécanismes moléculaires dans la leucémogénèse

Les bases génétiques du cancer ont été établies dans les années 1970 par l'étude de modèles expérimentaux de transformation qui ont permis de mettre en évidence l'existence d'oncogènes, transduits par des rétrovirus ou dont la transcription est activée par leur insertion à proximité. Ces premiers oncogènes, dérivant de gènes cellulaires, possèdent un pouvoir de transformation puissant. Pour être transformée, la cellule hématopoïétique normale doit acquérir (ou conserver) des propriétés d'auto-renouvellement, de réponse modifiée aux signaux prolifératifs et antiprolifératifs, une résistance à l'apoptose, et être bloquée en différenciation. Il est admis que la transformation tumorale est un processus multi-étapes qui résulte de l'accumulation d'anomalies génétiques, le plus souvent acquises. Schématiquement, la transformation d'un progéniteur hématopoïétique nécessite la coopération d'au moins deux événements, l'un bloquant la différenciation, l'autre stimulant la survie cellulaire et la prolifération **(Bernard, 2010)**.

Des expériences de xélogreffe dans des souris immunodéficientes ont permis de montrer que seule une fraction des cellules leucémiques est capable de recréer la leucémie dans la souris. Cela révèle une structure hiérarchique de la prolifération dans nombre de leucémies aiguës de type myéloïde (LAM) et indique que toutes les cellules leucémiques ne sont pas équivalentes **(Bernard, 2010)**.

Les événements oncogéniques à l'origine des leucémies aiguës chez l'homme ont d'abord été recherchés par l'étude des anomalies de structure chromosomique. Il a été montré la présence de gènes modifiés au niveau des points de cassure chromosomiques. Deux types de conséquences peuvent être observés :

- L'activation transcriptionnelle d'un gène observée principalement dans les proliférations de type lymphoïde, qui aboutit à la surexpression ou à l'expression ectopique d'un gène souvent normal ;
- La création d'un gène chimérique, par recombinaison entre deux gènes, qui entraîne l'expression d'une protéine de fusion **(El-Bakali, 2021)**.

Chronologiquement, le premier exemple de gène de fusion est la fusion *BCR-ABL* qui résulte de la translocation $t(9;22)(q34;q11)$, responsable du chromosome Philadelphie. Elle est associée aux leucémies myéloïdes chroniques (LMC) et à certaines LA lymphoblastiques (LAL) de type B. La protéine *BCR-ABL* possède une activité tyrosine-kinase constitutive qui est la cible d'une série d'inhibiteurs développés récemment. Ces nouvelles molécules ont permis une nette avancée dans le traitement des LMC **(Ravinet et al., 2011)**.

2- Altérations géniques rencontrées dans les LAM

Depuis le début du 20^{ème} siècle, une relation entre les anomalies chromosomiques et les cancers a été observée. Dans les années 1970, plusieurs études ont montré que les cellules cancéreuses ont des motifs chromosomiques différents des cellules normales. **Gilliland et al** ont proposé en 2001 l'hypothèse que le mécanisme de la leucémogénèse se déroule en plusieurs étapes par l'accumulation de mutations de type 1, offrant un avantage prolifératif, et de type 2, entravant le processus de différenciation myéloïde. Les deux mutations forment des groupes complémentaires et il est rare de trouver deux mutations du même groupe dans la LAM, sauf pour le cas particulier de l'*AML1 (RUNX1)* et de la *MLL* qui appartiennent au même groupe complémentaire, mais ont une occurrence commune (**Dastugue, 2003**). Certaines des mutations récemment identifiées n'ont pas encore été classées dans l'un ou l'autre des groupes, car leurs conséquences ne sont pas encore bien définies. De plus, 55% des patients présentent des anomalies au niveau chromosomique et 45% ont un caryotype normal, mais des variances de mutations très élevées au niveau génétique. Reconnaître ces anomalies est important pour comprendre leur physiopathologie, identifier les facteurs pronostiques et développer des thérapies plus ciblées (**Fröhling et al., 2005**). Les anomalies génétiques trouvées dans la LAM sont variées et concernent des translocations chromosomiques, des mutations ponctuelles, des duplications et des inversions. On note également l'implication des mécanismes épigénétiques dans l'hématopoïèse. L'apparition d'un si grand nombre d'anomalies est vraisemblablement liée à l'instabilité du génome du blast et ces perturbations pourraient résulter de l'édition de gènes impliqués dans le maintien de l'intégrité du génome et dans sa formation (**Mahfoudhi, 2016**).

Au sein des myélopathies malignes, les SMD et la LAM représentent des maladies complexes et hétérogènes causées par des anomalies clonogéniques des cellules souches myéloïdes. Elle se caractérise par une hématopoïèse inefficace, qui provoque une leucopénie aiguë. La connaissance des anomalies moléculaires des syndromes myélodysplasiques et de la LAM, en particulier avec des caryotypes normaux, est généralement faible et leur physiopathologie est encore mal comprise. Une meilleure identification moléculaire est nécessaire pour une évaluation prédictive plus précise de l'hémopathie et pour améliorer secondairement les stratégies thérapeutiques. Cette lettre donne un aperçu des classifications cytogénétiques et moléculaires actuelles du SMD et de la LAM ainsi qu'un examen de certaines des altérations moléculaires rencontrées dans ces maladies (**Fenaux et Dreyfus, 2000**).

Grâce à l'apport des techniques d'analyse génomique à grande échelle, notamment array-CGH, notre laboratoire a découvert de nouvelles modifications épigénétiques, notamment des mutations du gène *ASXL1*, ainsi que des altérations des gènes codant pour les protéines et les régulateurs de la Cohésine, de la protéine CBL. Nous avons analysé un groupe de mutations génétiques et émis l'hypothèse d'un modèle de leucémogénèse avec 4 classes de mutations, afin de mieux comprendre la physiopathologie des syndromes myéodysplasiques et de la mononucléose (**Rocquain, 2010**).

2-1- Mutations de type 1

Les mutations de type I sont des mutations qui offrent des avantages de prolifération et/ou de survie aux progéniteurs hématopoïétiques en dérégulant des voies de signalisation spécifiques telles que celles impliquant *N-RAS*, *K-RAS* (neuroblastome et Kirsten-RAS), *FLT3*, *c-KIT*. Les mutations de type 1 seules conduisent à une maladie similaire à la leucémie myéloïde chronique caractérisée par une prolifération accrue de globules blancs, mais ces cellules sont matures et fonctionnelles (**Fröhling et al., 2005**).

2-1-1- *N-Ras* et *K-Ras*

Les protéines RAS appartiennent à une famille de petites protéines membranaires qui régulent les signaux de transduction pour plusieurs récepteurs. Ils jouent un rôle essentiel dans la régulation de la prolifération, de la différenciation et de l'apoptose cellulaire en établissant un équilibre entre la forme active (GTP) et la forme inactive (GDP). Il existe trois gènes fonctionnels : *N-RAS*, *K-RAS* et *H-RAS*. Les mutations de ces gènes ont été les premières décrites dans la maladie myéloïde la protéine N-RAS est codée par le gène N-RAS situé en position 1p13. Les mutations affectent préférentiellement les codons G12, G13 et Q61, entraînant une perte de l'activité GTPase et provoquant ainsi une activation essentielle des protéines et des voies de signalisation en aval (RAF, MAPK, ERK) (**Reneville et al., 2008**). Les voies de signalisation impliquant les gènes *RAS* sont activées par un large éventail de cytokines et jouent un rôle important dans la prolifération et la survie des progéniteurs hématopoïétiques en activant la voie des MAPK. Des mutations activant l'oncogène primaire *RAS* sont retrouvées dans divers types de tumeurs et dans 15 à 25% des LAM. Ces mutations ne sont pas associées à des anomalies spécifiques du caryotype, ni à des caractéristiques cliniques ou évolutives de la LAM (**Thomas et Elhamri, 2005 ; Bacher et al., 2006**).

2-1-2- *FLT3*

Le gène *FLT3* (Fms tyrosine kinase 3), localisé sur le chromosome 13, code pour un récepteur transmembranaire de 933 acides aminés, à activité tyrosine kinase exprimé à la surface des progéniteurs hématopoïétiques normaux de la moelle osseuse, en particulier des cellules souches cancéreuses. Son ligand est exprimé et sécrété par les cellules du microenvironnement myéloïde conduisant à son activation (**Nakao et al., 1996**). Sa stimulation réduit l'apoptose et active la prolifération cellulaire via la voie de signalisation JAK/STATS (**Hayakawa et al., 2000**). Des mutations activatrices de cette protéine sont retrouvées dans plusieurs hémopathies. *FLT3* est largement exprimé dans les LAM (entre 70% et 100% des LAM de tous les types de FAB) et cette surexpression joue un rôle dans la survie et la propagation des blastes leucémiques. De plus, il existe deux mutations activatrices de ce récepteur trouvées dans la LAM ; des duplications internes en tandem de la séquence alternée située dans la région transmembranaire du récepteur (*FLT3-ITD* : *FLT3-Internal Tandem Duplex*), et des mutations ponctuelles au niveau de la boucle d'activation du domaine kinase (*FLT3-TKD* : *FLT3-Tyrosine Kinase Domaine*) (**Gilliland et Griffin, 2002**). La mutation *FLT3-ITD* est retrouvée dans 25 à 30% des cas, les doublons présents sont très variables, mais toujours dans le cadre de lecture et entraînent une perte de fonction du domaine inhibiteur. Ces mutations sont associées à un mauvais pronostic. Des mutations ponctuelles *FLT3-TKD* sont retrouvées chez 7% des patients entraînent la formation d'anneaux actifs et donc une meilleure liaison de l'ATP et de son substrat. La relation entre ces mutations et leur apparition en termes de pronostic est encore sujette à débat (**Scholl et al., 2009**). Les deux types de mutations conduisent principalement à la réplication, l'activation et l'autophosphorylation du récepteur. Ce changement se traduit par l'activation des voies PI3K/AKT, PLCY, STAT5 et RAS/ERK impliquées dans la prolifération et la survie cellulaire (**Mrózek et al., 2007**).

2-1-3- *C-Kit*

Le gène *KIT* est localisé sur le chromosome 4 (4q12) code pour la protéine c-KIT (ou CD117), décrite pour la première fois en 1987 (**Belson, 2007**). Ce récepteur à activité tyrosine kinase est présent à la surface des CSH et est activé en présence de facteurs de cellules souches (SCF) (**Mrózek et al., 2008**). Des mutations activatrices dans le domaine extracellulaire ou la boucle d'activation ont été trouvées chez 20 à 30% des patients présentant des aberrations chromosomiques spécifiques telles que t(8:21) et inv (16). Elles sont classées en trois groupes : soit une mutation ponctuelle dans l'exon 17, une insertion ou délétion sans changement de cadre de lecture dans l'exon 8, soit une répétition en tandem dans l'exon 11 (**Duployez et al., 2016**).

Ces mutations sont instables en rechute. Concernant l'impact pronostique de ces mutations, les résultats restent controversés : elles ont un pronostic défavorable dans la LAM-CBF en termes de rechute et de SSR, mais n'ont pas de bénéfice pronostique en termes de RC et de taux osseux (**Duployez *et al.*, 2016**).

2-1-4- *CBL*

Le gène *CBL* (Casitas B-cell Lymphoma) code pour une ubiquitine ligase qui cible et dégrade une variété de tyrosine kinases. Des mutations dans ce gène empêchent l'absorption et l'ubiquitylation de FLT3 et augmentent ainsi l'amplitude et la durée de la signalisation de ce récepteur. (**Sargin *et al.*, 2007**).

2-1-5- *PTPNII*

Le gène *PTPNII* est localisé sur le chromosome 12 et code pour une protéine cytoplasmique à activité tyrosine phosphatase (appelée aussi SHP-2). Cette phosphatase est fortement exprimée dans les cellules hématopoïétiques. Il participe à la transduction du signal en aval des facteurs de croissance, des cytokines, des hormones et des molécules d'adhésion en partie via la voie RAS/MAPK. Ces mutations provoquent un défaut dans la transmission/active de la forme inactive de la phosphatase, mais leur rôle dans la pathogenèse de la LAM reste à déterminer. Il ne semble pas avoir de valeur prédictive (**Takahashi, 2011**). Elles sont présentes dans de nombreuses myélopathies LMMJ (35%), LAM (4% en pédiatrie vs 2,5%) chez l'adulte) (**Benakli, 2009**).

2-1-6- *JAK2*

JAK2 (JANus Kinase 2) est constituée de protéines à activité tyrosine kinase cytoplasmique impliquée dans la transduction de signaux déclenchés par de nombreux facteurs de croissance et récepteurs de cytokines nécessaires à l'hématopoïèse dans les voies de signalisation, de la survie et de la prolifération cellulaire. Cette protéine est codée par un gène situé sur le chromosome 9 en position 9p24. Il existe deux principaux types de mutations : soit une mutation ponctuelle dans le domaine Pseudo-kinase JH2 avec une activité auto-inhibitrice (exon 14 c.1849G>T:p.V617 dans l'exon 16 (R683G/S), soit une mutation ponctuelle ou 'in- frame' au niveau de l'exon 12. Des mutations actives de JAK3 (chromosome 19p13.11), situées dans les domaines pseudo-kinase JH2 et JH6, sont à l'origine du développement de la LAM mégacaryocytaire. Des mutations dans ce récepteur conduisent à une activité kinase accrue et à l'activation de voies en aval telles que STAT5. La dérégulation de la voie JAK/STAT joue un rôle dans la pathogenèse de la myélopathie comme SMP et LAM (<10%) (**Yu et Jove, 2004**).

La mutation *JAK2* est retrouvée chez 70% des patients atteints de LAM précédée d'un SMP, mais est rare dans la LAM *de novo* (Renneville *et al.*, 2008).

2-2- Mutations de type 2

Les mutations de type 2 sont liées aux capacités de différenciation et d'apoptose. Elles correspondent principalement à des aberrations chromosomiques de type transition. Plusieurs translocations chromosomiques ont été trouvées dans la LAM ; Ils conduisent à la formation de protéines chimériques (de fusion) impliquées dans la pathogenèse. Certaines anomalies chromosomiques ont été identifiées comme des entités distinctes, en raison de leurs caractéristiques cliniques et biologiques spécifiques, dans le sous-groupe des LAM avec des anomalies cytogénétiques fréquentes (OMS, 2008). Les plus courants sont les suivants :

2-2-1-Translocation concernant *CBF*

Le gène *AML1* code pour CBF α , l'une des deux sous-unités du facteur de transcription CBF. Il est souvent impliqué dans de nombreuses anomalies chromosomiques observées dans de nombreuses hémopathies malignes humaines. Le gène qui code une autre sous-unité CBF, CBF β , est également traduit par translocation dans un type de leucémie myéloïde aiguë. Outre les effets spécifiques de ces oncoprotéines, une conséquence commune et principale de ces anomalies semble être une perturbation de la fonction CBF. L'analyse de modèles murins indique qu'un second événement est nécessaire pour l'acquisition d'un phénotype de cancer (Poirel et Bernard, 2000). Il s'agit d'un facteur de transcription à deux sous-unités, CBF α (appelé aussi *AML1* ou *RUNX1*) et CBF β . *RUNX1* interagit directement avec l'ADN et CBF β interagit avec *RUNX1* et permet l'activation transcriptionnelle. Le CBF régule l'expression de plusieurs gènes impliqués dans la différenciation hématopoïétique (IL-3 et GM-CSF) et la maturation des lymphocytes T et B (Dash et Gilliland, 2002). Le CBF est critique pour l'hématopoïèse normale et est la cible de nombreux réarrangements dans la LAM, deux sous-groupes classés dans la classification de l'OMS de 2008 : *RUNX1/ETO* et *CBFBIMYHII*. Ces translocations concernent 10 à 15% des LAM et ont un bon pronostic (Scholl *et al.*, 2009).

2-2-2- *PML / RAR α*

Certaines LAM sont caractérisées par une translocation t(15;17) qui correspond à la présence d'ARN en RT-PCR entre les gènes *PML* (leucémie myéloïde) et *RAR α* (acide rétinoïque). Ce transcrite de fusion a également été retrouvé dans certains cas de LAM3 à caryotype normal par cytogénétique classique. Le bon pronostic habituel de LAM3 est en corrélation avec sa réponse à l'acide tout rétinoïque (ATRA). Un sous-ensemble de cas rares de LAM3 ont été identifiés qui ont une translocation qui inclut également *RAR α* sur le chromosome 17, mais est associée à un autre partenaire (*PLZF*, sur le chromosome 11). La LAM3 à t(11;17) semble avoir un très mauvais pronostic, caractérisé par une absence de réponse à l'ATRA *in vivo* et *in vitro* lorsqu'elle peut être testée. Des doses pharmacologiques d'ATRA sont utilisées pour traiter les patients présentant ce réarrangement (**Martens et Stunnenberg, 2010**).

2-2-3- *MLL*

Le gène *MLL* (Mixed-Lineage Leukemia), qui est homologue au gène triplet de *Drosophila*, situé dans la bande chromosomique 11q23, est souvent réarrangé dans plusieurs types de leucémie, principalement après des translocations chromosomiques. Dans différentes translocations chromosomiques, la partie N-terminale de la *MLL* est fusionnée avec la séquence du gène partenaire. Malgré le grand nombre de partenaires de fusion rapportés, peu de fusions *MLL* ont été bien caractérisées moléculairement (**Chaker, 2010**). Il code pour un facteur de transcription de 431 kDa qui contient de nombreuses sous-unités : trois domaines de liaison et de flexion de l'ADN, un domaine d'homologie avec transfert de méthyle et plusieurs domaines d'activation ou de répression transcriptionnelle. Elle est exprimée dans toutes les cellules hématopoïétiques, en particulier dans les CSH et est impliquée dans l'activation de nombreux stimuli, notamment ceux qui régulent l'expression des gènes HOX (Homeobox). Ces gènes codent pour des facteurs de transcription impliqués dans le développement de multiples tissus et en particulier du système hématopoïétique. La *MLL* est l'une des cibles de leucémie les plus courantes dans la LAM, la LAL et la leucémie bi-phénotypique aiguë. En fait, il existe plus de 50 traductions affectant ce gène et cette traduction se retrouve dans environ 10% de toutes les LAM (**Goyama et Mulloy, 2011**).

2-3- Mutations non classées

La liste des gènes susceptibles d'être impliqués dans la LAM s'allonge de plus en plus grâce aux nouvelles technologies comme le criblage génétique à haut débit.

2-3-1 DNMT

Des mutations de du gène DNMT (DNA Methyl Transferases) ont été identifiées par séquençage d'ADN à haut débit de patients atteints de LAM et ont été retrouvées chez 22% d'entre eux (**Ley et al., 2010**). Les DNMT sont des enzymes qui catalysent le transfert d'un groupe méthyle aux résidus cytosine présents dans les dinucléotides CpG. Il existe 4 isoformes de DNMT et DNMT3a assurent la méthylation *de novo* de l'ADN. La méthylation de l'ADN laisse une marque répressive et s'oppose ainsi à l'expression des gènes. Les anomalies de la méthylation de l'ADN sont également associées à un grand nombre de maladies, dont la première est le cancer. Les mutations de la *DNMT* n'altèrent pas de manière significative la méthylation globale de l'ADN, mais la méthylation de certains gènes, tels que les gènes HOX, est affectée. Ces mutations sont associées aux mutations *FLT3*, *NPM1* et *IDH* et donnent un mauvais pronostic pour B-TET2 (TET) (**Boissel et al., 2010**).

2-3-2- TET2

Ce gène a récemment été identifié comme un gène candidat comme suppresseur de tumeur dans les SMD et SMP et dans les LAM grâce au séquençage d'ADN à haut débit des cellules de patients. Dans cette étude, des mutations de ce gène ont été trouvées chez 27% des patients atteints de LAM. Les protéines TET sont impliquées dans la régulation épigénétique. Ils sont capables de convertir les cytosines méthylées en hydroxy-méthyl-cytosines, formes intermédiaires de déméthylation des cytosines, et ont ainsi un rôle dans la déméthylation de l'ADN. Les mutations de *TET2* dans la LAM entraînent une diminution du taux d'hydroxy-méthyl-cytosine, de sorte que cette perturbation pourrait être liée à l'hématopoïèse via la participation à l'hyperméthylation souvent observée dans les cancers. Ces mutations sont mutuellement exclusives avec les mutations *IDH1/IDH2* et leur impact pronostique n'est pas encore clair (**Döhner et Gaidzik, 2011**).

2-3-3- IDH1/IDH2

Ce gène a été identifié par séquençage du génome entier de patients atteints de LAM. Cet examen a révélé des mutations déjà identifiées, mais aussi des mutations *IDH1* qui n'ont jamais été observées. De plus, les IDH sont une nouvelle classe de protéines qui ont été mutées au cours de la leucémogénèse, car ce sont des enzymes métaboliques. Ces protéines catalysent la décarboxylation oxydative de l'isocitrate en -cétoglutarate avec formation de NADP(H) (nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate (H)). Ils sont impliqués dans le métabolisme cellulaire au niveau de la synthèse des lipides, de la protection contre le stress oxydatif et de la transduction du signal par l'oxygène (**Boissel et al., 2010**).

Les patients porteurs de mutations de ces gènes ont une hyper-méthylation anormale dans leur génome, qui s'explique par la production d'un métabolite anormal : le 2-hydroxy-glutarate qui inhibe la déméthylation initiée par TET2. Les mutations *IDH* et *TET2* sont également mutuellement exclusives (**Takahashi, 2011**). Deux études ont analysé la fréquence et la valeur pronostique de ces mutations. Ces études montrent qu'elles touchent entre 11% et 16% des patients, qu'elles sont souvent associées à un caryotype normal, des mutations *NPM1* et *MLL* et enfin qu'elles sont associées à un risque élevé de rechute et de survie moindre (**Boissel et al., 2010**).

2-3-4- *NPM1*

La nucléophosmine-1 (*NPM1*) est un gène central codant pour une protéine nucléocytoplasmique, qui effectue une translocation entre le noyau, le noyau et le cytoplasme, mais reste principalement localisée dans le noyau. *NPM1* joue plusieurs rôles, notamment la stabilisation de la protéine suppresseur de tumeur p14ARF, la régulation de la biogenèse des ribosomes, le contrôle de la duplication des centrosomes, la réponse aux stimuli de stress et l'activation de p53. *NPM1* est l'un des gènes mutés les plus courants dans la LAM, représentant environ un tiers des patients (LAM avec *NPM1c*). Dans les protéines mutantes *NPM1c*, deux résidus tryptophane sont perdus à l'extrémité C-terminale et un signal d'exportation nucléaire est généré. Ceci conduit à une accumulation ectopique et aberrante de la protéine *NPM1c*, ainsi que de la protéine normale *NPM1*, dans le cytoplasme des blastes. Cela joue un rôle majeur dans la formation de la leucémie et l'établissement de la LAM. Des mutations de ce gène sont retrouvées chez 46% à 62% des patients atteints de LAM avec un caryotype normal (**Mròzek et Bleemfield, 2006**) et 25% à 35% de tous les patients atteints de LAM. Ces mutations donnent lieu à une séquence d'export vers le cytoplasme et conduisent à une localisation cytoplasmique aberrante (**Falini et al., 2005**). Toutes les mutations de ce gène entraînent une modification de sa distribution cellulaire, indiquant qu'il a un rôle dans l'hématopoïèse et qu'il interfère probablement avec les fonctions de la nucléophosmine. Cette dernière joue le rôle d'une protéine chaperon dans le noyau permettant de multiples interactions protéiques. Il a un rôle critique dans la cellule ; il empêche l'accumulation de protéines nucléaires, régule l'assemblage des protéines ribosomiques et est essentiel pour la transcription, la réplication et la réparation de l'ADN. Il est également impliqué dans la régulation de plusieurs voies de signalisation telles que l'ARF (ADP ribosyl-binding factor) et p53. On ne sait pas encore comment la nucléophosmine contribue à la LAM, mais de plus en plus de preuves suggèrent que les LAM mutées par *NPM1* peuvent constituer un sous-type distinct de LAM avec des caractéristiques pathologiques, immunologiques et pronostiques spécifiques (**Mròzek et Bleemfield, 2006**).

Les LAM mutantes *NPM1* ont également été ajoutées en tant qu'entité temporaire dans la classification de l'OMS de 2008 (Falini *et al.*, 2011). De plus, les mutations du *NPM1* sont mutuellement exclusives avec d'autres anomalies récurrentes classées dans la catégorie des LAM avec des anomalies génétiques fréquentes, mais significativement présentes avec la mutation *FLT3-ITD*. Cela indique que les altérations de *NPM1* pourraient faire partie des ajouts de type 2. Les mutations *NPM1* sans anomalies *FLT3-ITD* sont classées dans le groupe des anomalies génétiques à pronostic positif (Marrucci *et al.*, 2003). La protéine de la leucémie myéloïde (LMP) régule les nucléocorps (NC) qui contrôlent la protéolyse et la sénescence induites par la voie p53. Les CN *PML* sont régulés à la baisse dans les LAM avec *NPM1c*. L'acide rétinolique (AR) est une hormone qui favorise la différenciation des cellules myéloïdes (Hleihel, 2019).

2-3-5- *ASXL1*

Les gènes *ASXL* (*ASXL1*, *ASXL2* et *ASXL3*) sont des homologues mammifères du gène des peignes sexuels supplémentaires (*Asx*) trouvés chez la drosophile. Ce gène code pour une protéine impliquée dans la régulation du remodelage de la chromatine (Falini *et al.*, 2011). La fonction de cette protéine dans la LMC est inconnue, mais une étude a révélé 10% de mutations de ce gène chez les patients testés (Chou, 2011).

2-3-6- *WT1*

Le gène *WT1* code pour un facteur de transcription exprimé dans les progéniteurs CD34+ du système hématopoïétique, mais pas dans les leucocytes matures. Il est fortement exprimé dans la LAM, et par conséquent son effet sur la leucémogénèse a été étudié. Mais bien que des mutations du gène *WT* dans les hémopathies malignes aient été découvertes il y a plus de 10 ans, son rôle exact dans l'hématopoïèse normale et maligne n'a pas encore été clairement établi. Il a été impliqué dans la régulation de la survie, de la prolifération et de la différenciation cellulaires. Ces différences peuvent s'expliquer par la diversité des tissus étudiés et les différents transcrits possibles de *WT1*. Des mutations *WT1* sont retrouvées dans 10 à 13% des LAM à caryotype normal, mais leur effet pronostique n'a pas été démontré (Owen *et al.*, 2010).

2-3-7- *BAALC*

Ce gène code pour une protéine dont la fonction est inconnue, mais dont le niveau d'expression est particulièrement élevé chez certains patients atteints de LAM. Plusieurs études ont démontré sa valeur pronostique avec une diminution de la survie globale pour ces patients (Takahashi, 2011).

2-3-8- *ERG, EVII et MNI*

L'*ERG* (Ets-related gene) est un effecteur en aval de plusieurs voies régulatrices liées à la prolifération, l'apoptose et la différenciation. *EVII* (Environmental Viral Integration 1) provoque des tumeurs hématopoïétiques dans des modèles murins, et finalement *MNI* (MeNingioma) est un activateur transcriptionnel. Leurs rôles exacts dans la formation de la leucémie sont inconnus. Cependant, l'augmentation de l'expression de ces trois gènes indique un pronostic défavorable selon plusieurs études (**Scholl *et al.*, 2009**).

2-3-9- *P53*

Le gène *p53* est un gène suppresseur de tumeur qui code pour une protéine impliquée dans la surveillance de l'intégrité du génome. En effet, les dommages à l'ADN conduisent à l'activation de ce facteur de transcription qui à son tour active la transcription de gènes impliqués dans l'arrêt du cycle cellulaire, la réparation de l'ADN et l'apoptose. *p53* est inactivé dans la LAM par des délétions et des mutations ponctuelles. Ces mutations conduisent à l'instabilité du génome et à l'inhibition de la mort cellulaire programmée. Elle est retrouvée dans moins de 10% des LAM *de novo* (**Takahashi, 2011**)

2-4- Épigénétique des LAM

Dans les hémopathies malignes aiguës, les profils épigénétiques étudiés ont révélé des altérations de la méthylation et de l'hydroxy-méthylation des cytosines au niveau de l'ADN, ainsi que des altérations de la méthylation et de l'acétylation des lysines des histones (**Chung et Schatoff, 2012**). Dans les LAM, les modifications des histones ont été associées à des mutations affectant des gènes régulateurs épigénétiques tel qu'*ASXL1*, ou à des surexpressions d'oncogènes spécifiques, tel que pour *EZH2*. Dans environ 20% des LAM avec un caryotype normal, une mutation inactivatrice du gène codant l'ADN méthyltransférase 3A (*DNMT3A*) a été mise en évidence (**Schoofs *et al.*, 2011**).

