

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

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



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biochimie - Biologie Cellulaire et Moléculaire

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم الكيمياء الحيوية - البيولوجيا الخلوية و الجزيئية

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Physiologie Cellulaire et Physio-Pathologie (PCPP)*

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Étude génétique des gènes de susceptibilité à la survenue
des leucémies aiguës : étude moléculaire et méta-analyse
de l'implication du polymorphisme T3801C du gène *CYP1A1***

Présenté et soutenu par : BADECHE Sara

Le 16/06/2022

SADOUNI Yousra

Jury d'évaluation :

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

Examineur 1 : ROUABAH Leila (PROF - Université frères Mentouri - Constantine 1).

Examineur 2 : DAHMANI Dahbia Ines (MC-A - Université frères Mentouri - Constantine 1).

Année universitaire
2021 - 2022

Remerciements

Tout d'abord nous remercions du fond du cœur le bon Dieu tout puissant qui nous a honorées par ce savoir, et qui nous a donné la force, le courage et la volonté pour réaliser ce modeste travail ; merci de nous avoir mis sur le bon chemin, merci de nous avoir donné la bonne santé, la patience d'y aller jusqu'au bout.

*Nos remerciements s'adressent particulièrement à **Docteur REZGOUN Mohamed Larbi**, notre promoteur, pour sa générosité et la grande patience dont il a su faire preuve.*

Votre travail est stressant ; vous ne comptez plus les heures ; et pourtant vous avez toujours été attentif et compréhensif. Nous tenions à vous remercier pour votre engagement à nos côtés, pour votre patience et votre soutien tout au long de ce travail. Nous tenons à exprimer notre reconnaissance envers lui qui a eu la gentillesse de lire et corriger ce travail et sans qui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.

*Nous tenons à remercier **Professeur ROUABAH Leila**, Professeur à l'Université frères Mentouri Constantine 1, responsable de la spécialité biologie moléculaire et cellulaire, On vous remercie de votre savoir-faire, votre soutien moral et gentillesse, votre disponibilité pendant toutes ces longues années et de vos connaissances que vous avez généreusement partagées avec nous. Trouvez ici le témoignage de notre reconnaissance et de notre profond respect.*

*Nous adressons également nos sincères remerciements aux médecins du service **d'hématologie du CHU Benbadis Constantine** docteur SALHI et docteur LAFRI qui nous ont beaucoup aidés pour le recrutement des malades et la réalisation de notre partie pratique.*

*Nous remercions chaleureusement docteur **AYACHI Sarhia** du centre de recherche de biotechnologie pour votre bienveillance votre aide et tous vos conseils. de nous avoir bien accueillis.*

*Nos vifs remerciements à tous nos enseignants de **la faculté des sciences de la nature et de la vie, de l'université des frères Mentouri Constantine 1**, et qui ont pleinement assuré notre formation durant nos années d'études. Un spécial remerciement aux membres de l'équipe de **formation PCPP** De peur d'en avoir oublié, nous souhaiterons adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire ainsi qu'à la réussite de ce formidable parcours universitaire.*

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.

À ma très chère mère Ismahane, autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, tu as toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait. En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, reçoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime. Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.

À mon très cher père Khaled, tant de phrases et d'expressions aussi éloquentes aussi soit-elle ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Ta patience sans fin, ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir. Que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal.

C'est un moment de plaisir de dédier ce travail à ma moitié et à la meilleure des sœurs Nedjlaa, Ghofrane, chehd, ma petite Baïlassane et mon cher frère Mehdi qui font de mon univers une merveille, je leur souhaite beaucoup de bonheur et de réussite.

Au fils de la tante de ma mère Amir et sa femme Soumia pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.

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 Yousra Sadouni qui m'a accompagnée avec patience durant la période du travail.

Mes adorables amies avec qui j'ai partagé les meilleurs moments : Dounia, Malek. Je ne peux pas trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des sœurs et des amies sur qui je peux compter.

Toutes personnes que je n'ai pas citées et qui m'ont aidé de près ou de loin, je les en remercie.