Dans la majorité des cas, ces mutations n'affectent qu'un seul des deux allèles de *DNMT3A*. Ces mutations de *DNMT3A* semblent perturber l'auto-renouvellement des cellules souches hématopoïétiques normales dans des modèles murins. Par ailleurs, chez l'homme, elles ont été retrouvées dans des cellules à un stade pré-leucémique, leur conférant un avantage de prolifération par rapport aux cellules non-mutées. Il n'a pas été mis en évidence de trouble global de la méthylation des cytosines de l'ADN chez les patients ayant un mutant de *DNMT3A*. Cependant certaines zones préférentielles du génome pourraient être perturbées sur le plan de la méthylation, comme cela semblerait être le cas au niveau du locus *HOXA* (**Pedrono, 2014**).

Moins fréquentes sont les mutations d'*IDH1*, d'*IDH2* et de *TET2* dans les LAM. Ces mutations entraînent toutes une modification très significative de l'ensemble du méthylome des blastes mutés, avec acquisition d'un état hyperméthylé global. Ces mutations ont aussi été associées à un pronostic défavorable (**Itzykson *et al.*, 2012**).

Il faut garder à l'esprit que de nombreuses translocations ou inversions chromosomiques aboutissant à un gène de fusion et à une protéine chimérique perturbent le méthylome des blastes leucémiques. C'est par exemple le cas de la t(15:17) des LAP. En effet, dans ce sous type de LAM, une interaction existe entre la protéine oncogénique de fusion PML-RAR α et la machinerie épigénétique. Ainsi, PML-RAR α est responsable de la répression du gène RAR β 2. Au moins pour ce dernier, il a été montré que PML-RAR α pouvait recruter à la fois les ADN méthyltransférases et les histones déacétylases. Par ailleurs, le traitement des cellules de LAP par de l'ATRA entraîne une déméthylation du promoteur de RAR β 2, la réexpression du gène, et la reprise du processus de différenciation cellulaire (**Schoofs *et al.*, 2011**).

Une autre étude a montré le rôle clef des processus épigénétiques aberrants dirigés par PML-RAR α dans les LAP. Il a été ainsi montré que PML-RAR α contrôlait sélectivement l'expression de gènes lié à la leucémogénèse ; ceci par un mécanisme qui dépendait de la modification des histones tel que la déacétylation de l'histone H3 et la triméthylation de la lysine en position 9 de l'histone H3 (H3K9me3) (**Schoofs *et al.*, 2011**).

3- Cytogénétique des LAM

Le caryotype est un examen indispensable lors de l'évaluation d'une LAM au diagnostic car les anomalies cytogénétiques détectées constituent l'un des plus puissants facteurs pronostiques indépendants de cette pathologie. Il fait partie du choix du traitement dans les essais thérapeutiques. Tous les chromosomes peuvent être remaniés, certaines anomalies chromosomiques sont récurrentes et sont dans certains cas associées à un type cytologique bien défini. Dans environ 40% des cas, le caryotype est normal et le bilan diagnostic doit alors être complété par des études en biologie moléculaire qui permettent d'affiner le pronostic de ces patients. La place du caryotype est plus limitée dans le suivi des LAM du fait d'une sensibilité limitée, mais il garde tout son intérêt lors de la prise en charge des rechutes (**Luquet *et al.*, 2016**).

Depuis 2001, la classification OMS des hémopathies intègre les données de la cytogénétique. La prise en charge d'une LAM ne peut donc pas être adéquate sans les résultats du caryotype (**Luquet *et al.*, 2016**).

3-1- LAM avec translocations récurrentes fréquentes

Les translocations récurrentes ont deux mécanismes d'action différents. Le plus fréquent est la formation d'un gène chimérique issu de la fusion de deux gènes (fragment 5' d'un gène et fragment 3' d'un second gène) avec production d'un ADN chimérique codant pour une protéine hybride à activité oncogénique. Plus rarement, elles entraînent une hyper expression d'un proto-oncogène structurellement intact (Zhang et Rowley, 2006).

- **LAP avec t(15;17)(q24;q21) ; PML-RARA et translocations variantes :** cette translocation induit la fusion du gène *PML* (Pro-Myelocytic Leukemia) relocalisé en 15q24 avec le gène *RAR α* (17q21) codant pour le récepteur alpha de l'acide rétinoïque. La protéine chimérique *PML/RAR α* induit la formation d'un récepteur altéré de l'acide rétinoïque entraînant un blocage de la différenciation myéloïde au stade promyélocytaire (Chomienne *et al.*, 1990).
- **LAM impliquant le gène CBF (Core Binding Factor) :** regroupent les LAM avec des mutations impliquant le gène *RUNX1* et le gène *CBFB* qui codent respectivement pour les sous unités α et β du complexe CBF, un facteur de transcription impliqué dans l'hématopoïèse normale.
 - **LAM avec translocation t(8;21)(q22;q22) ; RUNX1-RUNX1T1 :** cette translocation induit la formation d'un gène de fusion entre les gènes *RUNX1* (*AML1*, *CBFA*) localisé en 21q22 et *RUNX1T1* (*ETO*) localisé en 8q22.
 - **LAM avec inv(16)(p13q22) ou t(16;16)(p13;q22) ; CBFB-MYH11 :** l'inversion (16) ou beaucoup plus rarement la t(16;16) entraîne la formation d'un gène de fusion entre les gènes *CBFB* localisé en 16q22 et *MYH11* localisé en 16p13 qui code pour une chaîne lourde de la myosine du muscle lisse (Paschka *et al.*, 2013).
- **LAM avec réarrangements du gène MLL (KMT2A) :** le gène *MLL* est localisé sur le bras long du chromosome 11 en 11q23. Il code pour un régulateur épigénétique impliqué dans les modifications post-traductionnelles des histones. Les points de cassure dans le gène *MLL* sont regroupés entre les exons 5 et 11 dans une zone appelée le *BCR* (Breakpoint Cluster Region) et dans les LAM les points de cassure affectent préférentiellement l'exon 9 (De Braekeleer *et al.*, 2005).

3-2- Anomalies de nombre

Les monosomies et trisomies partielles ou totales d'un chromosome sont souvent observées dans les LAM au diagnostic ou comme anomalies additionnelles au cours de l'évolution de la maladie. Leur rôle dans la leucémogénèse et leur signification pronostique commencent à être connus pour certaines, mais restent discutés pour d'autres (**Mugneret et al., 2003**).

3-2-1- Monosomies

- **Délétion interstitielle du bras long d'un chromosome 5 ou la perte d'un chromosome 5** : une anomalie fréquente dans les SMD et les LAM. Dans les LAM *de novo*, cette anomalie représente 7% des caryotypes anormaux (**Heim et al., 1995**).
- **Délétion interstitielle du bras long d'un chromosome 7 ou la perte d'un chromosome 7** : c'est une anomalie récurrente des désordres myéloïdes, 10% des patients présentant un syndrome myélodysplasique ou une LAM *de novo* (**Le Beau et al., 1996**). Comme pour le chromosome 5, plusieurs régions sont impliquées (7q22 et 7q32-34) et des gènes suppresseurs hypothétiques ont été évoqués dont le gène *PIK3CG* en 7q22 (**Kratz et al., 2002**).
- **Les translocations déséquilibrées entre les chromosomes 1 et 16** : elles conduisent à des monosomies 16q et des trisomies 1q (**Busson-Le Coniat et al., 1999**).
- **Les isochromosomes** (**Yu et al., 2006**).

3-2-2- Trisomies

Identifiées dans 10% des LAM avec anomalies cytogénétiques, les trisomies isolées comme les trisomies 8, 11, 13 et 21 représentent un facteur pronostique indépendant, mauvais en première rémission. D'autres trisomies dont les trisomies 4, 14, 15, 19 et 22 sont rencontrées (**Yu et al., 2006**).

3-3-3- Trisomies partielles

Elles sont souvent liées à la présence de translocations déséquilibrées ou de dicentriques conduisant à des trisomies partielles associées à des monosomies partielles. L'exemple classique est celui du del(7) par t(1;7) dicentrique ou non correspondant à une trisomie 1q et une monosomie 7q. Cette anomalie est trouvée dans 30 % des LAM précédées d'un SMD : son pronostic est pauvre (**Julian, 2010**).

4- Biologie Moléculaire des LAM

Les progrès en biologie moléculaire ont secondairement permis de caractériser le groupe hétérogène des patients avec un caryotype de risque dit intermédiaire, dont la majorité sont en fait normaux (**Ferrara et Schiffer, 2013**). Grâce aux techniques de biologie moléculaire, de nombreuses mutations ont été identifiées chez ces patients, permettant de mieux préciser leur pronostic. Aujourd'hui la recherche de mutations au niveau des gènes *NPM1*, *FLT3* et *CEBPA* est réalisée en routine (**Falini et al., 2005**). La duplication interne en tandem de *FLT3* (FLT3-ITD) est associée à un pronostic défavorable (**Whitman et al., 2001**). En son absence, les mutations de *NPM1* sont de pronostic favorable, tout comme les doubles mutations de *CEBPA*. Des mutations au niveau d'autres gènes ont été identifiées, dont la valeur pronostique n'est pas totalement précisée. En effet, certaines, comme celles affectant *DNMT3A*, peuvent être détectées en combinaison avec des mutations au niveau de *FLT3* et/ou de *NPM1* par exemple, rendant plus difficile l'analyse de leur potentiel pronostique (**Ferrara et Schiffer, 2013**).

5- Gène *MTHFR* et LAM

5-1- *MTHFR* et métabolisme des folates :

Le gène *MTHFR* code pour une enzyme qui catalyse la réduction irréversible du 5,10-méthylène Tétra-Hydro-Folate (5,10-méthylène-THF) en 5-méthyl-THF, avec la Flavine Adénine Dinucléotide (FAD) comme cofacteur. Le 5-méthyl-THF qui est formé au niveau hépatique après absorption de l'acide folique et qui est la forme circulante majeure des folates, sert alors de substrat pour la reméthylation de l'homocystéine en méthionine grâce à la méthionine synthase qui a la vitamine B12 comme cofacteur. La méthionine est un acide aminé soufré essentiel présent dans les œufs, la caséine, le lait et la viande. Elle permet la biosynthèse *de novo* de S-Adénosyl-Méthionine (SAM) qui est le principal donneur de radicaux méthyl chez l'homme. Il est à noter que la *MTHFR* est inhibée par la SAM. Le 5,10-méthylène-THF est quant à lui utilisé pour la méthylation du dUMP (désoxy-Uridylate Mono-Phosphate) en dTMP (désoxy-Thymidylate Mono-Phosphate) via la thymidylate synthase, et donc participe à la synthèse des pyrimidines (ADN). D'autre part, le cycle des folates contribue à la synthèse des purines (ADN et ARN), à partir du 10-formyltétrahydrofolate (10-formyl-THF) qui va donner des carbones à l'adénosine et à la guanine. La *MTHFR* agit indirectement sur le niveau de synthèse de l'ADN. Cette activité varie selon les polymorphismes de l'enzyme et l'apport alimentaire en folates (**Djaara, 2019**).

Un défaut de fonctionnement ou un mauvais rendement de cette enzyme aura pour conséquence en amont, une hyperhomocystéinémie, et en aval un déficit en GSH et hypotaurine via le déficit en cystéine (Škovierová, 2016).

Le gène de la *MTHFR* (OMIM : 607093) fut localisé par Goyette *et al* en 1994, dans le chromosome 1 (1p36.22) et comprend 11 exons. Ce gène ne contient pas TATA box, mais contient plusieurs îlots CpG très importants pour les sites d'union pour les autres facteurs de transcription. L'enzyme MTHFR a deux isoformes de 77 KDa et 70 KDa. Ce dernier est retrouvé uniquement au niveau du tissu hépatique et rénal chez l'enfant (Mechri, 2008). L'expression de l'ADN complémentaire humain de 2,2 Kb donne une protéine de 70 kDa comportant 656 acides aminés (Leclerc et Rozen, 2007). Elle est subdivisée en deux domaines : le premier catalytique (N terminal) de 40 KDa et le deuxième régulateur (C terminal) de 37 KDa. À l'union de ces deux domaines se trouve une région hydrophobe avec une séquence d'acides aminés : Lys-Arg-Arg-Glu-Glu, qui représente le site de clivage de la trypsine. La MTHFR est un homodimère cytoplasmique, localisé dans la rate, les ganglions lymphatiques et la moelle osseuse ((MALLEM, 2009)

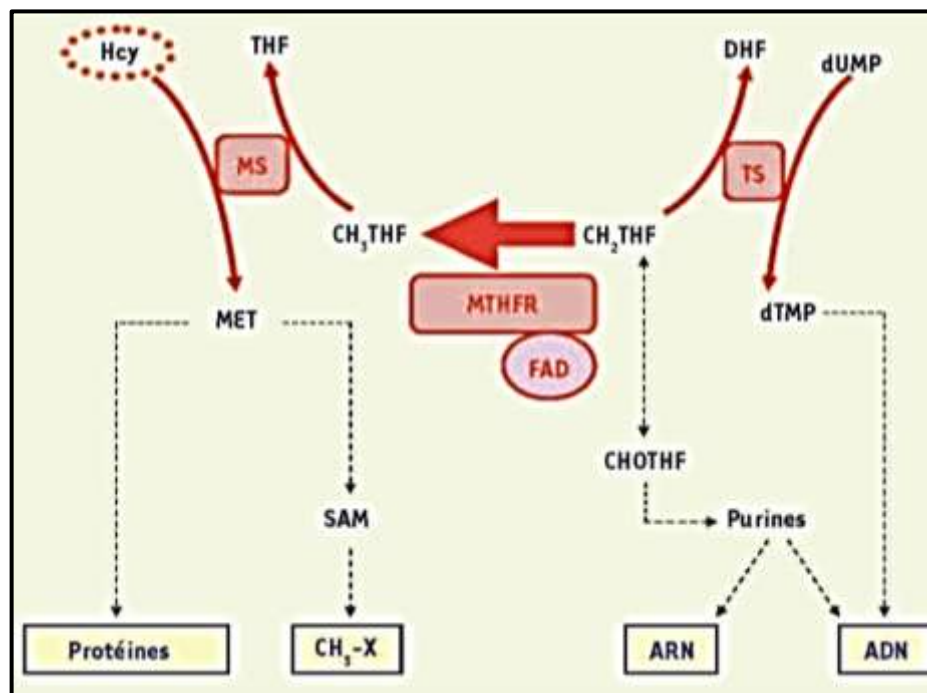


Figure 02 : répercussions métaboliques de l'activité de la MTHFR (Leclerc et Rozan, 2007).

La MTHFR catalyse la réduction irréversible du 5,10-MTHF en 5-MTHF. L'activité de la MTHFR affecte ainsi la disponibilité du 5-MTHF, ce qui influence la synthèse de l'ARN et de l'ADN. Ce dernier étant requis pour la reméthylation de l'homocystéine (Hcy) en méthionine (MET), qui intervient elle-même dans la synthèse protéique et la méthylation de l'ADN et d'autres composés.

5-2- Polymorphismes génétiques du gène MTHFR et conséquences pathologiques

La mutation la plus fréquente du gène *MTHFR*, situé sur le chromosome 1, est une substitution d'une cytosine en thymine (C-T) au niveau du nucléotide 677 sur la partie N-terminal de l'exon 4. Un variant thermolabile est synthétisé, dans lequel un acide aminé l'alanine est remplacée par une valine (677C → T, Ala → val) dans la séquence protéique. L'allèle 677T a été associé à des taux plasmatiques élevés d'homocystéine. Cette mutation est caractérisée par une diminution d'activité enzymatique de 70% en cas d'homozygotie, et de 35% en cas d'hétérozygotie (**Friso et al., 1996 ; Frost et al., 1995**). Sur le plan clinique, des études épidémiologiques non confirmées voir parfois controversées, en fonction de la population et de la région géographique, ont rapporté la corrélation de la mutation C677T MTHFR avec plusieurs processus pathologiques (**Ueland, 2001**), notamment ceux dépendants du métabolisme des folates. Il s'agit de la schizophrénie (**Muntjewerff et al., 2005 ; Sazci et al., 2003a, 2005b**) ; des maladies cardiovasculaires (**Lewis et al., 2005 ; Bennouar et al., 2007**) ; les cancers (**Srivastava et al., 2008**) ; les anomalies de développement embryonnaire dont l'insuffisance de fermeture du tube neural (**Botto et al., 2000**).

Cependant, des résultats contradictoires ont été reportés (**Papapetrou et al., 1996 ; Koch et al., 1998 ; Botto et al., 2000 ; Dilley et al., 2001 ; Zhang et al., 2001**). Cette controverse a été partiellement expliquée par des récentes études qui ont démontrées que la fréquence du polymorphisme C677T du gène *MTHFR* diffère largement dans différentes populations en fonction de l'aire géographique et des ethnies (**Virgos et al., 1999 ; Wilcken et al., 2003 ; Yu et al., 2004 ; Muntjewerff, 2006**).

Une deuxième mutation moins fréquente a été mise en évidence : le remplacement d'une adénine par une cytosine en position 1298 sur la partie C terminal de l'exon 7 entraîne le remplacement d'un glutamate par une alanine (1298A → C, Glu → Ala) (**Van der Put et al., 1998**), qui entraîne également une réduction de l'activité de l'enzyme MTHFR plus marquée en cas d'homozygotie (de 30 à 40%). Cette deuxième mutation semble donc moins sévère et elle n'a pas été reliée à un risque accru de cancer.

Une troisième mutation nommée T1317C a été décrite, mais apparaît comme « bénigne » car elle ne modifie pas l'acide aminé lors de la transcription et l'activité enzymatique n'est pas altérée (**Weisberg et al., 1998**). Les recherches actuelles montrent la présence possible de nombreuses autres mutations (au moins 33 dont la G1793A) dont l'importance reste à déterminer (**Sibani et al., 2003**).

La transmission de ces mutations est autosomique récessive. Le déficit en 5-méthyl-THF qui résulte de cette mutation est évalué de manière indirecte par le dosage de l'homocystéinémie. Il existe une hyper-homo-cystéinémie de 25% en moyenne chez les patients homozygotes pour la mutation comme cela a été démontré dans les cardiopathies (Brattstrom *et al.*, 1998 ; Klerk *et al.*, 2002).

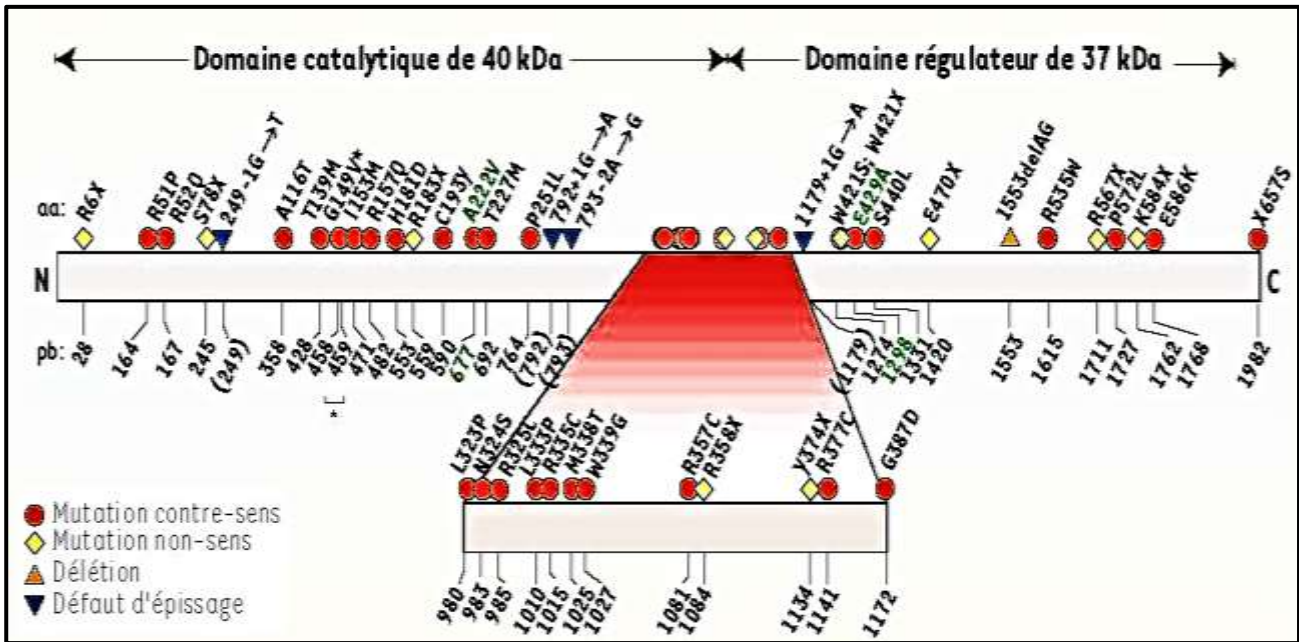


Figure 03 : représentation schématique des mutations et polymorphismes du gène *MTHFR* (Leclerc et Rozan, 2007).

5-3- Polymorphismes de la *MTHFR* et LAM

L'étude des mécanismes moléculaires de la leucémogénèse qui s'est focalisée en premier lieu sur l'effet d'altérations de proto-oncogènes et gènes suppresseurs de tumeurs, s'intéresse, de plus en plus, à l'impact de polymorphismes génétiques dans la survenue de ces hémopathies. L'un de ces gènes dont l'implication a été prouvée ou suggérée dans la survenue de diverses pathologies cancéreuses est celui de la *MTHFR*, qui code pour une enzyme clé du métabolisme des folates. Les cellules hématopoïétiques qui sont à réplication rapide, peuvent être particulièrement sensibles à un changement dans la disponibilité du folate intracellulaire. Deux polymorphismes de ce gène C677T et A1298C, ont été associés à une activité enzymatique réduite et à une distribution altérée du folate intracellulaire métabolites impliquée dans la synthèse, la réparation et la méthylation de l'ADN. Dans ce sens, plusieurs études cas-témoin ont été établies afin d'examiner si des variantes du gène *MTHFR* modifient le risque des leucémies aiguës myéloïdes et pour explorer l'impact de ces polymorphismes sur l'incidence des LAM (Ulrich *et al.*, 2002).

Partie pratique

Patients et méthodes

1- Principe d'une méta-analyse

La méta-analyse est un « terme générique désignant un certain nombre de méthodes d'analyse statistique des résumés quantitatifs d'études antérieures d'un même domaine ». Il s'agit d'une approche statistique qui a pour but de rassembler les résultats expérimentaux d'études singulières pour en faire une synthèse reproductible et quantifiée. C'est une démarche consistant à faire la synthèse des résultats de différentes études au moyen de méthodes statistiques appropriées. Renouvelant les méthodes de synthèse de la littérature, la méta-analyse présente l'avantage de réduire au minimum les éléments arbitraires des revues narratives traditionnelles en proposant une méthodologie reproductible (Shelby et Vaske, 2008 ; Tierney *et al.*, 2015).

L'utilisation des méta-analyses a sensiblement augmenté ces dernières années, et ce dans tous les domaines scientifiques. Dans les sciences de la vie en général, et dans la génétique en particulier, l'utilisation des méta-analyses est devenue très répandue, et ce à travers l'utilisation et l'interrogation des bases données spécialisées (PubMed, Medline, Scopus, Web of science, ScienceDirect, Google scholar, etc.).

L'objectif d'une méta-analyse est de synthétiser, d'une manière aussi exhaustive que possible, rigoureuse, reproductible et quantifiée, les résultats provenant de différentes études. Ce type d'analyse est particulièrement utile dans deux cas de figure :

- Lorsque de nombreuses études ont été publiées concernant une même problématique, mais que, faute d'effectifs suffisants, peu d'entre elles font apparaître un résultat statistiquement significatif.
- Lorsque des études concernant une même problématique montrent des résultats apparemment contradictoires.

Ces deux cas de figure sont particulièrement rencontrés dans les études génétiques de l'effets de certains polymorphismes communs, supposés délétères, dans le risque de survenue de certaines pathologies, ce qui justifie amplement le recours à la méta-analyse dans le cadre de notre travail de recherche.

Sur un autre plan, la méta-analyse présente l'avantage d'augmenter significativement la puissance statistique d'un test donné, car le nombre de sujets considérés est plus important, mais aussi d'expliquer la variabilité des résultats entre les différentes études. Une méta-analyse se réalise en plusieurs étapes :

- Définir l'objectif,
- Établir les critères d'inclusion et de non-inclusion (exclusion) des études dans la méta-analyse,
- Extraire de la littérature, les publications concernant *a priori* la méta-analyse,
- Éliminer les publications dont les résultats sont visiblement biaisés,
- Faire le tri des publications en utilisant les critères d'inclusion et d'exclusion,
- Faire l'analyse statistique pour estimer l'effet recherché,
- Tester la robustesse des résultats (analyse de sensibilité),
- Rechercher l'hétérogénéité.

Une méta-analyse peut être sujette à principaux biais :

- Biais d'estimation ; toutes les études réalisées ne sont pas forcément publiées,
- Biais de publication ; lorsque les résultats ne sont pas statistiquement significatifs, ils ont tendance à ne pas être publiés,
- Biais de détection ; la recherche des études peut ne pas être exhaustive,
- Biais de sélection ; les critères de sélection peuvent ne pas être adaptés.

2- Polymorphisme d'intérêt

Notre choix, dans cette étude a porté sur deux polymorphismes du gène *MTHFR* (OMIM : 607093) dont l'implication dans la survenue des LAM a été prospectée dans de nombreuses études avec des résultats contradictoires. Il s'agit des deux polymorphismes les plus communs de ce gène : les polymorphismes C677T (*rs* 1801133) et A1298C (*rs* 1801131). Ces polymorphismes ont fait également l'objet de plusieurs études par notre équipe du laboratoire de recherche Biologie Moléculaire et Cellulaire (BMC) pour leurs associations avec de nombreuses pathologies (cancéreuses et autres) et dysfonctionnements. Au cours de ces études, nous avons pu réunir une base de données conséquente sur la distribution de ces polymorphismes dans la population générale, particulièrement la population des témoins.

3- Réalisation de la méta-analyse

3-1- Stratégie de recherche

Notre travail de recherche consiste en une méta-analyse regroupant des études tirées de la littérature électronique (*en ligne*) sur notre thématique en utilisant la base de données PubMed (publications parues avant le 31 juillet 2021). PubMed est le principal moteur de recherche de données bibliographiques de l'ensemble des domaines de spécialisation de la biologie et de la médecine. Il a été développé par le centre américain pour les informations biotechnologiques (National Center of Biotechnologies Information : NCBI), et est hébergé par la bibliothèque américaine de médecine des instituts américains de la santé. PubMed est un moteur de recherche gratuit donnant accès à la base de données bibliographique MEDLINE (Medical Literature Analysis and Retrieval System Online), rassemblant des citations et des résumés d'articles de recherche biomédicale. Cette base de données est gérée et mise à jour par la bibliothèque américaine de médecine. Dans la présente méta-analyse, nous avons pris les résultats provenant de différentes études afin de prospecter l'implication des quatre polymorphismes d'intérêt sélectionnés dans la survenue de la LAM. Nous avons procédé à une recherche en utilisant les mots-clés suivants :

- Acute Myeloid Leukemia, C677T
- Acute Myeloid Leukemia, A1298C

3-2- Sélection des études

Les études ainsi trouvées sur la base de données PubMed ont été sélectionnées selon les critères suivants :

- Une exploration de l'association du polymorphisme en question et le risque de développer une LAM.
- Une étude construite selon le modèle du type cas-témoins établie selon des critères définis : deux groupes indépendants (cohortes) de patients et de témoins, avec des critères bien définis de chaque groupe.
- La disponibilité dans la publication de la taille des deux cohortes (patients et témoins) avec les fréquences génotypiques des trois génotypes (homozygote sauvage, hétérozygote et homozygote muté) et/ou alléliques (allèle sauvage et allèle muté) permettant le calcul de l'Odds Ratio (OR) et de la valeur *p*.

Ont été exclues :

- Les études sur la LAM prospectant l'effet de polymorphismes autres que ceux sélectionnés dans notre étude, et ce même s'il s'agit de ceux du même gène.
- Les études de pharmacogénétique prospectant l'effet des polymorphismes sélectionnés dans la réponse à une thérapeutique particulière de la LAM.
- Les études seraient exclues de la méta-analyse si la distribution des génotypes n'est pas conforme à l'équilibre de *Hardy-Weinberg* (HWE : *Hardy-Weinberg* Equilibrium) ou si cela n'est pas mentionné dans la publication.

3-3- Extraction des données

De chaque étude incluse dans notre méta-analyse, nous avons extrait les informations suivantes : nom de(s) auteur(s), année de la publication (référence bibliographique), pays, ethnie de la population d'étude, les tailles des populations de malades et de témoins, les répartitions génotypiques et alléliques. Dans le cas où ces fréquences ne sont pas mentionnées, elles seront calculées à partir de l'effectif brut en rapport avec l'effectif de chaque cohorte.

3-4- Tests statistiques

Pour prospecter l'association entre les polymorphismes sélectionnés et les LAM dans cette méta-analyse, nous avons étudié précisément l'effet des allèles mutés dans les groupes de patients et témoins. Il s'agit d'une étude statistique basée sur le calcul de l'OR à Intervalle de Confiance (IC) et la valeur p dans le but de déterminer s'il existe une association significative entre les polymorphismes étudiés et le risque d'apparition d'une LAM. Nous avons fait cela par la comparaison du nombre de fois où l'allèle muté est observé chez les patients par rapport au nombre de fois où il est présent chez les témoins. Si la valeur de p est inférieure au seuil de 0,05 ; la différence de distribution est statistiquement significative entre patients et témoins avec un effet probable de l'implication de l'allèle muté dans l'apparition de la pathologie cancéreuse en question. Cela a été fait pour chacune des études cas-témoins incluse dans notre prospection en établissant un tableau de contingence croisé.

Tableau I : tableau de contingence croisé.

	Patients	Contrôles	Total
Présence du facteur de risque génétique présumé de la pathologie	A	B	a + b
Absence du facteur de risque génétique présumé de la pathologie	C	D	c + d
	a + c	b + d	a + b + c + d

La méta-analyse a été faite avec le logiciel Comprehensive Meta-Analysis V3.1 (CMA[®]) (téléchargeable sur le site www.meta-analysis.com). Le biais des publications utilisées est déterminé par le logiciel. Selon les mêmes critères, nous allons prospecter l'effet des allèles récessifs sous trois modèles :

- **Le modèle dominant** : génotype homozygote muté + génotype hétérozygote vs génotype homozygote sauvage
- **Le modèle récessif** : génotype homozygote muté vs génotype homozygote sauvage + génotype hétérozygote.
- **Le modèle allélique** : allèle muté vs allèle sauvage.

Tableau II : modèles de comparaison pour l'étude de l'effet des polymorphismes *MTHFR*.

Effet analysé	C677T	A1298C
Effet dominant	TT + CT vs CC	CC + AC vs AA
Effet récessif	CC + CT vs TT	AA + AC vs CC
Effet allélique	C vs T	A vs C

Le seuil de significativité est fixé à 0,05 (IC = 95%). Toute valeur de *p* est inférieure au seuil de 0,05 implique que la différence de distribution est statistiquement significative entre patients et témoins selon le modèle de comparaison étudié.

Pour illustrer et interpréter les résultats de la méta-analyse deux types de représentations graphiques seront générées :

- **Graphique en forêt (*forest plot*)** : il montre comment on représente les résultats individuels incluses dans la méta-analyse. Chaque ligne représente une étude. Les extrémités indiquent l'intervalle de confiance et le carré central est la statistique sommaire. Plus le carré est large plus l'étude est importante (poids plus élevé) dans la méta-analyse. Le diamant représente le résultat final sommaire. Le centre du diamant est le risque relatif final est les extrémités nous donnent les limites de l'intervalle de confiance à 95% pour les résultats (**figure 04**).

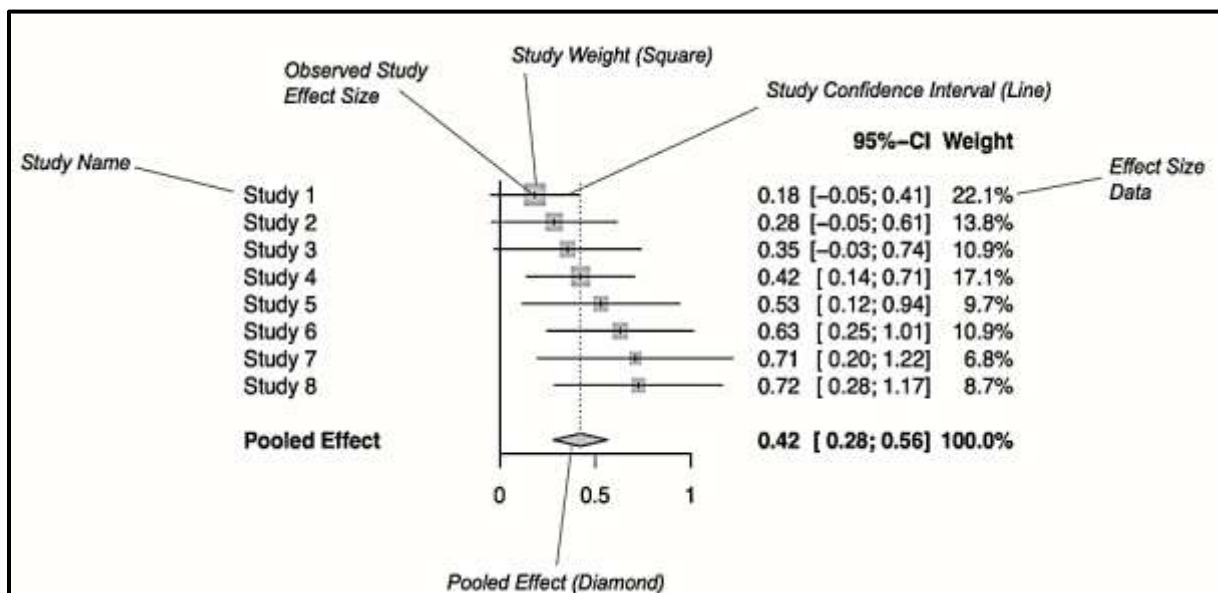


Figure 04 : modèle de représentation graphique en forêt (*forest plot*) (Boissel, 2007).

- **Graphique en entonnoir (*funnel plot*)** : c'est une représentation visuelle de données statistiques en nuage de point permettant de vérifier l'existence d'un biais de publication dans une méta-analyse. Il permet de représenter les estimations ponctuelles en fonction de la taille de l'échantillon pour chaque étude, pourra être utile à cet effet. Dans un funnel plot, les estimations ponctuelles des différentes études, après une recherche systématique dans la littérature, sont reportées sur l'axe des x, de même que la moyenne de la méta-analyse. L'erreur standard des différentes études est reportée sur l'axe des y. Si le nombre d'études est suffisant (> 10), il est possible de montrer l'existence d'un biais de signalement ou de l'exclure, en fonction de la symétrie du funnel plot.

La symétrie dans cette représentation nous permet de conclure que, si l'on ne peut affirmer l'existence d'un biais dans le signalement, on ne peut pas non plus l'exclure complètement (**figure 05**).

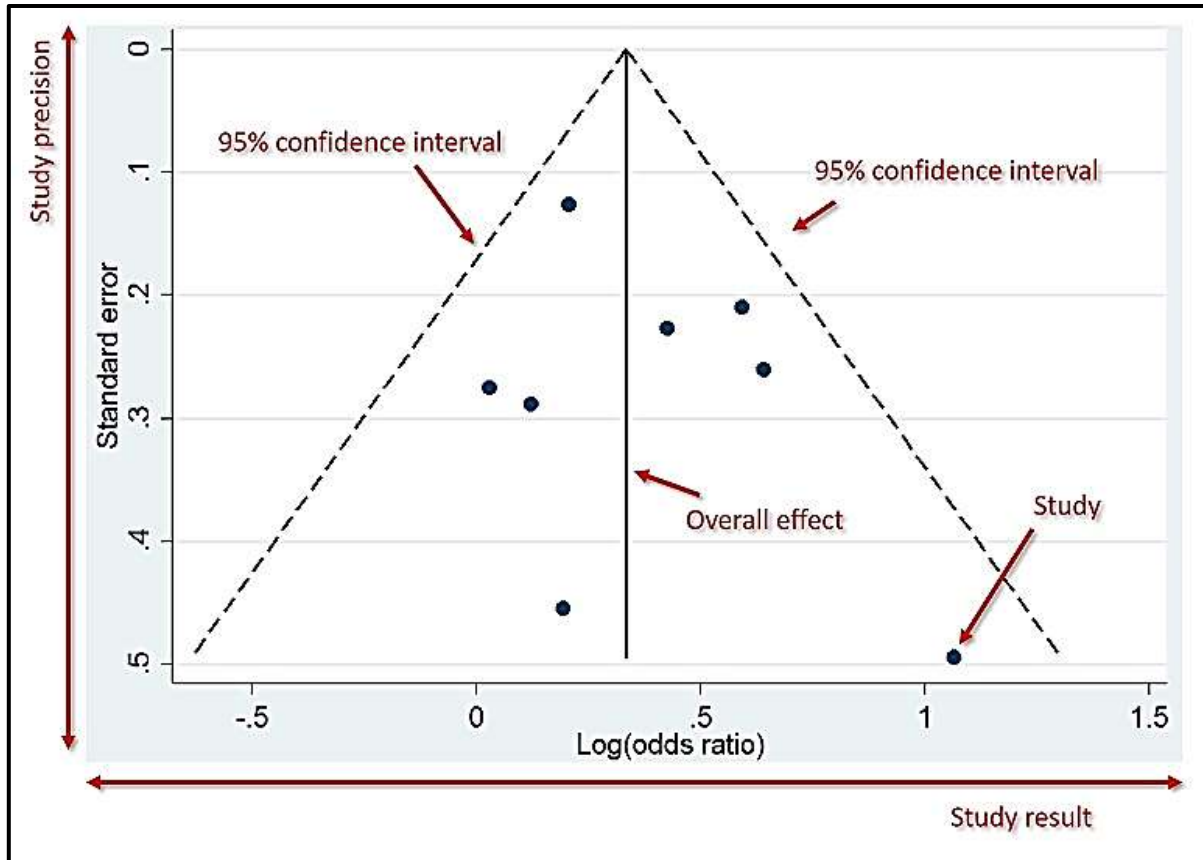


Figure 05 : modèle de représentation graphique en entonnoir (funnel plot) (Boissel, 2007).

Une information importante à retracer dans une méta-analyse est l'évaluation de l'hétérogénéité. On définit l'hétérogénéité par la variabilité entre les résultats pour différentes études. Il est important d'évaluer jusqu'à quel point les résultats des études incluses sont divergents. On peut avoir une idée de cette hétérogénéité en regardant si les intervalles de confiance se superposent. L'interprétation de cette hétérogénéité s'est faite valeur de $p < 0,05$ signifie qu'il y a de l'hétérogénéité.

**Résultats
et
discussion**

Les polymorphismes nucléotidiques simples (SNP) sont la forme la plus fréquente de variation génétique chez l'homme. Présents avec des fréquences variables dans la population générale, ils constituent une des sources majeures de variation interindividuelle génétique et phénotypique. Ils sont associés à la diversité entre des populations, aux différences de susceptibilité aux maladies et de sensibilité aux traitements. À ce jour, plus de 13 000 SNP ont été associés à des pathologies. Il s'agit de « mutations » germinales présentes aussi bien dans les régions codantes que dans les régions non codantes. Les SNP concernant les régions codantes se répartissent en trois catégories : les SNP synonymes, les SNP non synonymes et les SNP non-sens. Du fait de la redondance du code génétique, la substitution d'un codon par un autre codon peut engendrer le même acide aminé : c'est le cas pour les SNP synonymes. À l'inverse, les SNP non synonymes ou non-sens engendrent, respectivement, l'incorporation d'un acide aminé différent ou l'arrêt de la traduction ; ils modifient donc la structure primaire du polypeptide (**Korzeniewski *et al.*, 2013**).

Un gène est considéré comme polymorphe s'il existe au moins deux allèles à une fréquence égale ou supérieure à 1%. Ils représentent plus de 90% de toutes les différences entre individus. En moyenne un SNP est rencontré tous les 300 à 1200 nucléotides et il y en a de l'ordre de 10 millions dans le génome humain. Dans une population déterminée, l'allèle ayant la fréquence la plus petite est appelé allèle mineur. Des gènes de susceptibilité génétique codant pour des enzymes ayant un rôle dans le métabolisme des xénobiotiques et le transport membranaire ont été associés aux leucémies (**Dorak *et al.*, 1995**). De nombreuses études d'association gène-candidat ont été publiées sur des polymorphismes situés dans des gènes codant pour des enzymes du métabolisme des carcinogènes, du métabolisme des folates et de la réparation de l'ADN et certains polymorphismes (*CYP1B1*, *CYP3A5*, *GSTT1* et *SULT1A1*) semblaient associés positivement au risque de LAM (**Vijayakrishnan et Houlston, 2010**). La LAM est le type de leucémie aiguë le plus répandu dans le monde. Ainsi, l'étude des altérations génétiques associées à cette hémopathie, telles que les SNP, a contribué à une meilleure compréhension des mécanismes sous-jacents à la leucémogénèse, à améliorer le pronostic et à augmenter la survie de ces patients. Cependant, il n'y a pas suffisamment de synthèse des preuves dans la littérature évaluant la qualité des preuves et le risque de biais dans les études de telle sorte que les résultats puissent être traduits (**Puty *et al.*, 2019**).

Dans ce sens, nous nous sommes intéressés à la détermination de la part des deux polymorphismes les plus communs (C677T et A1298C) du gène *MTHFR* comme facteur de risque potentiel impliqué dans le développement des LAM. Après une recherche bibliographique rigoureuse en utilisant la base de données PubMed (publications parues avant le 31 juillet 2021) et applications des critères d'exclusions fixés en amont, nous avons retenu, pour notre étude, 34 publications (**tableau III**).

Tableau III : études retenues pour la méta-analyse de chaque polymorphisme.

Polymorphisme	C677T	A1298C	Total
Nombre d'études trouvées	151	103	254
Nombre d'études retenues	19	15	34

La *MTHFR* fait aujourd'hui office de prétendant parfait à l'étude du polymorphisme génétique associé avec un risque accru de développer une pathologie cancéreuse. En effet, la *MTHFR*, enzyme clef du métabolisme des folates, est engagée dans la synthèse de l'ADN, sa réparation et sa méthylation. De par ces activités variées, on peut naturellement comprendre le fait que d'abondantes études ont été conduites dans ce sens (**Chango, 2010**).

Deux polymorphismes assez répandus pour le gène *MTHFR*, C677T et A1298C, changeant relativement le niveau de l'activité de l'enzyme ont été reconnus et sont largement étudiés. Le changement C677T (Ala222Val) qui affecte le domaine catalytique de la *MTHFR*, engendre ainsi une enzyme thermolabile dont l'activité catalytique est réduite, par rapport à l'enzyme du génotype sauvage (thermostable), d'environ 60 à 70% pour les homozygotes mutés TT et à un niveau intermédiaire, de 35 à 40%, pour les hétérozygotes CT (**Guilland, 2011**). Ce polymorphisme entraîne une réduction des niveaux de 5-MTHF, une accumulation de 5,10-MTHF, d'où une élévation des niveaux d'homocystéine plasmatique et des changements dans la composition cellulaire des dérivés des folates monocarbonés avec apparition de poly-glutamates THF formylés (**Ma et al., 1997**). Cette perte d'activité entraîne une diminution des niveaux de 5,10-MTHF, substrat de la *MTHFR* nécessaire à la synthèse de thymidylate, ce qui entraîne une incorporation erronée de l'uracile dans l'ADN, une diminution de l'efficacité du système de réparation de l'ADN et une accumulation de cassures et de lésions au niveau des chromosomes (**Ma et al., 2009 ; Chen et al., 2019**).

Elle entraîne aussi une hypo-méthylation de l'ADN due à la diminution des taux de S-Adénosyl-Méthionine (SAM) principal donneur de groupement méthyl dans les systèmes biologiques. À l'état homozygote (TT), ce polymorphisme apprête au développement d'une hyperhomocystéinémie importante (augmentation d'environ 25% du taux d'homocystéine), notamment lors d'une carence en folates (apport alimentaire faible). Néanmoins, en l'absence de carence en folates, les niveaux d'homocystéine plasmatique seraient bas et indépendants du génotype (**Chen et al., 2019**).

L'autre polymorphisme, A1298C (Glu429Ala), affecte quant à lui, le domaine régulateur de l'enzyme en remplaçant une glutamate par une alanine au codon 429. L'activité de l'enzyme est diminuée mais de façon moins marquée que pour C677T et les individus homozygotes pour l'allèle C1298 ne semblent pas avoir des taux plasmatiques d'homocystéine plus élevés, sauf en la présence conjointe de l'allèle T677 (haplotypes) (**Quin et al., 2014**). En effet, l'hétérozygotie combinée (la coexistence) pour ces deux polymorphismes, qui l'homocystéine plasmatique (**Van der Pat et al., 1998**) et un profil biochimique similaire à celui observé chez les homozygotes C677T présentant des taux élevés d'homocystéine et des taux bas de folate (**Khaleghparast A et al., 2014**). De plus, les individus avec les génotypes 677 CT et 1298 AC ont révélé une activité de 50 à 60% de la MTHFR de type sauvage (**Weisberg et al., 1998**). La mutation A1298C du gène *MTHFR* a été moins étudiée que celle de C677T, le mutant. La prévalence de ce polymorphisme varie de 10 à 23% chez les Indiens du Nord (**Alam et al., 2008**) à environ (36%) chez les Canadiens et Européens (**Sun et al., 2005**).

À la lumière de tout ce qui a été mentionné ci-dessus, nous avons entrepris un travail de recherche visant à prospecter, par une méta-analyse, l'implication des polymorphismes C677T et A1298C de la *MTHFR* dans le développement d'une LAM. Après une recherche bibliographique approfondie, nous avons recueilli 19 études pour le variant C677T et 15 pour le A1298C. Les données recueillies dans ces études sont précisées dans les **tableaux IV et V** ainsi que les **figures 06, 07, 08 et 09** ci-après.

Tableau IV : recueil des fréquences génotypiques et alléliques rapportées dans différentes études cas-témoins sur l'implication du polymorphisme C677T du gène *MTHFR* dans la survenue de la LAM.

N°	Référence	Ethnie	Association *	Patients (LAM)										Témoins											
				Nombre de patients	CC	CC (%)	CT	CT (%)	TT	TT (%)	C	C (%)	T	T (%)	Nombre de témoins	CC	CC (%)	CT	CT (%)	TT	TT (%)	C	C (%)	T	T (%)
1	Skibola <i>et al.</i> , 1999	Royaume-Uni	NS	223	134	60,09	66	29,60	23	10,31	334	74,89	112	25,11	369	196	53,12	130	35,23	43	11,65	522	70,73	216	29,27
2	Deligezer <i>et al.</i> , 2003	Turquie	NS	49	23	46,94	25	51,02	1	2,04	71	72,45	27	27,55	161	74	45,96	73	45,34	14	8,70	221	68,63	101	31,37
3	Zanrosso <i>et al.</i> , 2005	Brésil	NS	43	21	48,84	17	39,53	5	11,63	59	68,60	27	31,40	240	123	51,25	95	39,58	22	9,17	341	71,04	139	28,96
4	Chen <i>et al.</i> , 2006	Chine	S	40	16	40,00	16	40,00	8	20,00	48	60,00	32	40,00	157	72	45,86	66	42,04	19	12,10	210	66,88	104	33,12
5	Da-Costa <i>et al.</i> , 2006	Brésil	NS	182	93	51,10	67	36,81	22	12,09	253	69,51	111	30,49	315	156	49,52	128	40,63	31	9,84	440	69,84	190	30,16
6	Hur <i>et al.</i> , 2006	Corée du sud	NS	55	18	32,73	30	54,55	7	12,73	66	60,00	44	40,00	200	80	40,00	80	40,00	40	20,00	240	60,00	160	40,00
7	Kim <i>et al.</i> , 2006	Corée du sud	NS	399	121	30,33	202	50,63	76	19,05	444	55,64	354	44,36	1700	540	31,76	863	50,76	297	17,47	1943	57,15	1457	42,85
8	Bolufer <i>et al.</i> , 2007	Espagne	NS	163	54	33,13	80	49,08	29	17,79	188	57,67	138	42,33	331	106	32,02	160	48,34	65	19,64	372	56,19	290	43,81
9	Moon <i>et al.</i> , 2007	Corée du Sud	S	200	61	30,50	107	53,50	32	16,00	229	57,25	171	42,75	434	144	33,18	196	45,16	94	21,66	484	55,76	384	44,24
10	Barbosa <i>et al.</i> , 2008	Brésil	NS	27	17	62,96	8	29,63	2	7,41	42	77,78	12	22,22	100	65	65,00	29	29,00	6	6,00	159	79,50	41	20,50
11	Amorin <i>et al.</i> , 2008	Brésil	NS	49	24	48,98	20	40,82	5	10,20	68	69,39	30	30,61	62	35	56,45	25	40,32	2	3,23	95	76,61	29	23,39
12	Lightfoot <i>et al.</i> , 2010	Royaume-Uni	NS	79	47	59,49	21	26,58	11	13,92	115	72,78	43	27,22	760	359	47,24	317	41,71	84	11,05	1035	68,09	485	31,91

13	Vahid <i>et al.</i> , 2010	Iran	NS	106	58	54,72	39	36,79	9	8,49	155	73,11	57	26,89	97	56	57,73	37	38,14	4	4,12	149	76,80	45	23,20
14	Hussain <i>et al.</i> , 2012	Inde	NS	112	75	66,96	26	23,21	11	9,82	176	78,57	48	21,43	251	180	71,71	61	24,30	10	3,98	421	83,86	81	16,14
15	Zeng <i>et al.</i> , 2013	Chine	S	22	14	63,64	4	18,18	4	18,18	32	72,73	12	27,27	120	56	46,67	54	45,00	10	8,33	166	69,17	74	30,83
16	Silva <i>et al.</i> , 2013	Brésil	S	33	19	57,58	12	36,36	2	6,06	50	75,76	16	24,24	224	95	42,41	108	48,21	21	9,38	298	66,52	150	33,48
17	Hang <i>et al.</i> , 2015	Chine	S	98	58	59,18	31	31,63	9	9,18	147	75,00	49	25,00	2010	1225	60,95	687	34,18	98	4,88	3137	78,03	883	21,97
18	Farasani <i>et al.</i> , 2019	Arabie Saoudite	NS	100	83	83,00	17	17,00	0	0,00	183	91,50	17	8,50	100	78	78,00	22	22,00	0	0,00	178	89,00	22	11,00
19	Mortazavi <i>et al.</i> , 2020	Iran	NS	180	90	50,00	75	41,67	15	8,33	255	70,83	105	29,17	181	98	54,14	66	36,46	17	9,39	262	72,38	100	27,62

S : association statistiquement significative

NS : association statistiquement non-significative

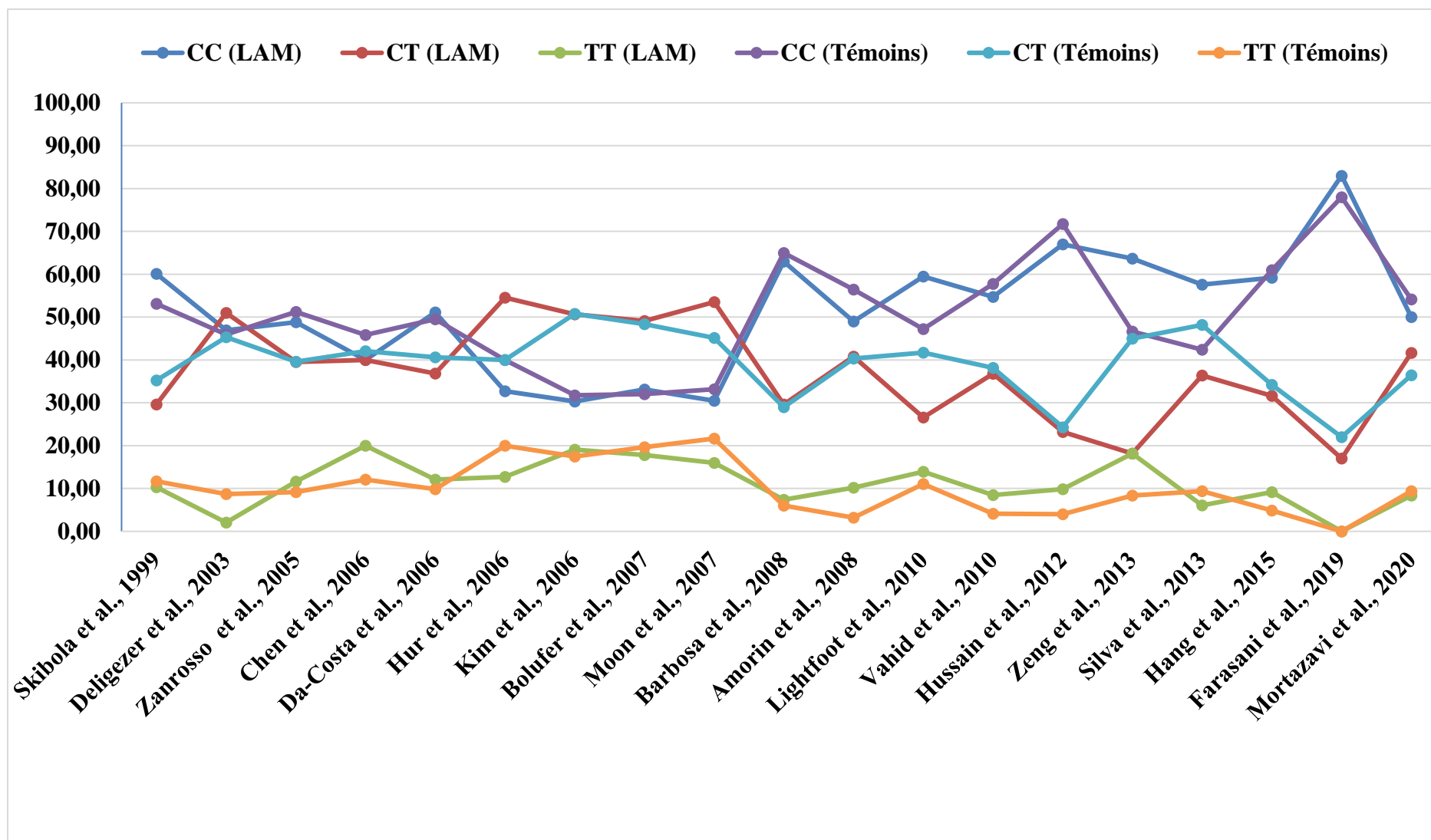


Figure 06 : représentation graphique des fréquences génotypiques rapportées dans différentes études cas-témoins sur l'implication du polymorphisme C677T du gène *MTHFR* dans la survenue de la LAM

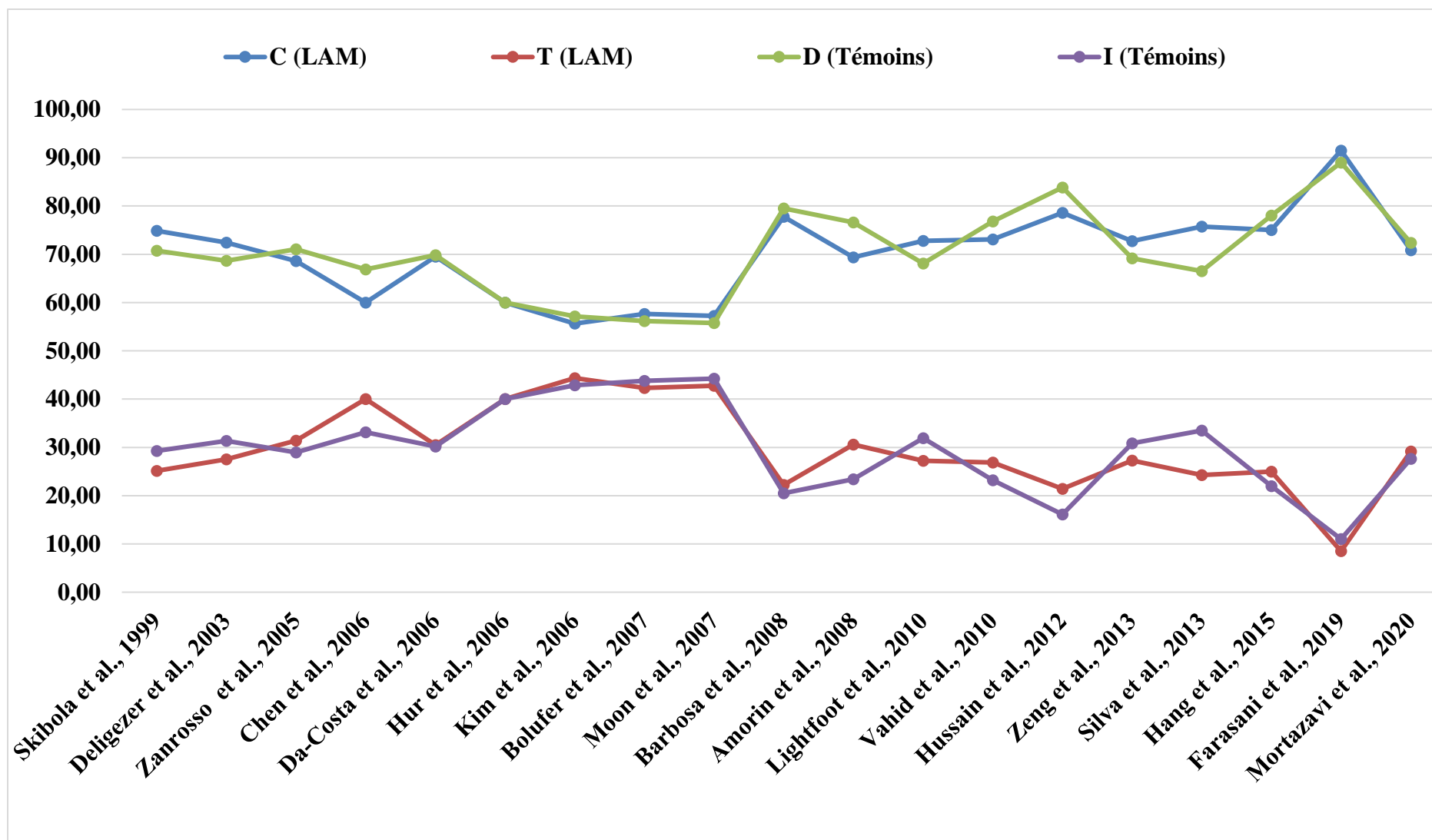


Figure 07 : représentation graphique des fréquences alléliques rapportées dans différentes études cas-témoins sur l'implication du polymorphisme C677T du gène *MTHFR* dans la survenue de la LAM.

Tableau V : recueil des fréquences génotypiques et alléliques rapportées dans différentes études cas-témoins sur l'implication du polymorphisme A1298C du gène *MTHFR* dans la survenue de la LAM.

N°	Référence	Ethnie	Association *	Patients (LAM)										Témoins											
				Nombre de patients	AA	AA (%)	AC	AC (%)	CC	CC (%)	A	A (%)	C	C (%)	Nombre de témoins	AA	AA (%)	AC	AC (%)	CC	CC (%)	A	A (%)	C	C (%)
1	Skibola <i>et al.</i> , 1999	Royaume-Uni	NS	220	99	45,00	98	44,55	23	10,45	296	67,27	144	32,73	362	165	45,58	157	43,37	40	11,05	487	67,27	237	32,73
2	Zonrosso <i>et al.</i> , 2005	Brésil	NS	42	28	66,67	13	30,95	1	2,38	69	82,14	15	17,86	246	151	61,38	77	31,30	18	7,32	379	77,03	113	22,97
3	Da costa <i>et al.</i> , 2006	Brésil	S	182	104	57,14	62	34,07	16	8,79	270	74,18	94	25,82	315	190	60,32	104	33,02	21	6,67	484	76,83	146	23,17
4	Hur <i>et al.</i> , 2006	Coré du sud	NS	55	33	60,00	19	34,55	3	5,45	85	77,27	25	22,73	200	116	58,00	78	39,00	6	3,00	310	77,50	90	22,50
5	Moon <i>et al.</i> , 2007	Coré du sud	S	200	138	69,00	55	27,50	7	3,50	331	82,75	69	17,25	434	307	70,74	120	27,65	7	1,61	734	84,56	134	15,44
6	Kim <i>et al.</i> , 2008	Coré du sud	NS	389	275	70,69	121	31,11	12	3,08	671	86,25	145	18,64	1700	1147	67,47	500	29,41	53	3,12	2794	82,18	606	17,82
7	Barbosa <i>et al.</i> , 2008	Brésil	NS	27	15	55,56	11	40,74	1	3,70	41	75,93	13	24,07	100	63	63,00	32	32,00	5	5,00	158	79,00	42	21,00
8	Amorin <i>et al.</i> , 2008	Brésil	NS	50	30	60,00	14	28,00	6	12,00	74	74,00	26	26,00	60	40	66,67	16	26,67	4	6,67	96	80,00	24	20,00
9	Lightfoot <i>et al.</i> , 2010	Royaume-Uni	NS	78	41	52,56	26	33,33	11	14,10	108	69,23	48	30,77	759	350	46,11	332	43,74	77	10,14	1032	67,98	486	32,02
10	Vahid <i>et al.</i> , 2010	Iran	NS	106	40	37,74	49	46,23	17	16,04	129	60,85	83	39,15	97	39	40,21	36	37,11	22	22,68	114	58,76	80	41,24
11	Zheng <i>et al.</i> , 2013	Chine	S	22	17	77,27	3	13,64	2	9,09	37	84,09	7	15,91	120	91	75,83	21	17,50	8	6,67	203	84,58	37	15,42
12	Silva <i>et al.</i> , 2013	Brésil	S	31	13	41,94	13	41,94	5	16,13	39	62,90	23	37,10	248	147	59,27	82	33,06	19	7,66	376	75,81	120	24,19

13	Hang <i>et al.</i> , 2015	Chine	S	98	65	66,33	26	26,53	7	7,14	156	79,59	40	20,41	2014	1125	55,86	748	37,14	141	7,00	2998	74,43	1030	25,57
14	Farasani <i>et al.</i> , 2019	Arabie Saoudite	NS	100	67	67,00	33	33,00	0	0,00	167	83,50	33	16,50	100	68	68,00	32	32,00	0	0,00	168	84,00	32	16,00
15	Mortazavi <i>et al.</i> , 2020	Iran	NS	178	70	39,33	91	51,12	17	9,55	231	64,89	125	35,11	181	73	40,33	88	48,62	20	11,05	234	64,64	128	35,36

S : association statistiquement significative

NS : association statistiquement non-significative

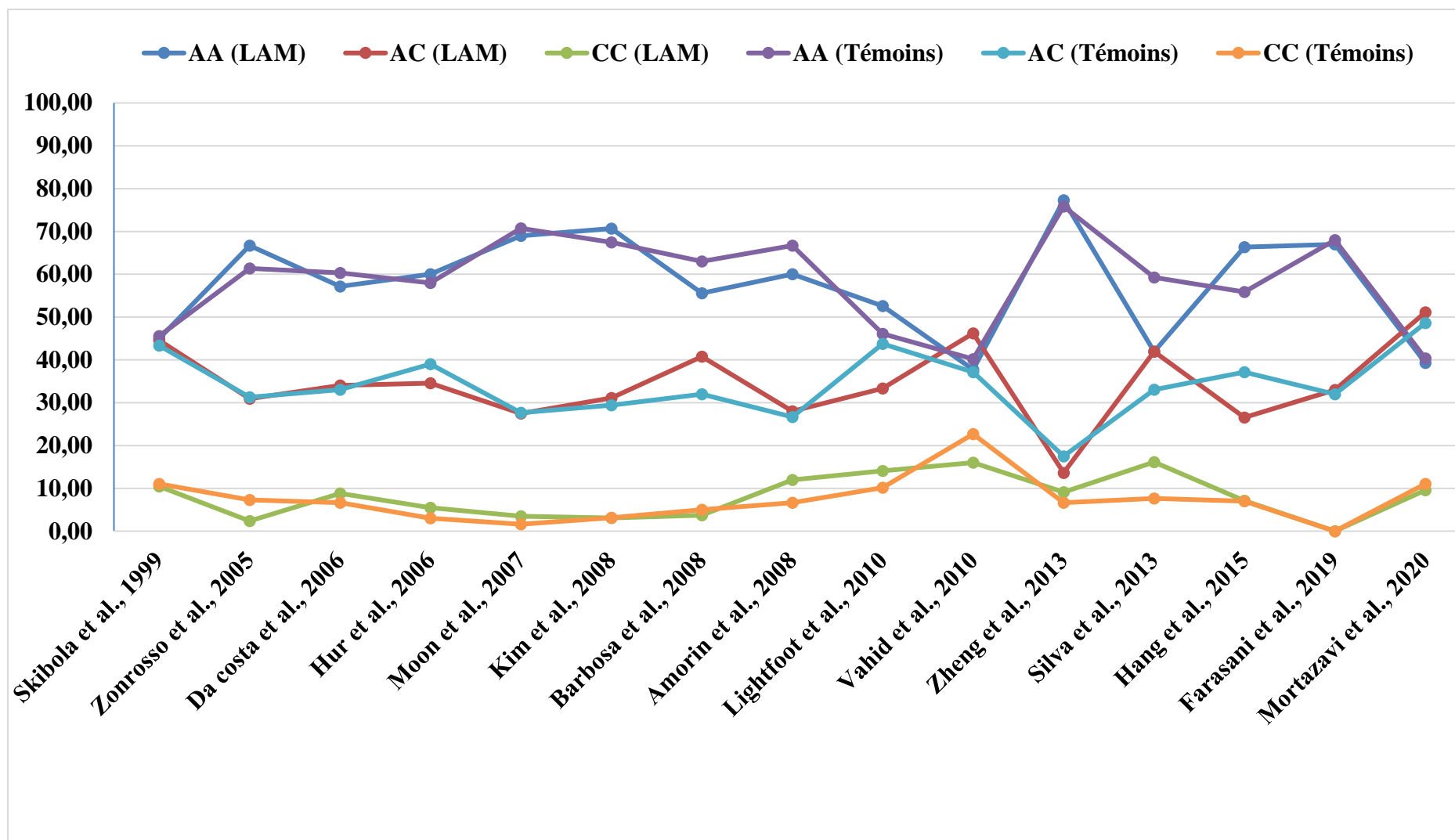


Figure 08 : représentation graphique des fréquences génotypiques rapportées dans différentes études cas-témoins sur l'implication du polymorphisme A1298C du gène *MTHFR* dans la survenue de la LAM

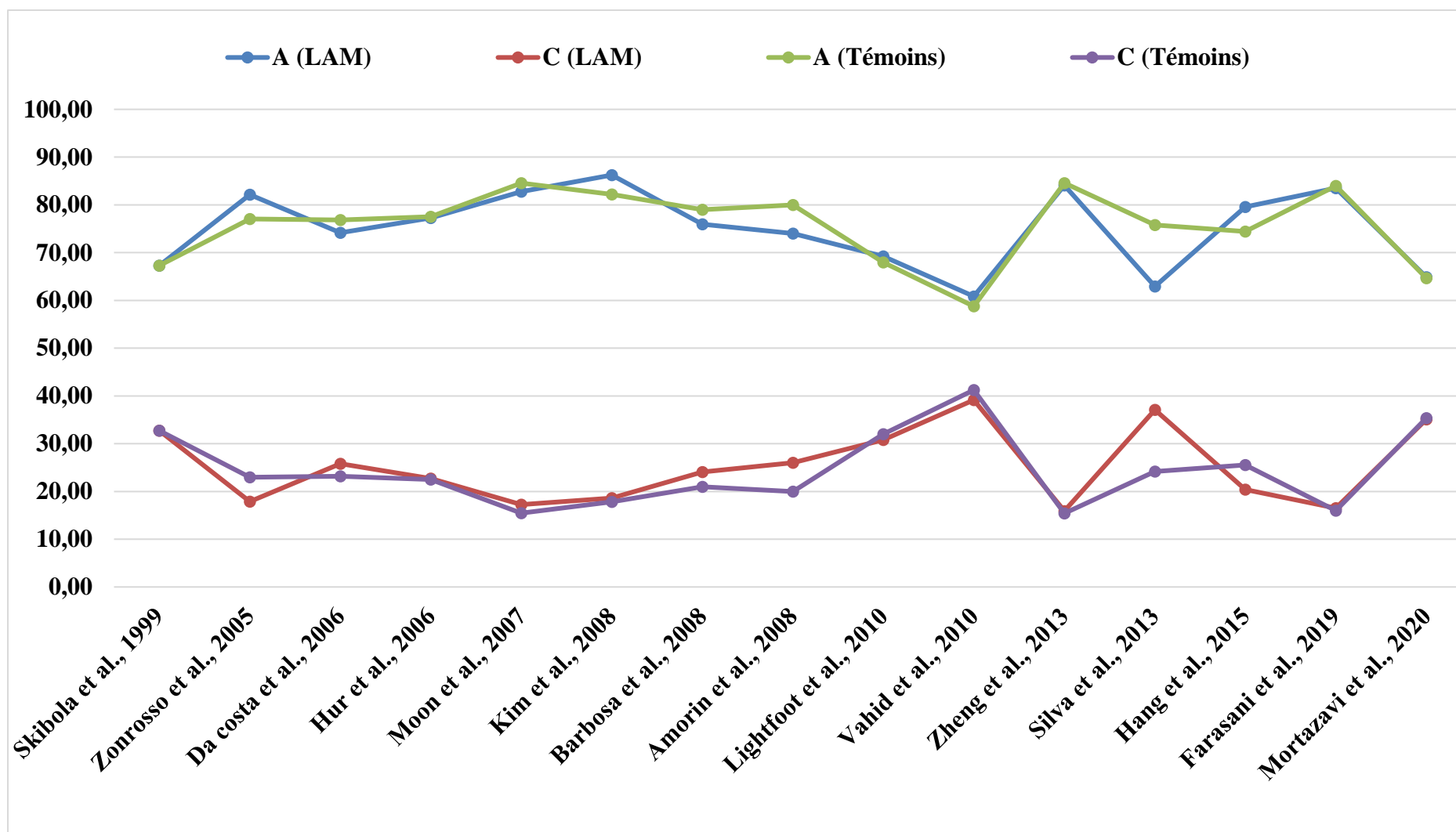


Figure 09 : représentation graphique des fréquences alléliques rapportées dans différentes études cas-témoins sur l'implication du polymorphisme A1298C du gène *MTHFR* dans la survenue de la LAM.

1- C677T et LAM

L'association du polymorphisme C677T de la *MTHFR* avec la LAM a été évoquée pour la première fois en 1999 par **Skibola *et al*** lors d'une étude menée au Royaume-Uni. Cette étude ayant porté sur 223 patients atteints de LAM et 334 témoins supposés sains a conclu au fait que l'allèle T ne constitue pas un facteur de risque probable dans la genèse de cette hémopathie et ce en dépit de l'importance capitale du métabolisme des folates dans le développement des cancers de façon générale. En effet, la valeur de *p* obtenue était supérieure au seuil de significativité choisi de 0,05.

En 2003, **Deligezer *et al*** ont mené une étude similaire sur la population turque et ont conclu au même résultat. Néanmoins, la taille de la cohorte de patients dans cette étude était relativement réduite. En effet, elle se composait de 49 patients, dont les résultats de l'analyse génotypique pour le polymorphisme étudié ont été comparés avec ceux d'une population témoin dont l'effectif était de 161.

Par la suite, d'autres études ont confirmé l'absence de cette hypothétique association dans le risque de survenue de la LAM : **Zanrosso *et al.*, 2005, Hur *et al.*, 2006, Kim *et al.*, 2006, Bolufer *et al.*, 2007, Barbosa *et al.*, 2008, Amorin *et al.*, 2008, Lightfoot *et al.*, 2010, Vahid *et al.*, 2010, Hussain *et al.*, 2012, Farasani *et al.*, 2019 et Mortazavi *et al.*, 2020. Au total 13 études sur les 19 sélectionnées sont arrivées à cette conclusion. La dernière en date, de 2020, est celle de **Mortazavi *et al*** qui ont mené cette prospection sur une cohorte de la population iranienne composée 180 patients et de 181 témoins, et n'ont rapporté aucun effet de l'allèle T, supposé délétère, dans le risque de développer une LAM. Il est intéressant de constater que toutes ces études qui sont arrivées à la même conclusion ont été menées dans différents pays et sur des ethnies distinctes : Caucasiennes (Royaume-Uni, Espagne, Arabie Saoudite, Turquie, Iran, Brésil) et Asiatiques (Corée du Sud, Inde, Chine). À notre connaissance, aucune étude ayant prospecté spécifiquement le rôle de ce polymorphisme dans le développement des LAM chez les Afro-Américains n'a été menée. Cela aurait été intéressant d'autant plus que cette hémopathie est plus fréquente chez les Caucasiens que chez les Afro-Américains.**

Il est important de mentionner également que plusieurs études que nous avons trouvées, ayant prospecté cette corrélation, ont conclu à la présence d'un effet délétère du polymorphisme en question. Ces études indiquent que les individus hétérozygotes (CT) et homozygotes mutés (TT) ont un risque plus important, statistiquement significatif, de développer une LAM, et ce en comparaison avec les individus porteurs du génotype homozygote sauvage (CC).

La première étude en date ayant conclu à cette association significative était celle réalisée sur une population asiatique de Chine, en 2006, par **Chen *et al.*** Cette conclusion a été tirée après le génotypage de 40 patients atteints de LAM et de 157 témoins. D'autres études sont arrivées ultérieurement à la même conclusion : **Moon *et al.*, 2007** (Corée du Sud), **Zeng *et al.*, 2013** (Chine), **Silva *et al.*, 2013** (Brésil) et **Hang *et al.*, 2015** (Chine). Il est intéressant de signaler que la plupart de ces études ont été menées sur des populations asiatiques suggérant que ce polymorphisme s'exprime peut-être de façon plus marquée dans cette ethnie.

Il est intéressant de signaler que l'étude de **Da-Costa *et al.*, 2006** menée sur menée une population brésilienne composée de 182 patients LAM et de 315 témoins a conclu à un effet protecteur du polymorphisme C677T de la *MTHFR* supposé communément comme étant délétère. En effet, cette étude a rapporté la conclusion originale que les individus hétérozygotes (CT) et homozygotes (TT) ont un risque statistiquement moindre de développer une LAM et ce en comparaison avec les individus ayant un génotype homozygote sauvage pour le polymorphisme d'intérêt (CC). À notre connaissance, et après une recherche bibliographique exhaustive, il s'agit de la seule étude sur la thématique dont les auteurs sont arrivés à cette conclusion.

À la lumière de ce constat, il nous a paru clair que de nombreuses études ont exploré l'association entre le polymorphisme C677T de la méthylène tétrahydrofolate réductase et le risque de LAM et ont rapporté des résultats contradictoires et parfois même incohérents. Par conséquent, une méta-analyse a été menée pour mieux apprécier et clarifier l'effet de ce polymorphisme sur cette hémopathie.

Les données des 19 études retenues prises ensemble ont été ordonnées et soumises au logiciel CMA[®] pour faire une méta-analyse. Ces données concernent au total 2160 patients et 7812 témoins. Les résultats obtenus sont précisés dans le **tableau VI**.

Tableau VI : résultat de la méta-analyse C677T *MTHFR* et LAM

Modèle	Test d'association			Hétérogénéité
	OR	95% CI	<i>p-val</i>	<i>p-val</i>
C vs T	1,009	[0,933 ; 1,090]	0,818	0,559
CC + CT vs TT	1,081	[0,927 ; 1,261]	0,319	0,131
TT + CT vs CC	0,987	[0,888 ; 1,098]	0,819	0,504

L'analyse des résultats obtenus suggère que le polymorphisme C677T du gène *MTHFR* ne présente aucun effet certain dans la survenue des LAM comme l'atteste les résultats de la méta-analyse résumés dans le tableau ci-dessus ainsi que les représentations graphiques en forest plot qui s'y rapportent ci-après. En effet, selon les modèles de comparaison dominant (TT + CT vs CC) (**figure 10**), récessif (CC + CT vs TT) (**figure 12**), et alléliques (C vs T) (**figure 14**), les valeurs de *p* obtenues étaient toutes non significatives, respectivement de : 0,819, 0,319 et 0,818.

L'hétérogénéité et le biais statistique entre les publications incluses dans notre méta-analyse ont été évaluées. Selon les différents modèles de comparaison (**tableau VI**) et appréciée sur le funnel plot (**figures 11, 13 et 15**). Toutes les valeurs de *p* étaient statistiquement non significatives.

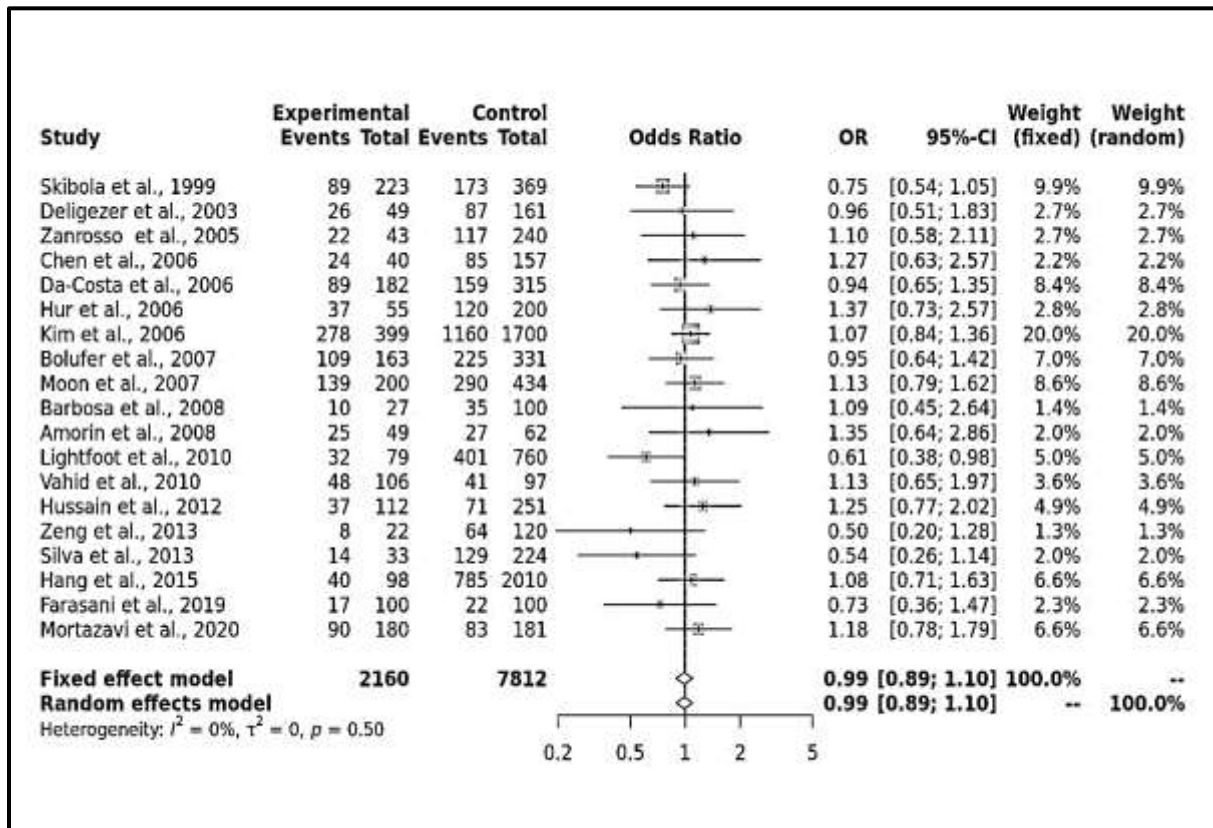


Figure 10 : méta-analyse C677T *MTHFR* et LAM (modèle dominant).

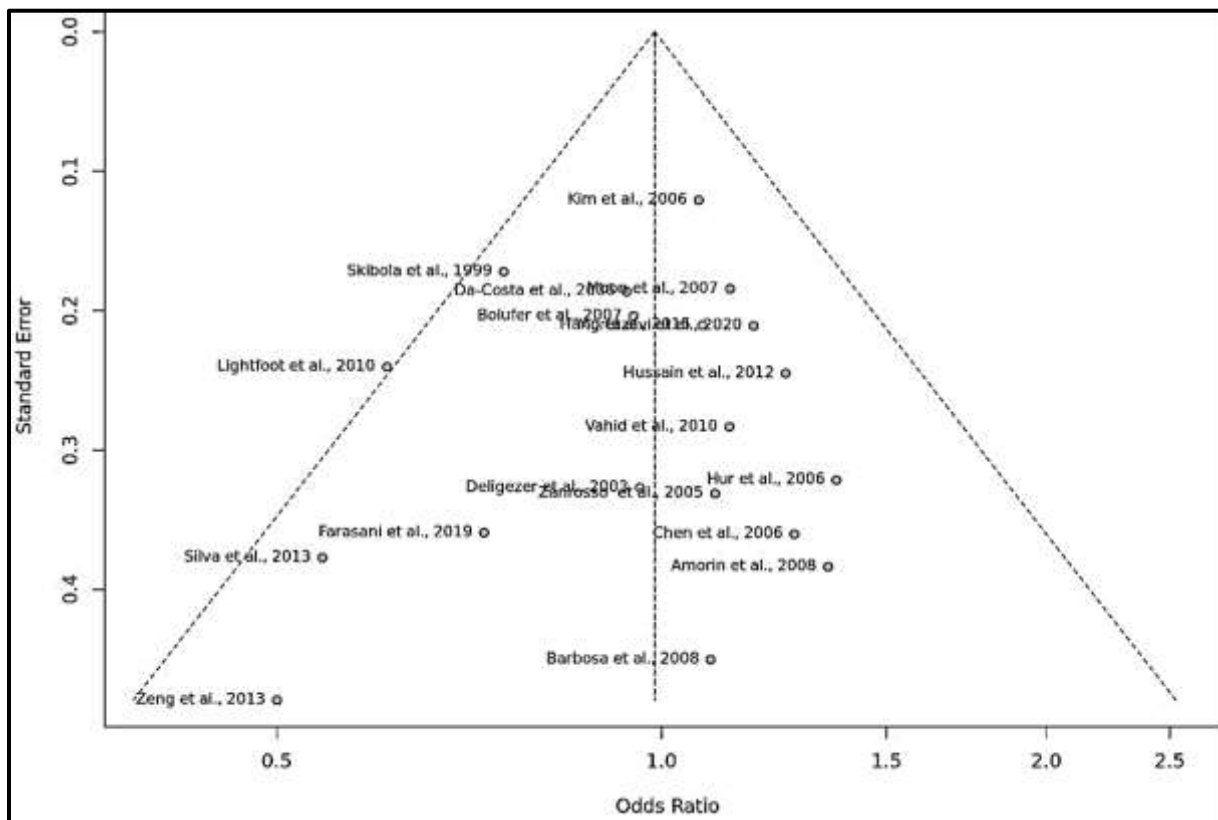


Figure 11 : biais de publication C677T *MTHFR* et LAM (modèle dominant).

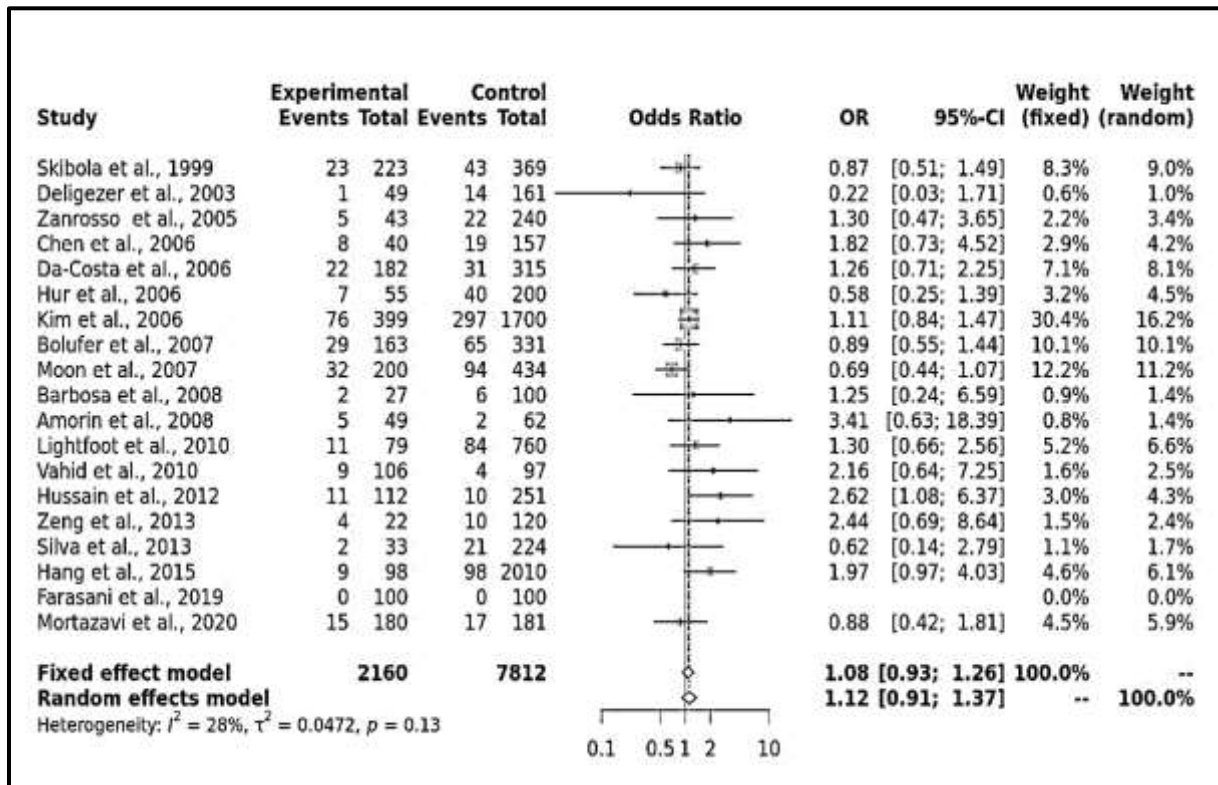


Figure 12 : méta-analyse C677T *MTHFR* et LAM (modèle récessif).

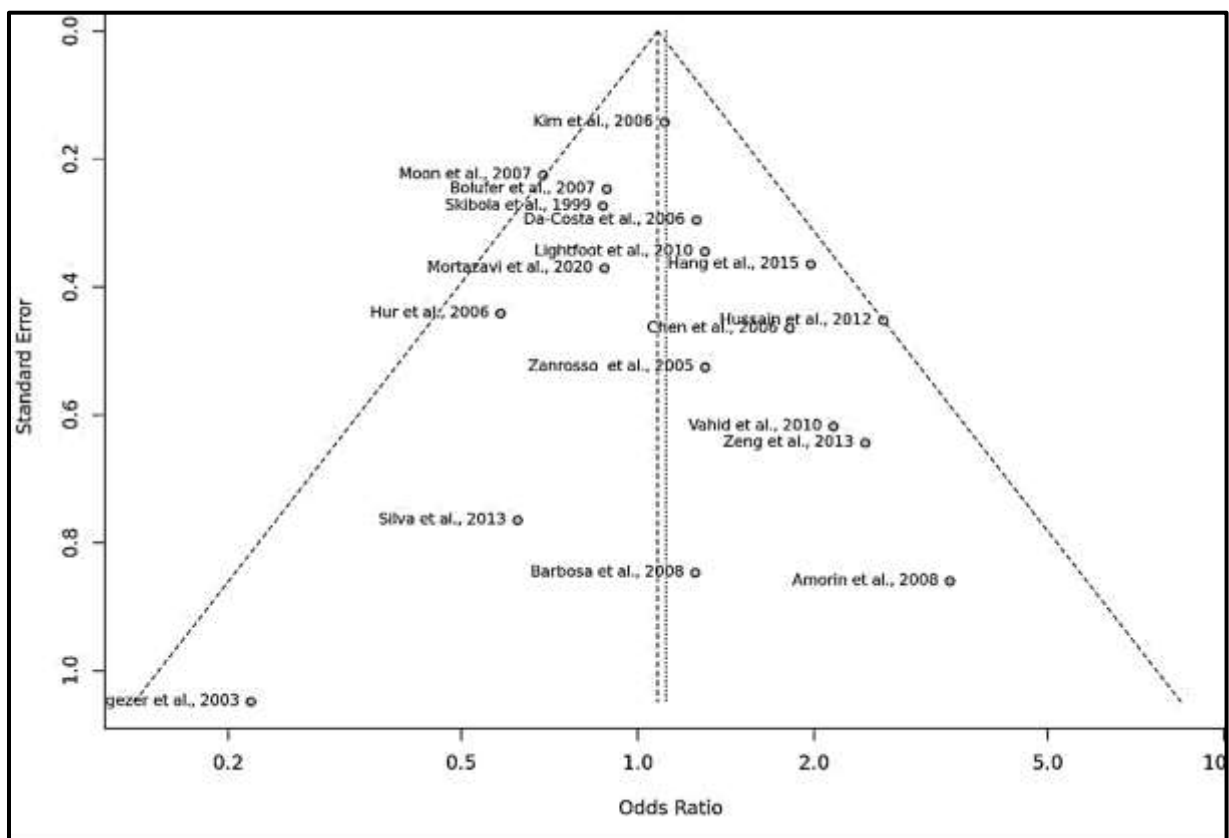


Figure 13 : biais de publication C677T *MTHFR* et LAM (modèle récessif).

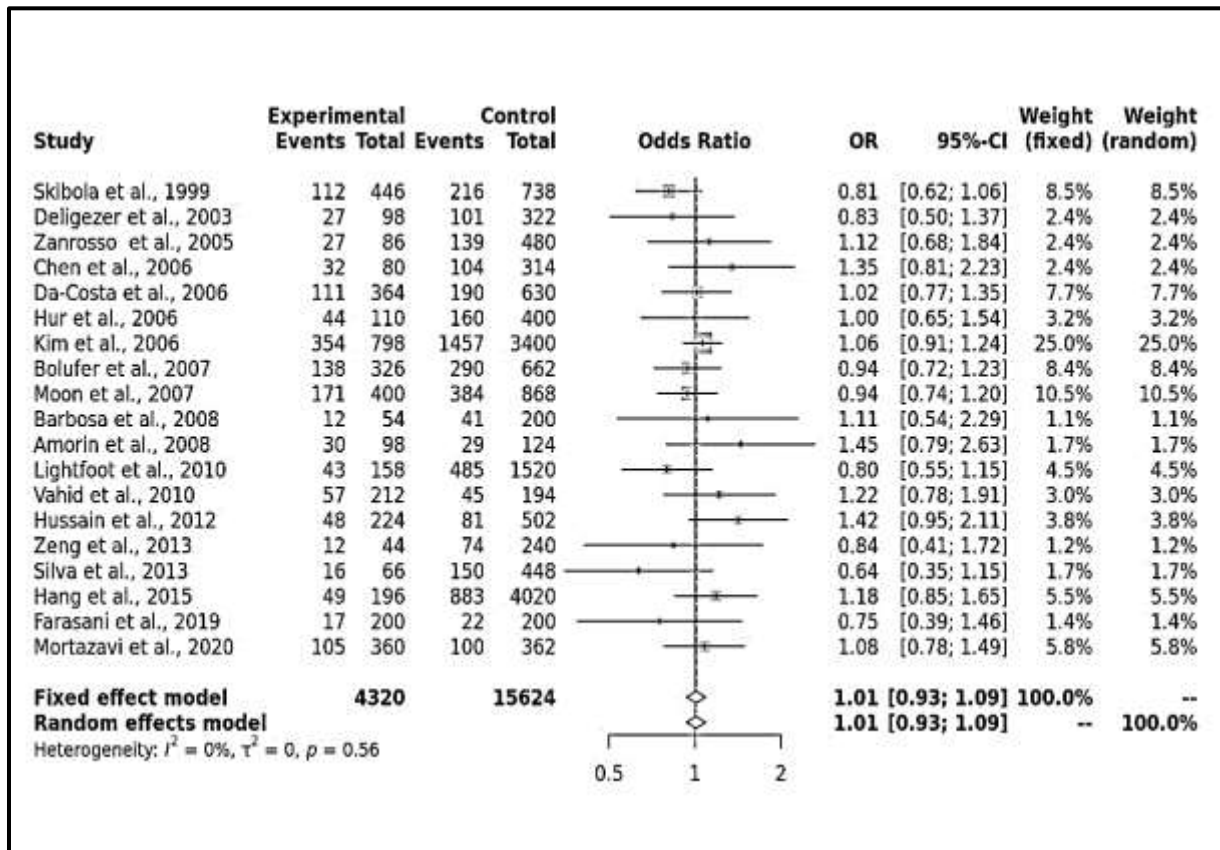


Figure 14 : méta-analyse C677T *MTHFR* et LAM (modèle allélique).

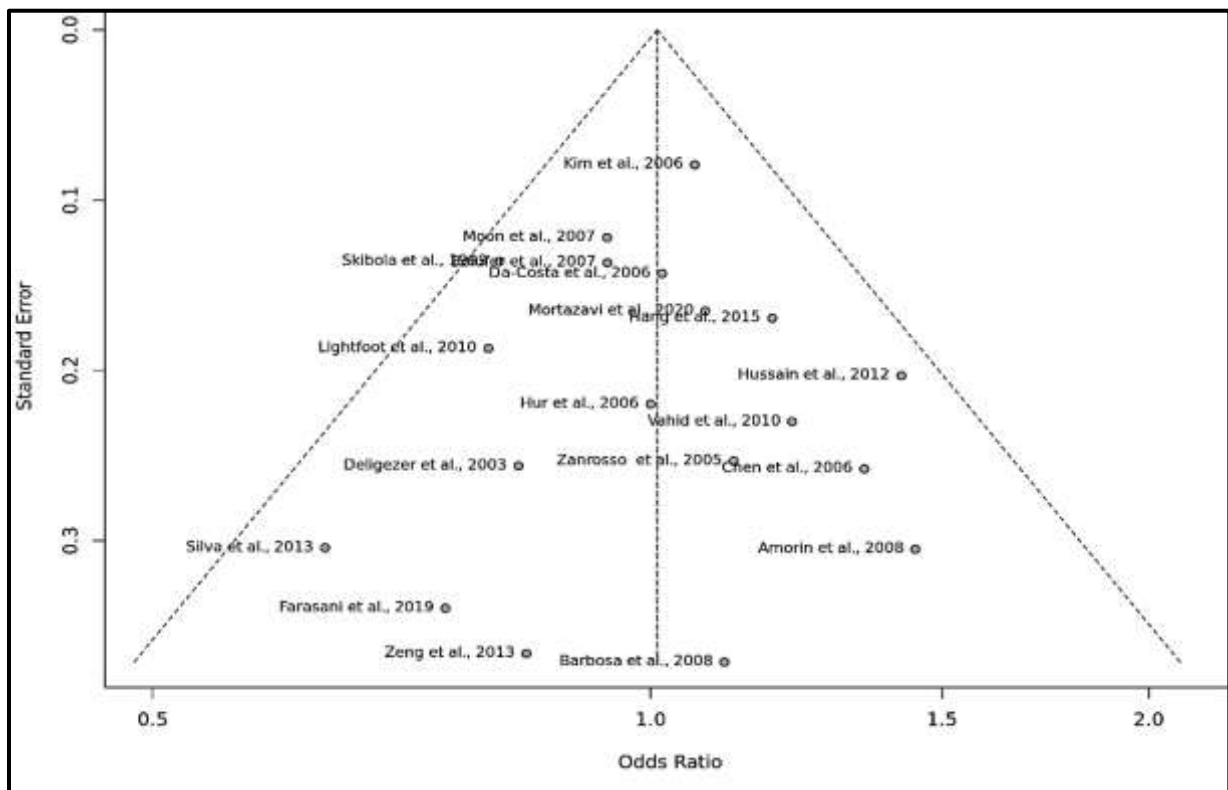


Figure 15 : biais de publication C677T *MTHFR* et LAM (modèle allélique).

En tenant compte de l'ethnicité, les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau ci-après.

Tableau VII : résultat de la méta-analyse C677T MTHFR et LAM en tenant compte de l'ethnicité.

Modèle	Ethnicité	Études	Test d'association		
			OR	95% CI	p-val
C vs T	Total	19	1,0091	[0,9338; 1,0906]	0,818512
	Arabie Saoudite	1	0,7516	[0,3863; 1,4625]	0,400533
	Brésil	5	1,0259	[0,8374; 1,2569]	0,804767
	Chine	3	1,1715	[0,9044; 1,5174]	0,230562
	Corée du Sud	2	1,0558	[0,9123; 1,2218]	0,466552
	Espagne	1	0,9416	[0,7202; 1,2310]	0,659921
	Inde	1	1,4175	[0,9521; 2,1105]	0,085768
	Iran	2	1,0788	[0,7806; 1,4911]	0,645867
	Royaume-Uni	2	0,8061	[0,6498; 0,9999]	0,04987
	Turquie	1	0,8321	[0,5038; 1,3744]	0,472813
CC + CT vs TT	Total	18	1,0814	[0,9270; 1,2615]	0,319577
	Arabie Saoudite	0	NA		
	Brésil	5	1,2767	[0,8191; 1,9899]	0,280633
	Chine	3	1,9910	[1,1911; 3,3282]	0,008612
	Corée du Sud	2	1,0458	[0,8016; 1,3645]	0,741168
	Espagne	1	0,8856	[0,5456; 1,4376]	0,623203
	Inde	1	2,6248	[1,0808; 6,3745]	0,033047
	Iran	2	0,877	[0,4238; 1,8147]	0,723531
	Royaume-Uni	2	1,0178	[0,6687; 1,5491]	0,934526
	Turquie	1	0,2187	[0,0280; 1,7073]	0,147138
TT + CT vs CC	Total	19	0,9878	[0,8886; 1,0981]	0,819795
	Arabie Saoudite	1	0,7262	[0,3590; 1,4687]	0,373284
	Brésil	5	0,9525	[0,7342; 1,2358]	0,714278
	Chine	3	1,0142	[0,7268; 1,4151]	0,934072
	Corée du Sud	2	1,1028	[0,8837; 1,3763]	0,386678
	Espagne	1	0,9509	[0,6377; 1,4181]	0,805149
	Inde	1	1,2507	[0,7738; 2,0214]	0,361097
	Iran	2	1,1807	[0,7810; 1,7851]	0,430847
	Royaume-Uni	2	0,7007	[0,5327; 0,9217]	0,010998
	Turquie	1	0,9615	[0,5065; 1,8253]	0,90449

Les résultats obtenus sont assez contradictoires. En effet, selon le modèle de comparaison allélique, la seule association significative a été constatée en regroupant les deux études ayant porté sur des habitants du Royaume-Uni (ethnie non définie). La valeur de p obtenue était de 0,04987. De même, pour le modèle de comparaison dominant (TT + CT vs CC), l'unique association statistiquement significative ($p = 0,010998$) a été constaté dans le même groupe de population issu du Royaume-Uni. Par contre, avec le modèle de comparaison récessif (CC + CT vs TT), deux associations positives ont été trouvées ; la première dans l'étude ayant porté sur la population indienne ($p = 0,033047$), la deuxième regroupe 3 études ayant été menées sur la population chinoise ($p = 0,008612$).

Ces données suggèrent une implication minime du polymorphisme C677T dans la genèse des LAM. Cette contribution au processus de la leucémogénèse serait plus marquée dans les populations originaires d'Asie.

2- A1298C et LAM

La première étude ayant examiné l'association du polymorphisme A1298C du gène *MTHFR* et l'apparition de la LAM est celle de **skibola et al., 1999** en Royaume-Uni, elle se composait de 223 patients atteints et 334 témoins présumés sains. Cette étude a conclu qu'il n'y avait aucune différence significative pour le risque de survenue d'une LAM entre patients et témoins.

Par la suite, d'autres études ont confirmé cette conclusion en affirmant également qu'il n'y a aucune association significative entre ce polymorphisme A1298C et la LAM : **Zanrosso et al., 2005** (Brésil), **Hur et al., 2006** (Corée du Sud), **Kim et al., 2008** (Corée du Sud), **Barbosa et al., 2008** (Brésil), **Amorin et al., 2008** (Brésil), **Lightfoot et al., 2010** (Royaume-Uni) et **Vahid et al., 2010** (Iran).

Les deux dernières études en date ayant conclu à cette association non significative sont celles de : **Farasani et al., 2019** en Arabie-Saoudite et **Mortazavi et al., 2020** sur une population iranienne. Ces deux études ont été menées des cohortes composées de 100 patients, 100 témoins et 180 patients, 181 témoins respectivement.

Là encore, il est important de signaler que toutes ces études avec la même conclusion ont été menées dans différents pays et sur différentes ethnies : Caucasiennes (Royaume-Uni, Espagne, Arabie Saoudite, Turquie, Iran, Brésil) et Asiatiques (Corée du Sud, Inde, Chine).

Il est intéressant aussi de noter que plusieurs études incluses dans notre méta-analyse ont conclu à l'implication du polymorphisme A1298C dans la survenue d'une LAM, et rapportent l'existence d'une association significative. Ces études exposent le fait que les individus hétérozygotes (AC) et homozygotes mutés (CC) ont une probabilité plus importante, statistiquement significatif, de développer une LAM, et ce en comparaison toujours avec les individus porteurs du génotype homozygote sauvage (AA).

La première étude construite selon le modèle cas-témoin qui a démontré la présence de cette association significative et selon laquelle le génotype 1298AC serait lié à un risque accru de développer une LAM, était menée sur des enfants brésiliens dans différentes régions du pays par **Da-Costa *et al*** en **2006**. Cette étude ayant porté sur 182 patients atteints de LAM et 315 individus sains.

Un an après une autre étude a été menée par **Moon *et al.*, 2007** (Corée du Sud) qui a abouti au même résultat et qui a démontré que le génotype 1298CC pourrait avoir un effet combiné avec d'autres polymorphismes sur le risque de LAM. Cette conclusion a été faite après réalisation d'une étude cas témoins sur une cohorte composée 200 patients et 434 témoins.

Par la suite trois autres études ont confirmé la présence d'une association entre le polymorphisme A1298C du gène *MTHFR* et la survenue de LAM : **Zeng *et al.*, 2013** (Chine), **Silva *et al.*, 2013** (Brésil) et **Hang *et al.*, 2015** (Chine). Ces études ont été menées sur des populations asiatiques et brésiliennes suggérant que ce polymorphisme s'exprime peut-être de façon plus marquée dans ces ethnies.

En fonction de toutes les données recueillies concernant l'association entre le polymorphisme A1298C de la *MTHFR* et le risque de LAM, nous avons constaté que ces études ont apporté souvent des résultats très contrastés ; une association statistiquement positive ou négative a été mise en évidence par ces prospections. Dans ce sens, suivant la même démarche que celle que nous avons entreprise pour le polymorphisme C677T, nous avons exploré par une méta-analyse cette hypothétique association afin d'apporter plus d'explications et d'éclaircissements.

Les données des 15 études retenues prises ensemble ont été ordonnées et soumises au logiciel CMA[®] pour faire une méta-analyse. Ces données concernent au total 1778 patients et 6936 témoins. Les résultats obtenus sont précisés dans le tableau VIII ci-après.

Tableau VIII : résultat de la méta-analyse A1298C *MTHFR* et LAM.

Modèle	Test d'association			Hétérogénéité
	OR	95% CI	<i>p-val</i>	<i>p-val</i>
A vs C	1,017	[0.925; 1.116]	0,726	0,647
AA + AC vs CC	1,097	[0.875; 1.375]	0,419	0,635
CC + AC vs AA	1,004	[0.893; 1.127]	0,951	0,687

L'analyse des résultats obtenus et indiqués dans le tableau ci-dessous ainsi que les représentations graphiques en forest plot ci-après, suggèrent toutes que le polymorphisme A1298 du gène *MTHFR* ne présente aucune conséquence notable sur le risque de survenue des LAM. En effet, selon les modèle de comparaison dominant (CC + AC vs AA) (**figure 16**), récessif (AA + AC vs CC) (**figure 18**), et alléliques (A vs C) (**figure 20**), les valeurs de *p* obtenues étaient toutes non significatives, respectivement de : 0,951, 0,951 et 0,726.

L'hétérogénéité et le biais statistique entre les publications incluses dans notre méta-analyse ont été évaluées. Selon les différents modèles de comparaison (**tableau VIII**) et appréciée sur le funnel plot (**figures 17, 19 et 21**). Toutes les valeurs de *p* étaient statistiquement non significatives.

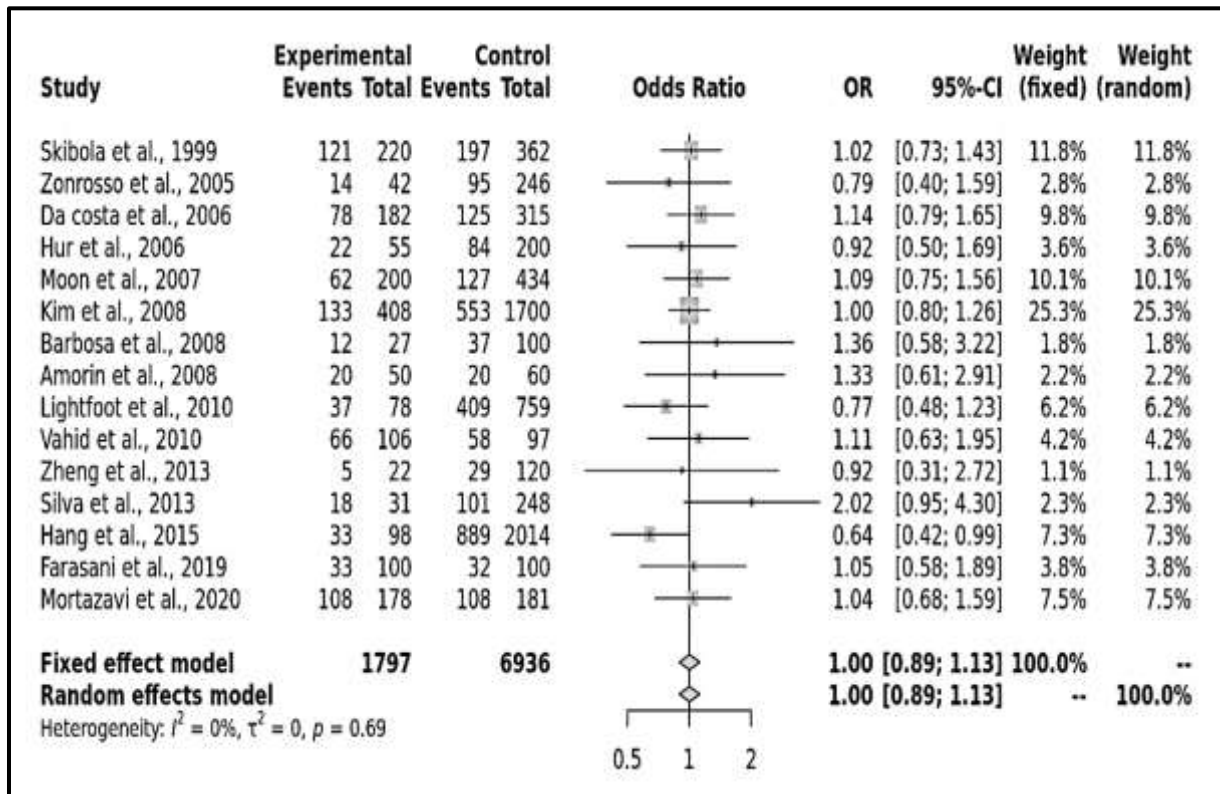


Figure 16 : méta-analyse A1298C *MTHFR* et LAM (modèle dominant).

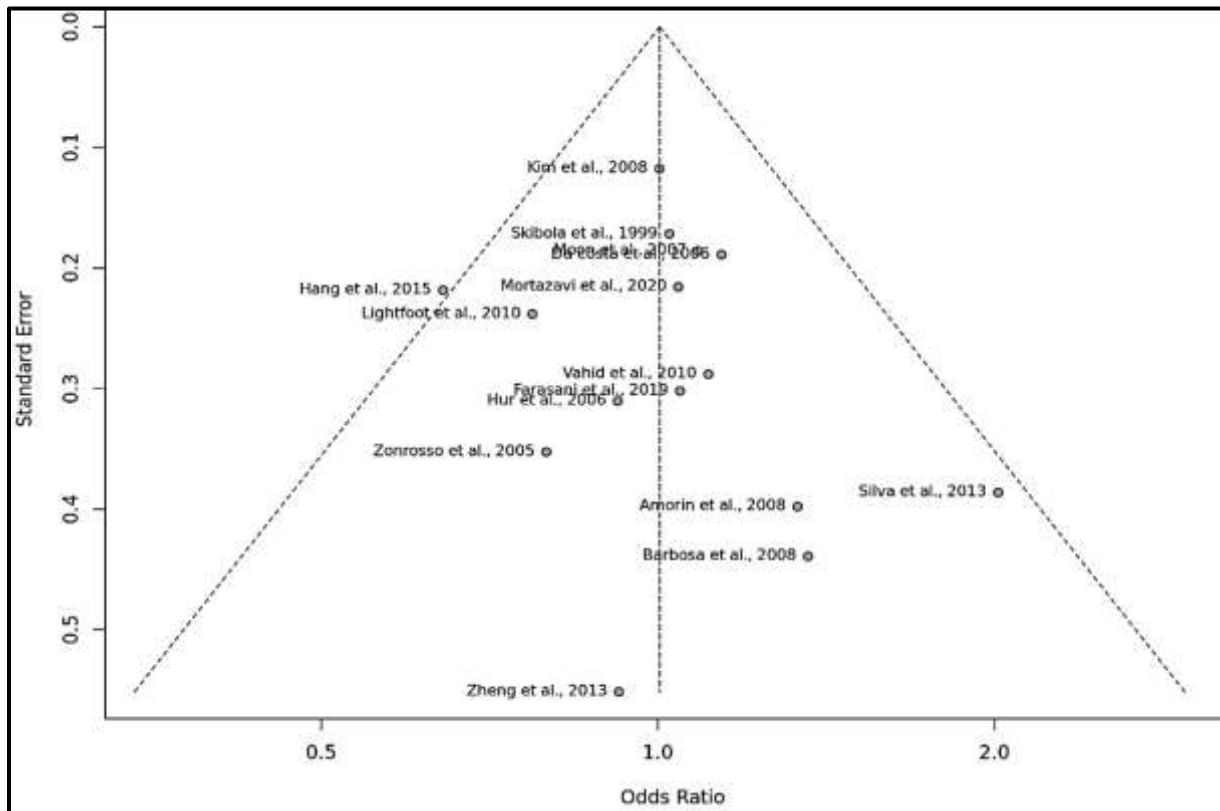


Figure 17 : biais de publication A1298C *MTHFR* et LAM (modèle dominant).

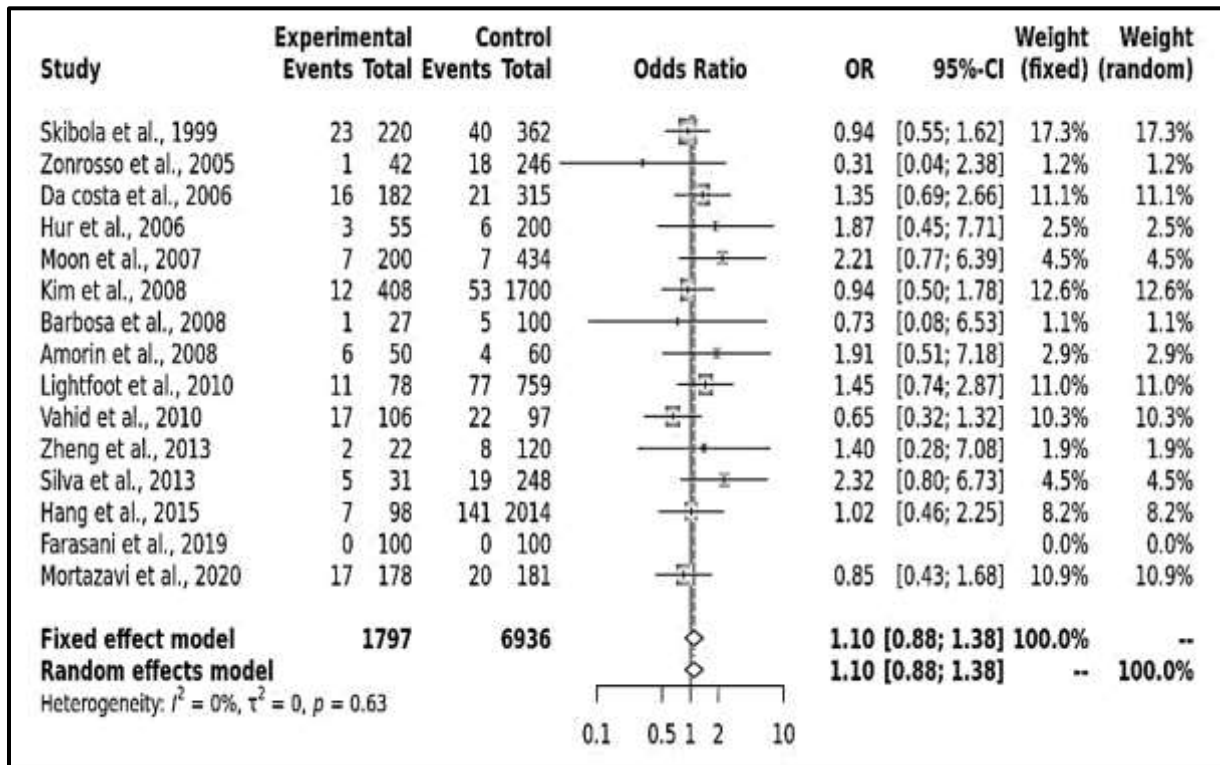


Figure 18 : méta-analyse A1298C *MTHFR* et LAM (modèle récessif).

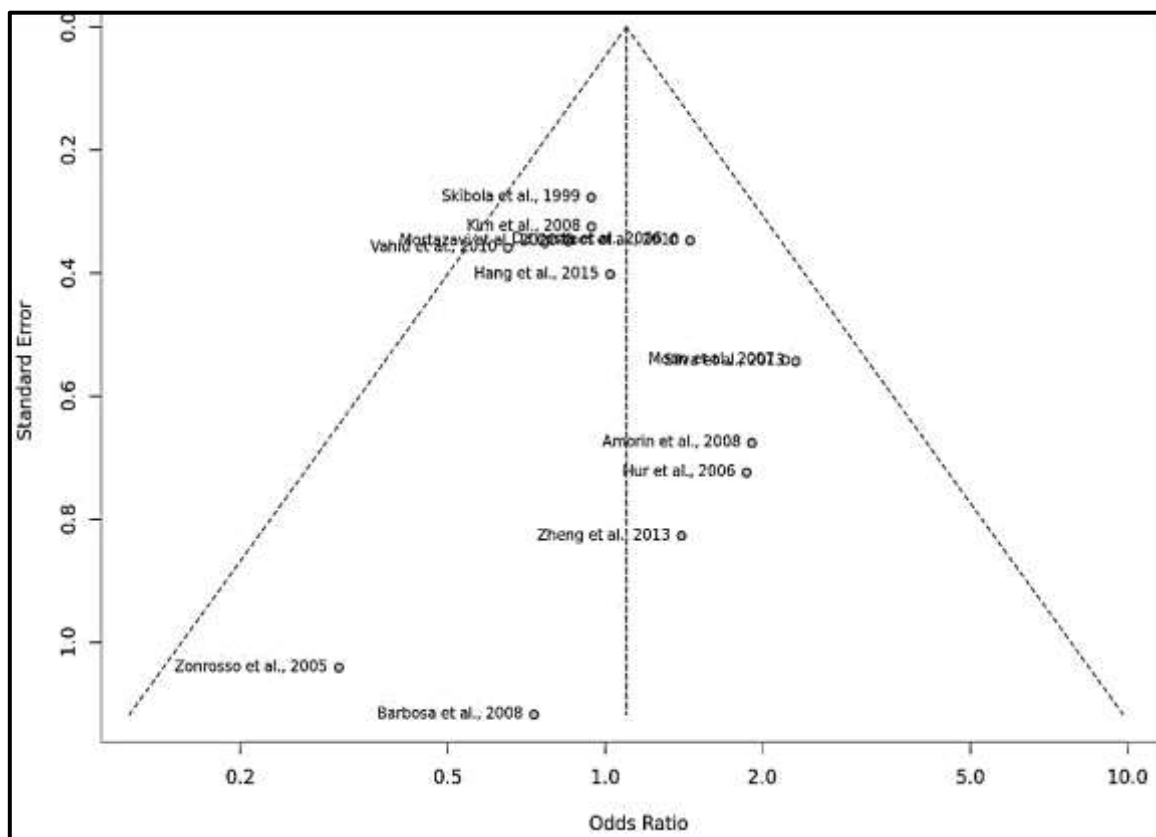


Figure 19 : biais de publication A1298C *MTHFR* et LAM (modèle récessif)

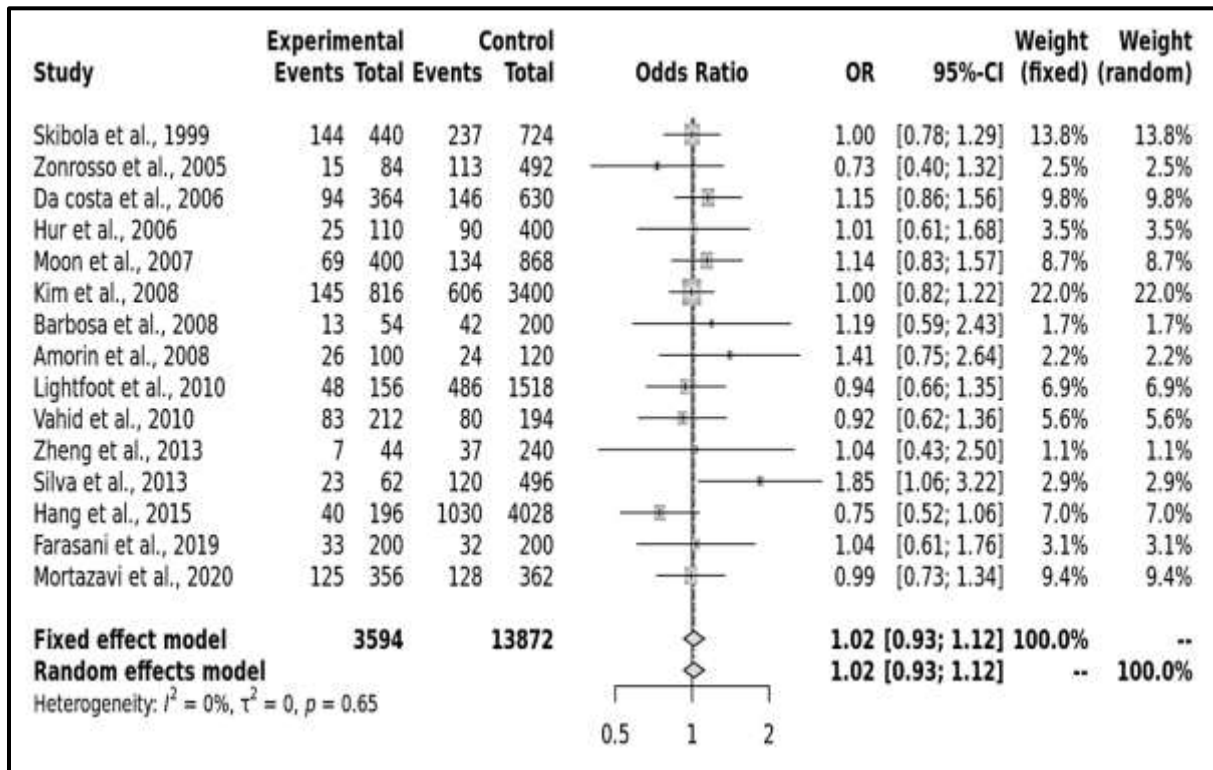


Figure 20 : méta-analyse A1298C *MTHFR* et LAM (modèle allélique).

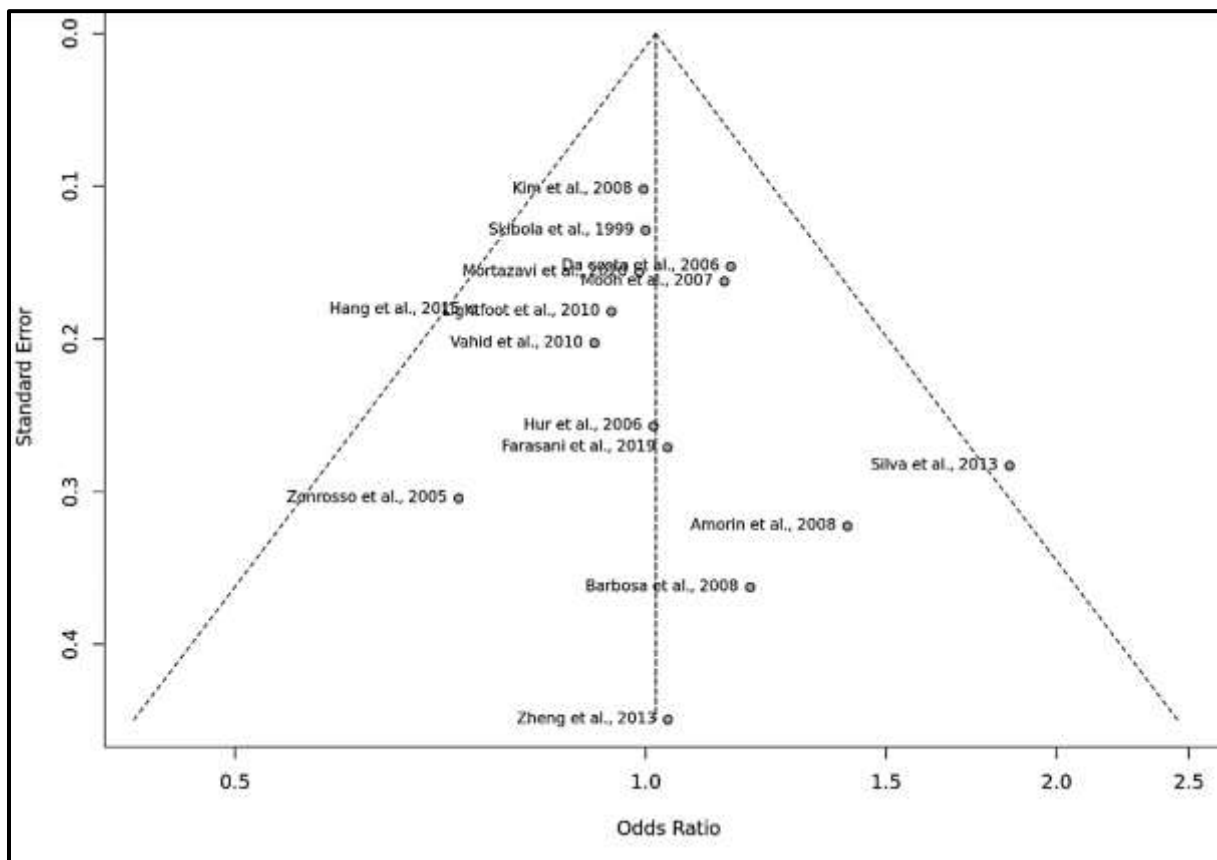


Figure 21 : biais de publication A1298C *MTHFR* et LAM (modèle allélique).

En tenant compte de l'ethnicité, les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau ci-après.

Tableau VIII : résultat de la méta-analyse A1298C *MTHFR* et LAM en tenant compte de l'ethnicité.

Modèle	Ethnicité	Études	Test d'association		
			OR	95% CI	<i>p-val</i>
A vs C	Total	15	1,0169	[0,9259; 1,1167]	0,726239
	Arabie Saoudite	1	1,0374	[0,6098; 1,7649]	0,892193
	Brésil	5	1,1972	[0,9661; 1,4837]	0,099984
	Chine	2	0,7815	[0,5625; 1,0858]	0,141664
	Corée du Sud	2	1,0355	[0,8743; 1,2264]	0,68606
	Iran	2	0,9616	[0,7545; 1,2256]	0,75176
	Royaume-Uni	2	0,9806	[0,7980; 1,2051]	0,852492
AA + AC vs CC	Total	14	1,0974	[0,8758; 1,3751]	0,419283
	Arabie Saoudite	0	NA		
	Brésil	5	1,4146	[0,8621; 2,3213]	0,169882
	Chine	2	1,0852	[0,5344; 2,2037]	0,821099
	Corée du Sud	2	1,1802	[0,6839; 2,0366]	0,551805
	Iran	2	0,747	[0,4577; 1,2192]	0,243163
	Royaume-Uni	2	1,1139	[0,7289; 1,7023]	0,618177
CC + AC vs AA	Total	15	1,0037	[0,8939; 1,1270]	0,950541
	Arabie Saoudite	1	1,0466	[0,5791; 1,8916]	0,880003
	Brésil	5	1,2010	[0,9204; 1,5671]	0,17728
	Chine	2	0,6748	[0,4532; 1,0047]	0,052742
	Corée du Sud	2	1,0262	[0,8446; 1,2469]	0,794741
	Iran	2	1,0663	[0,7602; 1,4957]	0,710022
	Royaume-Uni	2	0,9296	[0,7075; 1,2214]	0,600139

En tenant compte de l'ethnicité, et selon tous les modèles de comparaisons étudiées (dominant, récessif et allélique), aucune corrélation statistiquement significative n'a été relevée. En effet, les valeurs de *p* étaient toutes supérieures au seuil de significativité fixé à 0,05. Cela pourrait être expliqué par le nombre réduit d'études incluses dans chaque sous-groupe ethnique (2 pour la plupart, sauf pour l'ethnie brésilienne dont le nombre est de 5), ou, plus probablement par l'absence d'effet du variant A1298 de la *MTHFR* sur le risque de survenue d'une LAM. Il se pourrait également que le risque relatif attribué à ce variant dans le développement de cette hémopathie soit minime, en comparaison avec celui du variant C677T, et dans ce sens, ne pourrait être relevé que sur une cohorte d'une taille beaucoup plus importante ou dans des conditions particulières (carences en folates).

3- Discussion générale

Il est aujourd'hui admis par la communauté scientifique que le développement des cancers est sujet à des facteurs génétiques et environnementaux. Cependant, il nous est encore très difficile de déterminer la part relative de ces deux composantes, souvent complémentaires, dans le processus de cancérogenèse (**Baldi et al., 2008**).

En ce qui concerne les LAM, hormis certaines expositions à des facteurs environnementaux (radiations ionisantes, exposition au benzène, chimiothérapies), ainsi que certaines maladies génétiques constitutionnelles (trisomie 21), l'étiologie exacte est le plus souvent inconnue. En dépit des altérations génétiques et épigénétiques considérables associées à cette hémopathie, les mécanismes en cause demeurent en grande partie méconnus (**Ajrrouche, 2015**).

L'une des pistes potentielles explorées actuellement, et qui rallie facteurs génétiques et environnementaux, est la variation inter-individuelle dans le métabolisme des folates qui peut être sujette à des facteurs génétiques (polymorphismes) et environnementaux (alimentation). En effet, les folates interfèrent avec les phénomènes de la carcinogenèse en modulant la méthylation de l'ADN et en contrôlant sa synthèse. Le rôle des folates dans la prévention de la carcinogenèse a été fortement suspecté et prouvé pour plusieurs pathologies cancéreuses. Ainsi, plusieurs études prospectives menées dans différents pays ont mis en évidence l'association d'un apport alimentaire suffisant en folates avec une réduction significative du risque de cancer. Le statut cellulaire en folates dépend non seulement de l'apport alimentaire en folates mais aussi de déterminants génotypiques tels que les polymorphismes du gène codant pour l'enzyme MTHFR. En effet, cette enzyme clef dirige le cycle des folates vers la méthylation de l'ADN et agit indirectement sur le niveau de synthèse de l'ADN. Cette activité varie selon les polymorphismes de l'enzyme et l'apport alimentaire en folates (**Dannus, 2017**).

En 1995, **Frosst et al** ont identifié une « mutation » commune C677T, autosomique récessive, du gène *MTHFR*, résultant du substitution d'une cytosine en position 677 par une thymine, et à l'origine du remplacement d'une alanine par une valine. La prévalence de cette « mutation » à l'état homozygote (TT) est variable parmi la population mondiale selon l'origine ethnique. Elle est retrouvée chez environ 10% des Caucasiens, avec des variations notamment chez la population caucasienne d'Europe (jusqu'à 20% dans certaines régions d'Italie), alors qu'un très faible pourcentage des afro-américains sont concernés (**They-They et al., 2009**).

À l'état hétérozygote CT, cette mutation est présente chez approximativement 40% des Caucasiens, 20% des Afro-américains, et 15,9% de la population noire-africaine. Le phénotype de ce variant génotypique, appelé « variant thermolabile », est caractérisé par une diminution d'activité enzymatique de 70% en cas d'homozygotie, et de 35% en cas d'hétérozygotie (**They-They et al., 2009**).

En 1998, une autre variation du gène *MTHFR*, moins fréquente que la précédente, a été rapportée par **Van der put et al**, la « mutation » A1298C qui entraîne également une réduction de l'activité de l'enzyme *MTHFR* plus marquée en cas d'homozygotie.

Les résultats des différentes études cas-témoins concernant l'association entre les SNP (C677T et A1298C) et la LAM sont difficilement interprétables, car la fréquence de ces polymorphismes de la *MTHFR* dans la population générale montre des différences indéniables. La fréquence de distribution du polymorphisme A1298C de la *MTHFR* n'est pas étudiée de manière aussi étendue que celle du polymorphisme C677T du même gène. Les données actuelles suggèrent que les allèles T (C677T) et C (A1298C) dit « muté » et souvent supposés délétères sont rarement retrouvés chez les africains, les asiatiques et les hispaniques à l'état homozygote et que les génotypes *MTHFR* 677TT et 1298CC sont essentiellement rencontrés chez les Caucasiens plus que dans d'autres ethnies. En effet, un gradient descendant Nord-Sud a été observé pour ces deux polymorphismes. De ce fait, la fréquence des génotypes homozygotes mutés pour ces deux variants alléliques est très faible dans les populations africaines subsahariennes en comparaison avec les populations du Nord contient. Une des hypothèses expliquant cette discordance selon les populations étudiées pourrait être un régime particulièrement riche en folates dans les populations européennes, due à un meilleur niveau et hygiène de vie, ce qui pourrait annuler ou du moins minimiser l'effet de ce polymorphisme. Par ailleurs, comme le rapportent de nombreuses études, les bénéfices potentiels d'une supplémentation en folates pourraient facilement combler une éventuelle déficience de l'activité enzymatique de la *MTHFR* due à ce polymorphisme (**Kim, 2008**).

La discordance dans les résultats incluses dans nos deux méta-analyses peut être expliquée par des différences dans les populations étudiées. En effet, divers fonds génétiques, des variations ethniques et géographiques, ainsi qu'aux différentes expositions aux facteurs de risque environnementaux (alimentation) sont d'autant de facteurs de confusion et d'hétérogénéité dans une méta-analyse pouvant conduire à ces observations.

Les études d'association construites sur le modèle cas-témoins constituent un outil formidable en génétique et cela, en dépit du fait que les résultats rapportés ne sont pas toujours reproductibles et souvent discordants. Différents effets fondateurs pourraient ainsi expliquer ces associations contradictoires. Dans ce type d'études, plusieurs paramètres sont importants : la taille et la composition des populations étudiées (en particulier des populations de témoins), le type de polymorphisme (SNP ou de répétition), les techniques utilisées pour le mettre en évidence (PCR/digestion, séquençage ou autre), l'hétérogénéité phénotypique du dysfonctionnement, la variabilité interindividuelle des effets phénotypiques ainsi que les différences ethniques et géographiques contribuant aux variations génétiques. Tout cela sans compter avec les artefacts statistiques. D'autant que la grande majorité des journaux scientifiques aura plutôt tendance à ne publier que les résultats positifs des études d'associations, et refuser la publication de résultats négatifs, ce qui entraîne indéniablement un biais lors des méta-analyses (**Rezgoune *et al.*, 2016**).

Les résultats de plusieurs centaines d'études d'association entre des polymorphismes génétiques relativement fréquents dans la population générale et le risque de LAM ont été publiés durant ces dernières années. En dépit de cet effort considérable, le bilan des connaissances acquises est assez décevant ; à quelques exceptions près, les associations positives mises en évidence n'ont généralement pas été confirmées. La taille relativement faible des populations étudiées (généralement quelques centaines de cas) et de ce fait la puissance statistique insuffisante pour mettre en évidence des effets modestes (OR attendus inférieurs à 1,5), pourrait en partie expliquer la discordance des résultats. De plus, les effets phénotypiques des polymorphismes géniques sont eux-mêmes modulés par d'autres facteurs génétiques ainsi que par des facteurs environnementaux. Cette interférence est un exemple important de l'interaction gène-environnement dans le développement phénotypique. Il est donc probable que certains polymorphismes n'entraînent une altération minimes de l'hématopoïèse qu'en présence d'un fond génétique particulier et/ou en présence de facteurs environnementaux favorisant.

Conclusion
et
Perspectives

Nous avons voulu, à travers cette étude de type méta-analyse, apporter notre modeste contribution sur des interrogations relatives à l'aspect génétique des LAM dont l'étiologie demeure méconnue. Dans cette quête des facteurs de risques génétiques, depuis plusieurs années, dans le monde entier, des centaines d'études construites selon le modèle cas/témoin ont été entreprises et les résultats sur l'implication de certains gènes, codants pour des enzymes impliquées dans diverses voies métaboliques, sont encourageants. La connaissance des causes génétiques et la découverte de nouveaux gènes impliqués dans la survenue des LAM est primordiale pour une meilleure compréhension de son étiologie, ce qui pourra conduire à une meilleure prise en charge, plus adaptée et plus efficace.

Après la réalisation de ce modeste travail de recherche et l'intégration des données scientifiques disponibles sur cette thématique, il paraît clair que les LAM, dites « idiopathiques » pour la plupart, ne sont ni la conséquence de l'effet d'une exposition environnementale isolée, ni celui d'une mutation génétique unique, ni le résultat exclusif d'un ou de nombreux polymorphismes présumés délétères, mais sont, généralement, dues à de nombreux facteurs de risque génétiques et environnementaux dont les effets peuvent se combiner de façons distinctes.

Pour les variants C677T et A1298C du gène *MTHFR*, nos résultats révèlent qu'ils ne constituent pas des facteurs de risques majeurs pour les LAM. Les résultats de cette étude s'étendent à d'autres antérieurs (cas-témoins et méta-analyses) qui rapportent la même conclusion. Néanmoins, leur impact sur le processus de leucémogénèse n'est pas totalement exclu. La possibilité que ces polymorphismes du gène codant pour cette enzyme clefs du métabolisme des folates affectent un sous-type précis de LAM est bien réelle. Cela concernerait en particulier les individus présentant une instabilité chromosomique, car les folates sont clairement impliqués dans les mécanismes de réparation de l'ADN et que les LAM, pour la plupart, sont caractérisées par des anomalies cytogénétiques récurrentes. De plus, l'influence des deux polymorphismes communs du gène *MTHFR* ne peut expliquer la variation génétique interindividuelle dans le métabolisme des folates car d'autres gènes, également polymorphes, sont impliqués dans cette voie.

Malheureusement, le faible effectif ainsi que l'absence de données sur le statut en folates dans ces études pourraient également expliquer ces résultats discordants. Les connaissances dans ce domaine sont encore discutables et nécessitent d'être approfondies par des études sur de larges cohortes qui tiennent compte des facteurs nutritionnels, environnementaux et génétiques qui interfèrent avec ce métabolisme.

Les polymorphismes étudiés du gène *MTHFR* comme facteur de risque potentiel des LAM sont des éléments qui sont considérés à l'heure actuelle comme des cofacteurs présents également chez les individus sains, plutôt que de possibles acteurs spécifiques d'une leucémogénèse myéloïde. Ces variants génétiques par eux-mêmes seraient probablement capables de conférer un risque relativement mineur qui pourrait être aggravé par la présence d'autres cofacteurs génétiques et/ou environnementaux.

À la lumière de ce travail, nous voyons comme perspectives :

- La nécessité de l'analyse de cohortes de grande taille, ainsi que sur des sous-types spécifiques de LAM, pour mettre en évidence l'effet réel de ces polymorphismes.
- Établir, en collaboration avec les laboratoires de biologie moléculaire du pays, une banque de données concernant les polymorphismes de la *MTHFR* pour les patients (diverses pathologies) et témoins. Ces données nous permettront d'avoir une idée sur la constitution génétique (pour ces SNPs) dans la population algérienne et servira de points de départ pour la réalisation d'études ultérieures.
- D'autres études doivent être menées pour explorer de façon précise le statut du métabolisme des folates en interaction avec des facteurs environnementaux (régime nutritionnel conditionné par les disparités socio-économiques) afin d'établir son rôle dans la leucémogénèse.

Références bibliographiques

1. **Aissi, K., Rossi, P., Le, T. B. V., Granel, B., Bagnères, D., Demoux, A. L., ... & Francès, Y.** (2006). Myocardite nécrosante révélant une leucémie aiguë lymphoblastique hyperéosinophilique. *La Revue de médecine interne*, 27(11), 869-873.
2. **Ajrouche, A., Estellat, C., Roy, C., Hajage, D., Dalichampt, M., & Tubach, F.** (2015). ASPIK: étude de cohorte historique de l'effet préventif de l'aspirine à faible dose sur le risque de cancer. *Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique*, 63, S76-S77.
3. **Ajrouche, R.** (2015). *Facteurs de risque des leucémies aiguës de l'enfant: analyse de l'enquête ESTELLE* (Doctoral dissertation, Paris 11).
4. **Akashi, K., Traver, D., Miyamoto, T., & Weissman, I. L.** (2000). A clonogenic common myeloid progenitor that gives rise to all myeloid lineages. *Nature*, 404(6774), 193-197.
5. **Alam, M. A., Husain, S. A., Narang, R., Chauhan, S. S., Kabra, M., & Vasisht, S.** (2008). Association of polymorphism in the thermolabile 5, 10-methylene tetrahydrofolate reductase gene and hyperhomocysteinemia with coronary artery disease. *Molecular and cellular biochemistry*, 310(1), 111-117.
6. **Amigou, A.** (2013). *Etude des facteurs de risque des leucémies de l'enfant* (Doctoral dissertation, Paris 11).
7. **Amorim, M. R., Zanrosso, C. W., Magalhães, I. Q., Pereira, S. C., Figueiredo, A., Emerenciano, M., ... & Pombo-de-Oliveira, M. S.** (2008). MTHFR 677C→T and 1298A→C polymorphisms in children with Down syndrome and acute myeloid leukemia in Brazil. *Pediatric hematology and oncology*, 25(8), 744-750.
8. **Antoni, G.** (2012). *Identification de facteurs génétiques modulant deux phénotypes intermédiaires de la maladie thrombo-embolique veineuse: les taux de facteurs VIII et von Willebrand: Intérêt de l'utilisation de différentes approches de recherche pangénomique* (Doctoral dissertation, Paris 11).
9. **Bacher, U., Haferlach, T., Schoch, C., Kern, W., & Schnittger, S.** (2006). Implications of NRAS mutations in AML: a study of 2502 patients. *Blood*, 107(10), 3847-3853.
10. **Baldi, A., Campioni, M., & Signorile, P. G.** (2008). Endometriosis: pathogenesis, diagnosis, therapy and association with cancer. *Oncology reports*, 19(4), 843-846.
11. **Baldi, I., Bard, D., Barouki, R., Benhamou, S., Bénichou, J., Bernier, M. O., ... & Walschaerts, M.** (2008). *Cancer et environnement: expertise collective* (Doctoral dissertation, Institut national de la santé et de la recherche médicale (INSERM)).
12. **Barbosa, C. G., Souza, C. L., Moura Neto, J. P. D., Arruda, M. D. G. B., Barreto, J. H., Reis, M. G., & Goncalves, M. S.** (2008). Methylene tetrahydrofolate reductase polymorphisms in myeloid leukemia patients from Northeastern Brazil. *Genetics and Molecular Biology*, 31, 29-32.

13. **Benakli, M.** (2009) Approches épidémiologiques des Leucémies aiguës myéloïdes en Algérie. *Revue Algérienne d'Hématologie*, N°00, p.22-24.
14. **Bennouar, N., Allami, A., Azeddoug, H., Bendris, A., Laraoui, A., El Jaffali, A., ... & Benomar, M.** (2007). Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and homocysteine are risk factors for coronary artery disease in Moroccan population. *Journal of biomedicine and biotechnology*, 2007.
15. **Berger, F., Felman, P., & Bryon, P. A.** (1998). Aspects morphologiques des lymphomes B de bas grade. In *Annales de pathologie (Paris)* (Vol. 18, No. 4, pp. 261-275).
16. **Bernard, O.** (2010). Mécanismes de la leucémogénèse. *Bulletin du cancer*, 97(11), 1381-1388
17. **Binet, C.** (2003). Le sang. Cours en ligne. Faculté de Médecine de Tours.
18. **Boissel, N., Nibourel, O., Renneville, A., Gardin, C., Reman, O., Contentin, N., ... & Preudhomme, C.** (2010). Prognostic impact of isocitrate dehydrogenase enzyme isoforms 1 and 2 mutations in acute myeloid leukemia: a study by the Acute Leukemia French Association group. *Journal of Clinical Oncology*, 28(23), 3717-3723.
19. **Boissel, J. P.** (2007). La méta-analyse des essais cliniques: son utilité et ses pièges. *Bulletin de l'Académie nationale de médecine*, 191(4-5), 759-770.
20. **Boissel, N., & Dombret, P. H.** (2006). Leucémies aiguës. *La Revue du praticien*, 56, 71.
21. **Bolufer, P., Collado, M., Barragán, E., Cervera, J., Calasanz, M. J., Colomer, D., ... & Sanz, M. A.** (2007). The potential effect of gender in combination with common genetic polymorphisms of drug-metabolizing enzymes on the risk of developing acute leukemia. *haematologica*, 92(3), 308-314.
22. **Borson-Chazot, F., Guadagnino, L., Bernard, S., & Moulin, P.** (1999). Hyperhomocystéinémie et risque vasculaire. *Act Med Int*, 3, 31-4.
23. **Bossard, N., Landais, P., & Thalabard, J. C.** (1999). La démarche méta-analytique: concepts méthodologiques généraux. *Médecine thérapeutique/Pédiatrie*, 1(6), 527-35.
24. **Botto, L. D., & Yang, Q.** (2000). 5, 10-Methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies: a HuGE review. *American journal of epidemiology*, 151(9), 862-877.
25. **Bouchard, F.** (2010). *Rôle d'EGR-1 dans la croissance du lymphome* (Doctoral dissertation, Université du Québec, Institut National de la Recherche Scientifique).
26. **Braham-Jmili, N., Sendi-Senana, H., Labiadh, S., Abdelali, R. B., Abdelaziz, A. B., Khelif, A., ... & Kortas, M.** (2006, September). Caractéristiques hématologiques et classification FAB et OMS de 153 cas de leucémies aiguës myéloïdes en Tunisie. In *Annales de Biologie Clinique* (Vol. 64, No. 5, pp. 457-465).

27. **Brattström, L., Wilcken, D. E., Ohrvik, J., & Brudin, L.** (1998). Common methylenetetrahydrofolate reductase gene mutation leads to hyperhomocysteinemia but not to vascular disease: the result of a meta-analysis. *Circulation*, *98*(23), 2520-2526.
28. **Brault, C., Marc, J., Delette, C., Gruson, B., Marolleau, J. P., Maizel, J., & Zerbib, Y.** (2019). L'effet Warburg, un challenge diagnostique pour le médecin réanimateur. *Médecine Intensive Réanimation*, *28*(6), 435-442.
29. **Brouwer, F., Buchner, F. L., Ragas, A. M. J., Hendriks, H., & Huijbregts, M. A. J.** (2006). True uncertainty and interindividual variability in human exposure modeling. In *International Conference on Environmental Epidemiology & Exposure* (pp. 73-73). Paris, France: Agence Française de Sécurité Sanitaire de l'Environnement et du Travail (AFSSET).
30. **Bryon, P. H.** (1998). Anatomie et histologie de la moelle osseuse. *Encycl Méd Chir*.
31. **Buchner, T., Berdel, W. E., Schoch, C., Haferlach, T., Serve, H. L., Kienast, J., ... & Hiddemann, W.** (2006). Double induction containing either two courses or one course of high-dose cytarabine plus mitoxantrone and postremission therapy by either autologous stem-cell transplantation or by prolonged maintenance for acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol*, *24*(16), 2480-9.
32. **Busson-Le Coniat, M., Salomon-Nguyen, F., Dastugue, N., Maarek, O., Lafage-Pochitaloff, M., Mozziconacci, M. J., ... & Berger, R.** (1999). Fluorescence in situ hybridization analysis of chromosome 1 abnormalities in hematopoietic disorders: rearrangements of DNA satellite II and new recurrent translocations. *Leukemia*, *13*(12), 1975-1981.
33. **Casetti, L., Martin-Lannerée, S., Najjar, I., & Dusanter-Fourt, I.** (2013). STAT5, une nouvelle cible thérapeutique contre les récives de la leucémie myéloïde chronique?. *médecine/sciences*, *29*(8-9), 693-695.
34. **Castaigne, S., Chevret, S., Archimbaud, E., Fenaux, P., Bordessoule, D., Tilly, H., ... & Dombret, H.** (2004). Randomized comparison of double induction and timed-sequential induction to a "3+ 7" induction in adults with AML: long-term analysis of the Acute Leukemia French Association (ALFA) 9000 study. *Blood*, *104*(8), 2467-2474.
35. **Chaker, H.** (2010). Caractérisation cytogénétique et clinique des gènes de fusion impliquant MLL dans les leucémies.
36. **Chan, I. T., Kutok, J. L., Williams, I. R., Cohen, S., Kelly, L., Shigematsu, H., ... & Gilliland, D. G.** (2004). Conditional expression of oncogenic K-ras from its endogenous promoter induces a myeloproliferative disease. *The Journal of clinical investigation*, *113*(4), 528-538.
37. **Chango, A.** (2010). Les folates dans la prévention et dans le déterminisme du cancer. *Journal africain du cancer/African Journal of Cancer*, *2*(3), 171-177.
38. **Charpentier, A.** (2008). Physiopathologie: L'hématopoïèse, un système complexe. *Soins*, (723), 38-40.

39. **Chen, B. A., Jiang, N., Ji, M. J., Hou, P., Lu, Z. H., Gao, C., ... & Zhao, G.** (2006). A new method for 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase single nucleotide polymorphisms genotyping used to study susceptibility of hematological malignancy. *Zhongguo shi yan xue ye xue za zhi*, 14(6), 1069-1073.
40. **Chen, X., Ahamada, H., Zhang, T., Bai, Z., & Wang, C.** (2019). Association of intake folate and related gene polymorphisms with breast cancer. *Journal of nutritional science and vitaminology*, 65(6), 459-469.
41. **Chomienne, C., Ballerini, P., Balitrand, N., Daniel, M. T., Fenaux, P., Castaigne, S., & Degos, L.** (1990). All-trans retinoic acid in acute promyelocytic leukemias. II. In vitro studies: structure-function relationship.
42. **Chung, Y. R., Schatoff, E., & Abdel-Wahab, O.** (2012). Epigenetic alterations in hematopoietic malignancies. *International journal of hematology*, 96(4), 413-427.
43. **Collignon, A., Duchenet, V., Mouchel, D., Malet, M., Cornet, E., & Troussard, X.** (2012). Épidémiologie des hémopathies malignes en Basse-Normandie: incidence et caractéristiques cliniques et biologiques chez l'enfant et l'adulte jeune de moins de 25 ans (1997–2005). *Revue d'épidémiologie et de santé publique*, 60(5), 343-353.
44. **Coulombel, L., Auffray, I., Gaugler, M. H., & Roseblatt, M.** (1997). Expression and function of integrins on hematopoietic progenitor cells. *Acta haematologica*, 97(1-2), 13-21.
45. **Da Costa Ramos, F. J., Cartaxo Muniz, M. T., Silva, V. C., Araújo, M., Leite, E. P., Freitas, E. M., ... & Pombo-De-Oliveira, M. S.** (2006). Association between the MTHFR A1298C polymorphism and increased risk of acute myeloid leukemia in Brazilian children. *Leukemia & lymphoma*, 47(10), 2070-2075.
46. **Dannus, L. T.** (2017). *Pharmacogénomique des leucémies aiguës myéloïdes* (Doctoral dissertation, Université Toulouse III-Paul Sabatier).
47. **Dastugue, N.** (2003). Place de la cytogénétique conventionnelle et moléculaire dans l'étude des leucémies aiguës. *Pathologie Biologie*, 51(6), 337-345.
48. **De Braekeleer, M., Morel, F., Le Bris, M. J., Herry, A., & Douet-Guilbert, N.** (2005). The MLL gene and translocations involving chromosomal band 11q23 in acute leukemia. *Anticancer research*, 25(3B), 1931-1944.
49. **Deligezer, U., Akisik, E., & Dalay, N.** (2003). Genotyping of the MTHFR gene polymorphism, C677T in patients with leukemia by melting curve analysis. *Molecular Diagnosis*, 7(3), 181-185.
50. **Deschler, B., & Lübbert, M.** (2006). Acute myeloid leukemia: epidemiology and etiology. *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*, 107(9), 2099-2107.

51. **Deschler, B., Müller, C. I., Waller, C. F., Engelhardt, M., Lübbert, M., Finke, J., ... & Martens, U.** (2011). Procédures thérapeutiques particulières. In *Précis d'hématologie et d'oncologie* (pp. 302-338). Springer, Paris.
52. **Devillier, R.** (2014). *Caractérisation moléculaire des leucémies aigües myéloïdes avec dysmyélopoïèse* (Doctoral dissertation, Aix-Marseille).
53. **Dilley, A., Hooper, W. C., El-Jamil, M., Renshaw, M., Wenger, N. K., & Evatt, B. L.** (2001). Mutations in the genes regulating methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR C→ T677) and Cystathione β-synthase (CBS G→ A919, CBS T→ c833) are not associated with myocardial infarction in African Americans. *Thrombosis research, 103*(2), 109-115.
54. **Djaara, H.** (2019). *Étude du Polymorphisme Génétique C677T et A1298C du gène MTHFR chez les patients ayant une Athérosclérose Coronarienne, dans une partie de la population des Aurès (Algérie)* (Doctoral dissertation, Université de Batna 2).
55. **Djouadi-Lahlou, K.** (2009). Approche épidémiologique de la leucémie myéloïde chronique en Algérie. *Revue Algérienne d'Hématologie, N° 00*, p.18-20.
56. **Djouadi-Lahlou, K., Belhadri, F., Hamladji, R. M., Ahmed-Nacer, R., Oukid, S., Abad, M. T., ... & Ahmidatou, H.** Approche épidémiologique de la leucémie à tricholeucocytes en algérie. travail coopératif et multicentrique. a propos de 34 cas (2009-2013). *Revue Algérienne d'Hématologie*.
57. **Dorak, M. T., Owen, G., Galbraith, I., Henderson, N., Webb, D., Mills, K. I., ... & Burnett, A. K.** (1995). Nature of HLA-associated predisposition to childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia, 9*(5), 875-878.
58. **Ducassou, S.** (2016). *Mécanismes de la leucémogénèse basophile induite par la translocation X; 6 avec fusion MYB-GATA1* (Doctoral dissertation, Université de Bordeaux).
59. **Duchayne, E., Fenneteau, O., Pages, M. P., Sainty, D., Arnoulet, C., Dastugue, N., ... & Flandrin, G.** (2003). Acute megakaryoblastic leukaemia: a national clinical and biological study of 53 adult and childhood cases by the Groupe Français d'Hématologie Cellulaire (GFHC). *Leukemia & lymphoma, 44*(1), 49-58.
60. **Duployez, N., Marceau-Renaut, A., Boissel, N., Petit, A., Bucci, M., Geffroy, S., ... & Preudhomme, C.** (2016). Comprehensive mutational profiling of core binding factor acute myeloid leukemia. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology, 127*(20), 2451-2459.
61. **Eisinger, F., Bressac, B., Castaigne, D., Cottu, P. H., Lansac, J., Lefranc, J. P., ... & Villet, R.** (2006). Identification et prise en charge des prédispositions héréditaires aux cancers du sein et de l'ovaire (mise à jour 2004). *Pathologie Biologie, 54*(4), 230-250.
62. **Elliott P., Wakefield J., Best N., et al.** (2000). Spatial Epidemiology: Methods and Applications. Eds. P. Elliott, J. Wakefield, N. Best and D. J. Briggs. Oxford University Press : Oxford, United Kingdom.

63. Falini, B., Mecucci, C., Tiacci, E., Alcalay, M., Rosati, R., Pasqualucci, L., ... & Martelli, M. F. (2005). Cytoplasmic nucleophosmin in acute myelogenous leukemia with a normal karyotype. *New England Journal of Medicine*, 352(3), 254-266.
64. Farasani, A. (2019). Genetic polymorphism studies in MTHFR gene with acute myeloid leukemia in the Saudi population. *BioSc. Biotech. Res. Comm.*, 12(3), 577.
65. Fenaux, P., & Cambier, N. (1999). Traitement des leucémies myéloïdes de l'adulte. *Hématologie (Montrouge)*, 5, 24-27.
66. Fenaux, P., & Dreyfus, F. (2000). *Les syndromes myélodysplasiques*. John Libbey Eurotext.
67. Fenaux, P., Adès, L., & Dreyfus, F. (2016). *Les syndromes myélodysplasiques*. John Libbey Eurotext.
68. Fenaux, P., Chastang, C., Chevret, S., Sanz, M., Dombret, H., Archimbaud, E., ... & Degos, L. (1999). A randomized comparison of all transretinoic acid (ATRA) followed by chemotherapy and ATRA plus chemotherapy and the role of maintenance therapy in newly diagnosed acute promyelocytic leukemia. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 94(4), 1192-1200.
69. Ferrant, A. (2008). Manuel du logiciel. Aide au diagnostic en hématologie (ADH). *Autoformation et aide au diagnostic en hématologie avec le logiciel ADH*, 227-228.
70. Ferrara, F., & Schiffer, C. A. (2013). Acute myeloid leukaemia in adults. *The Lancet*, 381(9865), 484-495.
71. Friso, S., & Choi, S. W. (2005). Gene-nutrient interactions in one-carbon metabolism. *Current drug metabolism*, 6(1), 37-46.
72. Frosst, P., Blom, H. J., Milos, R., Goyette, P., Sheppard, C. A., Matthews, R. G., ... & Rozen, R. (1995). A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nature genetics*, 10(1), 111-113.
73. Frosst, P., Goyette, P., Pai, A., Milos, R., Tran, P., Chen, Z., ... & Rozen, R. (1998). Gene structure of human and mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). *Mammalian Genome*, 9(8), 652-656.
74. Geissmann, F., Launay, P., Pasquier, B., Lepelletier, Y., Leborgne, M., Lehuen, A., ... & Monteiro, R. C. (2001). Cellular immunology and immune regulation- a Subset of Human Dendritic Cells Expresses IgA Fc Receptor (CD89), Which Mediates Internalization and Activation Upon Cross-Linking by IgA Complexes. *Journal of Immunology*, 166(1), 346-352.
75. Gisselbrecht, S. (2003). Oncogènes et leucémies: historique et perspectives. *médecine/sciences*, 19(2), 201-210.

76. **Glass, D. C., Gray, C. N., Jolley, D. J., Gibbons, C., Sim, M. R., Fritschi, L., ... & Manuell, R.** (2003). Leukemia risk associated with low-level benzene exposure. *Epidemiology*, 569-577.
77. **Godin-Ethier, J.** (2011). Contrôle de la réponse immunitaire par l'indoleamine 2, 3-dioxygénase: étude de la régulation d'une molécule immuno-suppressive dans les cellules cancéreuses et les lymphocytes B chez l'humain.
78. **Goyette, P., Sumner, J. S., Milos, R., Duncan, A. M., Rosenblatt, D. S., Matthews, R. G., & Rozen, R.** (1994). Human methylenetetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA, mapping and mutation identification. *Nature genetics*, 7(2), 195-200.
79. **Guasch, G., Birnbaum, D., & Pébusque, M. J.** (2003). Une nouvelle classe de syndromes myéloprolifératifs: le syndrome myéloprolifératif atypique 8p12 lié au gène FGFR1. *Hématologie*, 9(1), 43-56.
80. **Guilland, J. C.** (2011). Folate and Cancer. The right dose. *Correspondances en Métabolismes Hormones Diabètes et Nutrition*, 15(6), 196-200.
81. **Hamladji, R. M., Nacer, R. A., Benakli, M., Talbi, A., Akhrouf, S., Belhadj, R., ... & Zerhouni, F.** Intensification thérapeutique suivie d'autogreffe de cellules souches hématopoïétiques (AUTO-CSH) dans la leucémie lymphoïde chronique. *Revue Algerienne d'hématologie*.
82. **Hartwig, J., & Italiano Jr, J.** (2003). The birth of the platelet. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 1(7), 1580-1586.
83. **Hayakawa, F., Towatari, M., Kiyoi, H., Tanimoto, M., Kitamura, T., Saito, H., & Naoe, T.** (2000). Tandem-duplicated Flt3 constitutively activates STAT5 and MAP kinase and introduces autonomous cell growth in IL-3-dependent cell lines. *Oncogene*, 19(5), 624-631.
84. **Heim, S., & Mitelman, F.** (1995). Tumors of bone and soft tissue. *Cancer cytogenetics. Chromosomal and molecular genetic aberrations of tumor cells*, 489-96.
85. **Hill, C., & Doyon, F.** (2005). La fréquence des cancers en France en 2000 et son évolution depuis 1950. *Bulletin du cancer*, 92(1), 7-11.
86. **Hleihel, R.** (2019). *NPM1C, une cible dans le traitement des leucémies aiguës myéloïdes* (Doctoral dissertation, Université Sorbonne Paris Cité).
87. **Huang, L., Deng, D., Peng, Z., Ye, F., Xiao, Q., Zhang, B., ... & Liu, Z.** (2015). Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene (MTHFR) are associated with susceptibility to adult acute myeloid leukemia in a Chinese population. *Cancer epidemiology*, 39(3), 328-333.
88. **Hur, M., Park, J. Y., Cho, H. C., Lee, K. M., Shin, H. Y., & Cho, H. I.** (2006). Methylenetetrahydrofolate reductase A1298C genotypes are associated with the risks of acute lymphoblastic leukaemia and chronic myelogenous leukaemia in the Korean population. *Clinical & Laboratory Haematology*, 28(3), 154-159.

89. **Hussain SR, Naqvi H, Raza ST, Ahmed F, Babu SG, et al.** (2012) Methylenetetrahydrofolate reductase C677T genetic polymorphisms and risk of leukaemia among the North Indian population. *Cancer Epidemiol* 36: e227– 31.
90. **Italiani, P., & Boraschi, D.** (2014). From monocytes to M1/M2 macrophages: phenotypical vs. functional differentiation. *Frontiers in immunology*, 5, 514.
91. **Itzykson, R., Droin, N., & Solary, É.** (2012). Les progrès récents dans la leucémie myélomonocytaire chronique. *Hématologie*, 18(1), 24-36.
92. **Julian, K.** (2010). *Caractérisation moléculaire d'inversions péri-et paracentriques et analyse de leurs effets sur la méiose d'individus porteurs hétérozygotes* (Doctoral dissertation, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier).
93. **Karen S, Harris J, Christopher D.** (2011). Acute Myeloid Leukemia Staging. American Association for Cancer Research, American College of Physicians, and American Society of Hematology.
94. **Kasmani, R., Othieno-Abinya, N. A., Riyat, M. T. S., Kiarie, G. W., & Wanzala, P.** (2014). Environmental and occupational factors associated with chronic myeloid leukemia: a case-control study. *Journal Africain du Cancer/African Journal of Cancer*, 6(4), 194-201.
95. **Kaushansky, K.** (2006). Lineage-specific hematopoietic growth factors. *New England Journal of Medicine*, 354(19), 2034-2045.
96. **Kebbous S & Maidouche A.** (2005). Étude moléculaire des Leucémies Aigues Myéloïdes (LAM) (Polymorphisme C677T de la MTHFR), 1-64
97. **Kelly L.M., Gilliland D.** (2002). Genetics of myeloid leukemia's. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 3, 179-198.
98. **Khac, F. N., & Bernard, O. A.** (2003). Conséquences moléculaires et fonctionnelles des anomalies chromosomiques des hémopathies malignes humaines. *Pathologie Biologie*, 51(6), 382-389.
99. **Khaleghparast, A., Khaleghparast, S., & Khaleghparast, H.** (2014). Association between the A1298C polymorphism of the methylenetetrahydrofolate reductase gene and recurrent spontaneous abortion. *Iranian Journal of Neonatology IJN*, 5(2), 7-11.
100. **Kim, D. H., Park, J. Y., Sohn, S. K., Lee, N. Y., Baek, J. H., Jeon, S. B., ... & Lee, K. B.** (2006). Multidrug resistance-1 gene polymorphisms associated with treatment outcomes in de novo acute myeloid leukemia. *International journal of cancer*, 118(9), 2195-2201
101. **Kim, Y. I.** (2008). Folic acid supplementation and cancer risk: point. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 17(9), 2220-2225.

102. Klerk, M., Verhoef, P., Clarke, R., Blom, H. J., Kok, F. J., & Schouten, E. G. (2002). MTHFR 677C→ T polymorphism and risk of coronary heart disease: a meta-analysis. *Jama*, 288(16), 2023-2031.
103. Koch, M. C., Stegmann, K., Ziegler, A., Schröter, B., & Ermert, A. (1998). Evaluation of the MTHFR C677T allele and the MTHFR gene locus in a German spina bifida population. *European journal of pediatrics*, 157(6), 487-492.
104. Korzeniewski, S., Hofman, P., & Brest, P. (2013). Des polymorphismes silencieux plutôt bruyants. *médecine/sciences*, 29(2), 124-126.
105. Kratz, C. P., Emerling, B. M., Bonifas, J., Wang, W., Green, E. D., Beau, M. M. L., & Shannon, K. M. (2002). Genomic structure of the PIK3CG gene on chromosome band 7q22 and evaluation as a candidate myeloid tumor suppressor. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 99(1), 372-374.
106. Krimech, M. A. (2020). Les syndromes myélodysplasiques avancées actuelles.
107. Kunzmann, R., Luebbert, M., Veelken, H., Lübbert, M., Scheele, J., Martens, U., ... & Finke, J. (2011). Diagnostics particuliers. In *Précis d'hématologie et d'oncologie* (pp. 39-64). Springer, Paris.
108. Le Beau, M. M., Espinosa III, R., Davis, E. M., Eisenbart, J. D., Larson, R. A., & Green, E. D. (1996). Cytogenetic and molecular delineation of a region of chromosome 7 commonly deleted in malignant myeloid diseases. *Blood*, 88(6), 1930-1935.
109. Leclerc, D., & Rozen, R. (2007). Génétique moléculaire de MTHFR-Les polymorphismes ne sont pas tous bénins. *médecine/sciences*, 23(3), 297-302
110. Lefaucheur, R., Triquenot-Bagan, A., Quillard, M., Genevois, O., & Hannequin, D. (2008). Infarctus cérébral et iridododésis révélant une homocystinurie par mutation hétérozygote composite de la cystathionine bêta-synthase. *Revue Neurologique*, 164(8-9), 728-732.
111. Lehotský, J. (2016). The molecular and cellular effect of homocysteine metabolism imbalance on human health. *International journal of molecular sciences*, 17(10), 1733.
112. Lehotský, J., Vidomanová, E., Mahmood, S., Sopková, J., Drgová, A., Červeňová, T., ... & Škovierová, H. (2016). The molecular and cellular effect of homocysteine metabolism imbalance on human health. *International journal of molecular sciences*, 17(10), 1733.
113. Leslie, M. (2010). Beyond clotting: the powers of platelets.
114. Lewis, S. J., Ebrahim, S., & Smith, G. D. (2005). Meta-analysis of MTHFR 677C→ T polymorphism and coronary heart disease: does totality of evidence support causal role for homocysteine and preventive potential of folate?. *Bmj*, 331(7524), 1053.

115. **Lightfoot, T. J., Johnston, W. T., Painter, D., Simpson, J., Roman, E., Skibola, C. F., ... & Taylor, G. M.** (2010). Genetic variation in the folate metabolic pathway and risk of childhood leukemia. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 115(19), 3923-3929.
116. **Luquet, I., Bidet, A., Cuccuini, W., Lafage-Pochitaloff, M., Mozziconacci, M. J., & Terré, C.** (2016, September). Cytogenetics in the management of acute myeloid leukemia: an update by the Groupe francophone de cytogénétique hématologique (GFCH). In *Annales de biologie clinique* (Vol. 74, No. 5, pp. 535-546).
117. **Ma, E., Iwasaki, M., Junko, I., Hamada, G. S., Nishimoto, I. N., Carvalho, S. M. T., ... & Tsugane, S.** (2009). Dietary intake of folate, vitamin B 6, and vitamin B 12, genetic polymorphism of related enzymes, and risk of breast cancer: a case-control study in Brazilian women. *BMC cancer*, 9(1), 1-10.
118. **Ma, J., Stampfer, M. J., Giovannucci, E., Artigas, C., Hunter, D. J., Fuchs, C., ... & Rozen, R.** (1997). Methylentetrahydrofolate reductase polymorphism, dietary interactions, and risk of colorectal cancer. *Cancer research*, 57(6), 1098-1102.
119. **Mahfoudhi, E.** (2016). *Rôle de deux suppresseurs de tumeurs TET2 et P53 dans un contexte hématopoïétique* (Doctoral dissertation, Université Paris-Saclay).
120. **Mandal, A.** (2013). Classification des leucémies aiguës: nouvelles propositions de l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé). *Revue française des laboratoires*, 2002(344), 19-24.
121. **Marcucci, G., Caligiuri, M. A., & Bloomfield, C. D.** (2003). Core binding factor (CBF) acute myeloid leukemia: is molecular monitoring by RT-PCR useful clinically?. *European journal of haematology*, 71(3), 143-154.
122. **Mauch, P., Constine, L., Greenberger, J., Knospe, W., Sullivan, J., Liesveld, J. L., & Deeg, H. J.** (1995). Hematopoietic stem cell compartment: acute and late effects of radiation therapy and chemotherapy. *International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics*, 31(5), 1319-1339.
123. **Mauvieux, L., Perrusson, N., Helias, C., Struski, S., Leymarie, V., ... & Lessard, M.** (2005). A new translocation t (9; 11)(q34; p15) fuses NUP98 to a novel homeobox partner gene, PRRX2, in a therapy-related acute myeloid leukemia. *Leukemia*, 19(1), 145-148.
124. **Mbensa, L., Ngyulu, R., Binda, P., & Lukuni, L.** (1993). La leucémie aigüe de l'enfant: incidence et manifestation clinique en milieu tropical. *Médecine d'Afrique Noire*, 40(8-9), 555-557.
125. **McCarthy, L. J., Cripe, L. D., Ng, E. W., Bhatia, S., Danielson, C. M., Orazi, A., & Porcu, P.** (2000). Hyperleukocytic leukemias and leukostasis: a review of pathophysiology, clinical presentation and management. *Leukemia & lymphoma*, 39(1-2), 1-18.

126. **Mechri A.** (2008). « Étude de la mutation C677T de la MTHFR dans les accidents thromboemboliques veineux ». Thèse de magistère en Génétique moléculaire. Université Mentouri Constantine, Algérie. 87p.
127. **Moon, H. W., Kim, T. Y., Oh, B. R., Min, H. C., Cho, H. I., Bang, S. M., ... & Lee, D. S.** (2007). MTHFR 677CC/1298CC genotypes are highly associated with chronic myelogenous leukemia: a case-control study in Korea. *Leukemia research*, 31(9), 1213-1217.
128. **Mortazavi, Y., Ghasemi, Z., Aghajani, S., Shirkohey, M. E., Moghimi, M., Khademolmelleh, A., & Mazloomzadeh, S.** (2020). Association between A1298C and C677T methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms and the risk of acute lymphoid and myeloid leukemia. *Journal of Clinical Medicine of Kazakhstan*, 4(58), 45-50.
129. **Mrózek, K., Marcucci, G., Paschka, P., & Bloomfield, C. D.** (2008). Advances in molecular genetics and treatment of core-binding factor acute myeloid leukemia. *Current opinion in oncology*, 20(6), 711.
130. **Mugneret, F., Callier, P., & Favre-Audry, B.** (2003). Anomalies chromosomiques dans les leucémies aiguës myéloïdes. *Pathologie biologique*, 51(6), 314-328.
131. **Mugneret, F., Dastugue, N., Favre, B., Sidaner, I., Salles, B., HUGUET-RIGAL, F. R. A. N. C. I. N. E., & Solary, E.** (1995). Der (16) t (1; 16)(q11; q11) in myelodysplastic syndromes: a new non-random abnormality characterized by cytogenetic and fluorescence in situ hybridization studies. *British journal of haematology*, 90(1), 119-124.
132. **Muntjewerff, J. W., Hoogendoorn, M. L., Kahn, R. S., Sinke, R. J., Heijer, M. D., Kluijtmans, L. A., & Blom, H. J.** (2005). Hyperhomocysteinemia, methylenetetrahydrofolate reductase 677TT genotype, and the risk for schizophrenia: A Dutch population-based case-control study. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 135(1), 69-72.
133. **Muntjewerff, J. W., Kahn, R. S., Blom, H. J., & den Heijer, M.** (2006). Homocysteine, methylenetetrahydrofolate reductase and risk of schizophrenia: a meta-analysis. *Molecular psychiatry*, 11(2), 143-149.
134. **Nakao, M., Yokota, S., Iwai, T., Kaneko, H., Horiike, S., Kashima, K., ... & Misawa, S.** (1996). Internal tandem duplication of the *flt3* gene found in acute myeloid leukemia. *Leukemia*, 10(12), 1911-1918.
135. **Owen, C., Fitzgibbon, J., & Paschka, P.** (2010). The clinical relevance of Wilms Tumour 1 (WT1) gene mutations in acute leukaemia. *Hematological oncology*, 28(1), 13-19.
136. **Papapetrou, C., Lynch, S. A., Burn, J., & Edwards, Y. H.** (1996). Methylenetetrahydrofolate reductase and neural tube defects. *The Lancet*, 348(9019), 58.

137. **Paschka, P., Du, J., Schlenk, R. F., Gaidzik, V. I., Bullinger, L., Corbacioglu, A., ... & Doehner, K.** (2013). Secondary genetic lesions in acute myeloid leukemia with inv (16) or t (16; 16): a study of the German-Austrian AML Study Group (AMLSSG). *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 121(1), 170-177.
138. **Pedrono, E.** (2014). *Etude des micro-ARNs sériques dans les leucémies aiguës myéloïdes: vers une meilleure compréhension épigénétique de la leucémogénèse et une nouvelle approche de l'évaluation pronostique* (Doctoral dissertation, Université d'Angers).
139. **Piedfer, M.** (2012). *Identification de nouvelles cibles pro-apoptotiques dans les leucémies aiguës myéloblastiques* (Doctoral dissertation, Paris 5).
140. **Poirel, H., & Bernard, O.** (2000). Implication des gènes du CBF dans la leucémogénèse. *Hématologie*, 6(1), 30-6.
141. **Porcu, P., Cripe, L. D., Ng, E. W., Bhatia, S., Danielson, C. M., Orazi, A., & McCarthy, L. J.** (2000). Hyperleukocytic leukemias and leukostasis: a review of pathophysiology, clinical presentation and management. *Leukemia & lymphoma*, 39(1-2), 1-18.
142. **Poulain, S., Lepelley, P., Cambier, N., Cosson, A., Fenaux, P., & Wattel, E.** (1999). 'Laboratoire d'Hématologie A 2Service des Maladies du Sang Chu, Lille, France. *Drug Resistance in Leukemia and Lymphoma III*, 457, 57.
143. **Prat, M.** (2019). *Les macrophages au sein du microenvironnement tumoral: étude et modulation des mécanismes moléculaires et cellulaires de la réponse anti-tumorale au cours de carcinomes péritonéales* (Doctoral dissertation, Toulouse 3).
144. **Provan D., Gribben J.** (2005). *Molecular Hematology*, Second edition, Blackwell Publishing. ISBN: 1-4051-1255-7.
145. **Pui CH.**(2006). *Childhood Leukaemias*, 2nd ed. Cambridge, United Kingdom: Cambridge University Press.
146. **Qin, Y. T., Zhang, Y., Wu, F., Su, Y., Lu, G. N., & Wang, R. S.** (2014). Association between MTHFR polymorphisms and acute myeloid leukemia risk: a meta-analysis. *PLoS one*, 9(2), e88823.
147. **Quivoron, C.** (2012). *Etude fonctionnelle de l'inactivation de TET2 au cours de l'hématopoïèse chez la souris* (Doctoral dissertation, Université Paris Sud-Paris XI).
148. **Ravinet, A., Belille, M. G., Lemal, R., Veronese, L., Bay, J. O., & Prie, N.** (2011). Translocations récurrentes en onco-hématologie: physiopathologie, intérêt clinique et thérapeutique. *Bulletin du Cancer*, 98(12), 1403-1418.
149. **Rezgoune, M. L., Chellat, D., Abadi, N., Satta, D., & Mendjli, N. V. A.** (2016). MTHFR A1298C gene polymorphism and the risk of male infertility in Algerian population. *Int J Pharm Sci Rev Res*, 36(01), 73-76.

150. **Rezgoune, M. L., Satta, D., & Slama, A.** (2016). *Génétique mitochondriale des infertilités masculines* (Doctoral dissertation, UFM Constantine 1).
151. **Ries, L. A. G., Melbert, D., Krapcho, M., Stinchcomb, D. G., Howlader, N., Horner, M. J., ... & Edwards, B.** (2009). SEER cancer statistics review, 1975–2005. *Bethesda, MD: National Cancer Institute, 2999.*
152. **Robb, L.** (2007). Cytokine receptors and hematopoietic differentiation. *Oncogene, 26*(47), 6715-6723.
153. **Robien, K., & Ulrich, C. M.** (2003). 5, 10-Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and leukemia risk: a HuGE minireview. *American journal of epidemiology, 157*(7), 571-582.
154. **Rocquain, J., Jean-Pastor, M. J., Mozziconacci, M. J., Prebet, T., Charbonnier, A., Vey, N., & Duran, S.** (2010). Apports du pharmacien hospitalier en pharmacovigilance au sein d'un centre de lutte contre le cancer: Exemple des hémopathies myéloïdes induites par les chimiothérapies anticancéreuses. *Poumon, 2*, 9.
155. **Sanity, D.** (2004). Biologie Clinique. *Bull Soc Pathol Exot, 97*(5), 319-322.
156. **Sargin, B., Choudhary, C., Crosetto, N., Schmidt, M. H., Grundler, R., Rensinghoff, M., ... & Serve, H.** (2007). Flt3-dependent transformation by inactivating c-Cbl mutations in AML. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology, 110*(3), 1004-1012.
157. **Savitskaya, T., Lipay, N., Krivko, M., Petina, O., & Kokarava, M.** (2009). 9239 Polymorphisms of genes MDR1 and MTHFR in children with acute leukemia. *EJC Supplements, 2*(7), 571-572.
158. **Sazci, A., Ergul, E., Kucukali, I., Kara, I., & Kaya, G.** (2005). Association of the C677T and A1298C polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase gene with schizophrenia: association is significant in men but not in women. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry, 29*(7), 1113-1123.
159. **Schmidt, P. M., Cornu, P., Angelillo-Scherrer, A., Abbal, C., Jotterand, M., Quarroz, S., & Canham van Dijken, P.** (2015). Bases physiopathologiques en hématologie générale: un aide-mémoire d'hématologie.
160. **Scholl, S., Fricke, H. J., Sayer, H. G., & Höffken, K.** (2009). Clinical implications of molecular genetic aberrations in acute myeloid leukemia. *Journal of cancer research and clinical oncology, 135*(4), 491-505.
161. **Schoofs, T., & Müller-Tidow, C.** (2011). DNA methylation as a pathogenic event and as a therapeutic target in AML. *Cancer treatment reviews, 37*, S13-S18. *literature. Leisure Sciences, 30*(2), 96-110.
162. **Sébahoun, G.** (2005). *Hématologie clinique et biologique*. Wolters Kluwer France.

163. **Shelby, L. B., & Vaske, J. J.** (2008). Understanding meta-analysis: A review of the methodological literature. *Leisure Sciences*, 30(2), 96-110.
164. **Sibani, S., Leclerc, D., Weisberg, I. S., O'Ferrall, E., Watkins, D., Artigas, C., ... & Rozen, R.** (2003). Characterization of mutations in severe methylenetetrahydrofolate reductase deficiency reveals an FAD-responsive mutation. *Human mutation*, 21(5), 509-520.
165. **Silva, R. M. S., Fontes, A. C. L., Silva, K. A., Sant'Ana, T. A., Ramos, F. J. D. C., Marques-Salles, T. D. J., ... & Muniz, M. T. C.** (2013). Polymorphisms involved in folate metabolism pathways and the risk of the development of childhood acute leukemia. *Genetic testing and molecular biomarkers*, 17(2), 147-152.
166. **Skibola, C. F., Smith, M. T., Kane, E., Roman, E., Rollinson, S., Cartwright, R. A., & Morgan, G.** (1999). Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene are associated with susceptibility to acute leukemia in adults. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(22), 12810-12815.
167. **Škovierová, H., Vidomanová, E., Mahmood, S., Sopková, J., Drgová, A., Červeňová, T., ... & Lehotský, J.** (2016). The molecular and cellular effect of homocysteine metabolism imbalance on human health. *International journal of molecular sciences*, 17(10), 1733.
168. **Srivastava, A., Pandey, S. N., Pandey, P., Choudhuri, G., amp; Mittal, B.** (2008). No Association of Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) C 677 T Polymorphism in Susceptibility to Gallbladder Cancer. *DNA and cell biology*, 27(3), 127-132.
169. **Sternberg, D. W., & Gilliland, D. G.** (2004). The role of signal transducer and activator of transcription factors in leukemogenesis. *Journal of clinical oncology*, 22(2), 361-371.
170. **Sun, J., Xu, Y., Xue, J., Zhu, Y., & Lu, H.** (2005). Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism associated with susceptibility to coronary heart disease in Chinese type 2 diabetic patients. *Molecular and cellular endocrinology*, 229(1-2), 95-101.
171. **Takahashi, S.** (2011). Current findings for recurring mutations in acute myeloid leukemia. *Journal of hematology & oncology*, 4(1), 1-11.
172. **Therrien, R., Delisle, J. F., Ferland, G., Larocque, D., McMahon, J., Pedneault, L., ... & Viau, A.** (2013). Le cancer chez l'enfant. *Pharmactuel*, 46(3).
173. **They-They, T. P., Hamzi, K., Mazabraud, A., & Nadifi, S.** (2009). Fréquence du polymorphisme C677T du gène de la méthylène tetrahydrofolate réductase (MTHFR) dans les populations arabe et berbère du Maroc. *Antropo*, 20, 11-7.
174. **Thomas, X.** (2014). Indications actuelles de l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques dans le traitement de la leucémie aiguë myéloïde de l'adulte. *Bulletin du cancer*, 101(9), 856-865.

175. **Thomas, X., & Elhamri, M.** (2005). Farnesyltransferase inhibitors: preliminary results in acute myeloid leukemia. *Bulletin du cancer*, 92(3), 227-238.
176. **Tierney, J. F., Vale, C., Riley, R., Smith, C. T., Stewart, L., Clarke, M., & Rovers, M.** (2015). Individual participant data (IPD) meta-analyses of randomised controlled trials: guidance on their use. *PLoS medicine*, 12(7), e1001855.
177. **Troussard, X., & Maarouf, N.** (2006). Leucémies biphénotypiques (BAL): mythe, réalité, perspectives. *Spectra biologie*, 152, 34.
178. **Ueland, P. M., Hustad, S., Schneede, J., Refsum, H., & Vollset, S. E.** (2001). Biological and clinical implications of the MTHFR C677T polymorphism. *Trends in pharmacological sciences*, 22(4), 195-201.
179. **Ulrich, C. M., Bigler, J., Bostick, R., Fosdick, L., & Potter, J. D.** (2002). Thymidylate synthase promoter polymorphism, interaction with folate intake, and risk of colorectal adenomas. *Cancer research*, 62(12), 3361-3364.
180. **Uzunhan, Y., Cadranel, J., Boissel, N., Gardin, C., Arnulf, B., & Bergeron, A.** (2010). Les manifestations pulmonaires spécifiques des hémopathies myéloïdes aiguës et des hémopathies lymphoïdes et lymphoplasmocytaires. Partie II: les manifestations pulmonaires spécifiques des hémopathies lymphoïdes et lymphoplasmocytaires (hors lymphomes). *Revue des maladies respiratoires*, 27(6), 599-610.
181. **Vahid, P., Khorshied, M. M., Shaheen, I. A. M., Khalil, R. E. A., & Sheir, R. E.** (2014). Methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene polymorphisms in chronic myeloid leukemia: an Egyptian study. *Medical Oncology*, 31(1), 794.
182. **Valensi, F.** (2005). Morphologie des cellules sanguines normales. *EMC-Hématologie*, 2(1), 1-13.
183. **Van der Put, N. M., Gabreëls, F., Stevens, E. M., Smeitink, J. A., Trijbels, F. J., Eskes, T. K., ... & Blom, H. J.** (1998). A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural-tube defects?. *The American Journal of Human Genetics*, 62(5), 1044-1051.
184. **Van der Put, N., Weisberg, I., Tran, P., Christensen, B., Sibani, S., & Rozen, R.** (1998). A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. *Molecular genetics and metabolism*, 64(3), 169-172.
185. **Vardiman J** (2010) .The world Health Organisation (WHO) classification of tumors of the hematopoietic and lymphoid tissues an overview with emphasis on the myeloid neoplasms. *Chemical Biological Interactions*, 184(1-2) , P .16-20.
186. **Vaubourdolle, M.** (2013). Médicament: pharmacie-biologie. 4^{ème} éd. Le Moniteur.
187. **Vijayakrishnan, J., & Houlston, R. S.** (2010). Candidate gene association studies and risk of childhood acute lymphoblastic leukemia: a systematic review and meta-analysis. *Haematologica*, 95(8), 1405.

188. Virgos, C., Martorell, L., Simó, J. M., Valero, J., Figuera, L., Joven, J., ... & Vilella, E. (1999). Plasma homocysteine and the methylenetetrahydrofolate reductase C677T gene variant: lack of association with schizophrenia. *Neuroreport*, 10(10), 2035-2038.
189. Wang et Chen, 2008. Wang, Z. Y., & Chen, Z. (2008). Acute promyelocytic leukemia: from highly fatal to highly curable. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 111(5), 2505- 2515.
190. Weinberg O.K., Arber D.A. (2010). Mixed-phenotype acute leukemia: historical overview and a new definition. *Leukemia*, 24(11): 1844-51.
191. Weisberg, I. S., Jacques, P. F., Selhub, J., Bostom, A. G., Chen, Z., Ellison, R. C., ... & Rozen, R. (2001). The 1298A→ C polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): in vitro expression and association with homocysteine. *Atherosclerosis*, 156(2), 409-415.
192. Weisberg, I., Tran, P., Christensen, B., Sibani, S., & Rozen, R. (1998). A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. *Molecular genetics and metabolism*, 64(3), 169-172.
193. Whitman, S. P., Archer, K. J., Feng, L., Baldus, C., Becknell, B., Carlson, B. D., ... & Caligiuri, M. A. (2001). Absence of the wild-type allele predicts poor prognosis in adult de novo acute myeloid leukemia with normal cytogenetics and the internal tandem duplication of FLT3: a cancer and leukemia group B study. *Cancer research*, 61(19), 7233-7239.
194. Wilcken, B., Bamforth, F., Li, Z., Zhu, H., Ritvanen, A., Redlund, M., ... & Botto, L. D. (2003). Geographical and ethnic variation of the 677C> T allele of 5, 10 methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): findings from over 7000 newborns from 16 areas world wide. *Journal of medical genetics*, 40(8), 619-625.
195. Xie, Y., Davies, S. M., Xiang, Y., Robison, L. L., & Ross, J. A. (2003). Trends in leukemia incidence and survival in the United States (1973–1998). *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*, 97(9), 2229-2235.
196. Yu, Y. P., Landsittel, D., Jing, L., Nelson, J., Ren, B., Liu, L., ... & Luo, J. H. (2004). Gene expression alterations in prostate cancer predicting tumor aggression and preceding development of malignancy. *Journal of clinical oncology*, 22(14), 2790-2799.
197. Zanrosso CW, Emerenciano M, Figueiredo A, Reis M, Cordeiro SNS, Splendore A and Pombo- deOliveira MS (2005) Influência da metileno-tetrahidrofolato redutase na patogênese das leucemias agudas infantis. *Revista Brasileira de Cancerologia* 51:289-295.
198. Zheng, M. M., Yue, L. J., Zhang, H. H., Yang, C. L., & Xie, C. (2013). Association of single nucleotide polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase gene with susceptibility to acute leukemia. *Zhonghua yi xue yi chuan xue za zhi= Zhonghua yixue yichuanxue zazhi= Chinese journal of medical genetics*, 30(4), 451-455.

199. **Zhang, G., & Dai, C.** (2001). Gene polymorphisms of homocysteine metabolism-related enzymes in Chinese patients with occlusive coronary artery or cerebral vascular diseases. *Thrombosis research*, 104(3), 187-195.
200. **Zhang, Y., & Rowley, J. D.** (2006). Chromatin structural elements and chromosomal translocations in leukemia. *DNA repair*, 5(9-10), 1282-1297.

Résumés

Genetic study of acute myeloid leukemia (AML) prospecting by meta-analysis of the effect of C677T and A1298 polymorphisms of the *MTHFR* gene

Abstract:

Acute Myeloid Leukemia (AML) are hematological malignancies characterized by an anarchic proliferation of myeloid precursors blocked at various stages of differentiation, and which are, like other cancers, the result of several mutations. The leukemia process takes place in several stages by the accumulation of mutations of type 1, conferring a proliferative advantage, and of type 2, blocking the process of differentiation of myeloid cells. Some newly identified mutations are not yet classified in any of the groups because their cellular consequences are not yet well known. The exploration of these abnormalities is essential for the understanding of pathophysiology, but also for diagnosis, prognosis, choice and therapeutic follow-up. In addition to trisomy 21, other genetic abnormalities appear to have a share in the risk of having AML. Through the exploration of pan-genomic associations, it has been possible to establish that some polymorphisms are associated with increased risk. Although its different abnormalities are associated with AML, the precise role of each gene remains unknown. *MTHFR*, which occupies a central place in folate metabolism due to its multiple functions in DNA synthesis, repair and methylation, serves as a perfect pretext for the study of genetic polymorphism associated with the risk of developing AML. Moreover, several studies have been carried out on this topic with often contradictory results.

In this sense, we have taken an interest in determining the contribution of the two most common polymorphisms (C677T and A1298C) of the *MTHFR* gene as a potential risk factor involved in the occurrence of AML, through the achievement of a meta-analysis.

Our results show that the variants studied do not constitute major risk factors for the development of AML. The findings of this study extend to other precedents, such as case-controls and meta-analyses, which report the same conclusion. However, their impact on the leukemia process is not entirely excluded. The possibility that these polymorphisms of the gene coding for this key enzyme of folate metabolism affect a specific subtype of AML is very real. This would be particularly relevant for AML patients with chromosomal instability, as folates are formally engaged in DNA repair mechanisms and AML, for the most part, are characterized by the presence of recurrent cytogenetic abnormalities.

The exploration of genes modulating the risk of cancer, as well as a better understanding of gene-gene and gene-environmental interactions, should greatly improve the field of preventive medicine, in particular, through a better perception of quantifiable genetic factors that reduce the risk of cancer.

Keywords: acute myeloid leukemia, meta-analysis, genetic polymorphisms, *MTHFR*.

دراسة وراثية لسرطان الدم النخاعي الحاد تحقيق من خلال التحليل الوصفي لأثر تعدد الأشكال للجينات *MTHFR* A1298 و C677T

الملخص:

إن سرطان الدم النخاعي الحاد اللوكيميا (LAM) هي اعتلالات دموية خبيثة تتميز بانتشار فوضوي للسلائف النخاعية المحظورة في مراحل مختلفة من التمايز، وهي، مثل السرطانات الأخرى، نتيجة لطفرات عديدة. تحدث عملية تكوين اللوكيميا على عدة مراحل من خلال تراكم الطفرات من النوع 1 ، مما يمنح ميزة تكاثرية ، والنوع 2، مما يعيق عملية تمايز الخلايا النخاعية. لم يتم تصنيف بعض الطفرات التي تم تحديدها حديثاً في أي من المجموعتين لأن عواقبها الخلوية لم تُعرف جيداً بعد.

يعد استكشاف هذه الحالات الشاذة أمراً ضرورياً لفهم الفيزيولوجية المرضية ، ولكن أيضاً للتشخيص والتكهن والاختيار والمراقبة العلاجية. بالإضافة إلى متلازمة داون ، يبدو أن التشوهات الجينية الأخرى لها دور في خطر الإصابة بابيضاض الدم الحاد (LAM).

بفضل التنقيب عن الارتباطات على مستوى المجموع الجيني ، كان من الممكن إثبات أن بعض الأشكال المتعددة مرتبطة بزيادة المخاطر. في حين أن هذه التشوهات المختلفة مرتبطة بابيضاض الدم النخاعي الحاد (LAM) ، لا يزال الدور الدقيق لكل جين غير معروف. يحتل *MTHFR* مكانة مركزية في عملية التمثيل الغذائي للفولات ، بحكم وظائفه المتعددة في تخليق الحمض النووي وإصلاحه ، وهو بمثابة المنافس المثالي لدراسة تعدد الأشكال الجينية المرتبطة بخطر الإصابة بمرض ما. علاوة على ذلك، تم إجراء العديد من الدراسات حول هذا الموضوع مع نتائج متناقضة في كثير من الأحيان. بهذا المعنى، نحن مهتمون بهذا العمل في تحديد مساهمة أكثر تعدد الأشكال شيوعاً (A1298C و C677T) من المورثة *MTHFR* كعامل خطر محتمل متورط في حدوث LAM ، وهذا من خلال إجراء عملية التحليل الوصفي. توضح نتائجنا أن المتغيرات المدروسة لا تشكل عوامل خطر رئيسية لتطوير LAM. تمتد استنتاجات هذه الدراسة إلى الاستنتاجات السابقة الأخرى ، من نوع الحالة والشواهد والتحليلات، والتي تشير إلى نفس الاستنتاج. ومع ذلك ، لا يتم استبعاد تأثيرها على عملية تكوين الدم. إن احتمال أن تؤثر هذه الأشكال المتعددة على المورثة التي تشفر هذا الإنزيم الرئيسي في استقلاب الفولات على نوع فرعي معين من LAM أمر حقيقي للغاية. قد يثير هذا اهتماماً خاصاً لمرضى LAM الذين يعانون من عدم استقرار الكروموسومات، نظراً لأن حمض الفوليك متورط رسمياً في آليات إصلاح الحمض النووي ، وتتميز LAM، في الغالب، بوجود تشوهات خلوية متكررة. إن استكشاف المورثات المعدلة لخطر الإصابة بالسرطان ، بالإضافة إلى فهم أفضل للتفاعلات الجينية مع البيئة ينبغي أن يحسن بشكل كبير مجال الطب الوقائي ، لا سيما بفضل الإدراك الأفضل للعوامل الوراثية القابلة للقياس الكمي التي تقلل من خطر الإصابة.

الكلمات المفتاحية: ابيضاض الدم النقياني الحاد، التحليل الوصفي، تعدد الأشكال للجين، *MTHFR*

Année universitaire : 2020-2021

Présenté par : DIB Chaima et DJEGHIM Nejela

Étude génétique des leucémies aiguës myéloïdes (LAM) prospection par méta-analyse de l'effet des polymorphismes C677T et A1298 du gène *MTHFR*

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Génétique

Les Leucémies Aiguës Myéloïdes (LAM) sont des hémopathies malignes caractérisées par une prolifération anarchique de précurseurs myéloïdes bloqués à divers stades de différenciation, et qui sont, comme d'autres cancers, le résultat de plusieurs mutations. Le processus de leucémogénèse se déroule en plusieurs étapes par l'accumulation de mutations de type 1, conférant un avantage prolifératif, et de type 2, bloquant le processus de différenciation des cellules myéloïdes. Certaines mutations nouvellement identifiées ne sont pas encore classées dans l'un ou l'autre des groupes du fait que leurs conséquences cellulaires ne sont pas encore bien connues. L'exploration de ces anomalies est primordiale pour la compréhension de la physiopathologie, mais également pour le diagnostic, le pronostic, le choix et le suivi thérapeutique. En plus de la trisomie 21, d'autres anomalies génétiques paraissent avoir une part dans le risque d'avoir une LAM. Grâce aux prospections d'associations pangénomiques, il a été possible d'établir que certains polymorphismes sont liés à un risque accru. Si ces différentes anomalies sont associées aux LAM, le rôle précis de chaque gène demeure méconnu. La *MTHFR*, occupant une place centrale dans le métabolisme des folates, de par ses fonctions multiples dans la synthèse de l'ADN, sa réparation et sa méthylation, fait office de prétendant parfait à l'étude du polymorphisme génétique associé au risque de développer une LAM. D'ailleurs, plusieurs recherches ont été menées sur cette thématique avec des résultats souvent contradictoires.

Dans ce sens, nous nous sommes intéressés dans ce travail à la détermination de la contribution des deux polymorphismes les plus communs (C677T et A1298C) du gène *MTHFR* comme facteur de risque potentiel impliqué dans la survenue des LAM, et ce par la réalisation d'une méta-analyse.

Nos résultats démontrent que les variants étudiés ne constituent pas des facteurs des risques majeurs pour le développement des LAM. Les conclusions de cette étude s'étendent à d'autres antérieurs, de type cas-témoins et méta-analyses, qui rapportent la même conclusion. Cependant, leur impact sur le processus de leucémogénèse n'est pas entièrement exclu. La possibilité que ces polymorphismes du gène codant pour cette enzyme clefs du métabolisme des folates affectent un sous-type précis de LAM est bien réelle. Cela concernerait particulièrement les patients LAM arborant une instabilité chromosomique, car les folates sont formellement engagés dans les mécanismes de réparation de l'ADN et que les LAM, pour la plupart, sont caractérisées par la présence d'anomalies cytogénétiques récurrentes.

L'exploration des gènes modulant le risque de cancer, ainsi qu'une meilleure compréhension des interactions de type gène-gène et gène-environnement devrait grandement améliorer le champ de la médecine préventive, notamment grâce à une meilleure perception des facteurs génétiques quantifiables qui diminuent le risque de cancer.

Mots-clés : LAM, méta-analyse, polymorphisme génétique, *MTHFR*.

Laboratoires de recherche : Biologie Moléculaire et Cellulaire (UFM Constantine 1).

Président du jury : Pr CHELLAT Djalila SATTA Dalila (PROF- UFM Constantine 1).

Rapporteur : Dr REZGOUN Mohamed Larbi (MC.A - UFM Constantine 1).

Examineur : Dr GHARZOULI Razika (MC.A - UFM Constantine 1).