Finalement je dédie ce travail à mon encadreur, que j'ai eu le plaisir de connaître, et que j'ai eu l'honneur d'être diplômé avec son aide.

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.

*À l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, rien dans ma vie n'aurait été possible sans ton combat. Rien que je puisse dire, ne peut vraiment exprimer ce que je ressens. Rien ne montrera toute la gratitude que j'ai pour toi que dieu te garde pour moi mon grand-père **SADEK** que ce mémoire soit le meilleur cadeau que je puisse d'offrir pour toi **mon cher papi**.*

*À ma chère maman depuis le jour de ma naissance, tu as toujours cru en moi et tu m'as donné le meilleur. Merci d'avoir été un tel cadeau dans ma vie. Ma grande mer **HALIMA**.*

*À ma mère aimante et désintéressée **FARIDA** merci d'avoir donné moi la vie et me faire sentir comme un trésor unique en son genre chaque jour. Personne ne pourra jamais se comparer à vous. Je t'aime avec tout ce que je suis et tu feras partie de moi pour toujours.*

*À mon cher père **MOUHEMED EL HADI** merci pour tous les sacrifices que vous avez faits, pour tout ce que vous m'avez donné. Pour tout votre amour et préoccupation, pour toutes les fois que vous avez toléré nos singeries.*

*C'est un moment de plaisir de dédier ce travail ma moitié et à la meilleure des sœurs **MALAK** ; ma petite sœur **RAHMA** et mon chère frère **MOUHEMED SEDIK** qui font de mon univers une merveille, je leur souhaite beaucoup de bonheur et de réussite.*

*À ma deuxième mère, ma meilleure amie et mon rock ma chère tante **LATIFA** tu es l'exemple que vous donnez m'inspire à être le meilleur de moi-même Tu donnes tellement et tu m'encourages toujours à être mon meilleur moi. Merci de toujours m'aimer et de m'avoir guidée depuis ma naissance.*

*À mes chères tantes aussi **NABIHA, SOUHAILA** pour leur soutien moral et leurs conseils précieux, je les remercie beaucoup pour leur encouragement durant mon parcours scolaire, et pour leur présence toujours derrière moi.*

*À mes chers oncles **TAHER ; ADEL ; HMIDOU**.*

*À toutes mes cousines et mes cousins surtout mes adorables **LYNA et KHOULOUD**.*

*À mon âme sœur **ACHOIK** qui depuis des années m'encourage, me comprend et a toujours été à mes côtés, que dieu lui donne du bonheur, santé et réussite Merci d'être celui sur qui je peux toujours compter.*

*À mes sœurs **ZINEB ; NORHANE, FERIEL , INESS** une belle amitié où le verbe aimer se conjugue à tous les temps . Merci de m'avoir apporté l'aide dont j'avais besoin.*

*À mes adorables du team PCPP **MEISSA , HANIA, FIFI, RAYEN, MIMI, SABI, LINOUYAS**.*

*À ma chère binôme, ma partenaire **BAADECH SARA** pour réaliser ce travail, pour sa bonne entente et sa sympathie.*

*Enfin je dédie ce travail à mon encadreur, que j'ai eu le plaisir de connaître, et que j'ai eu l'honneur d'être diplômé avec son aide **REZGOUN Mohamed Larbi**.*

Yousra

Abréviations

AcMo : Anticorps monoclonaux.

ADN : Acide Désoxyribo-Nucléique

AHAI : Anémie Hémolytique Auto-Immune

AHR : Aryl Hydrocarbon Receptor

BMC : Biologie Moléculaire et Cellulaire

CD : Classe de différenciation

CFU : Colony Forming Unit

CGH : Comparative Genome Hybridization **CSF** : Colony Stimulating Factor

CSH : Cellules Souches Hématopoïétiques

CMA : Comprehensive Meta-Analysis

CRBt : Centre de Recherche en Biotechnologie

DO : Densité Optique

EDTA : Ethylene Diamino Tetracetic Acid **EBV** : Epstein-Barr Virus

EPO : érythropoïétine

FAB : French American British

FT : Facteur de Transcription

GATA-1 : GATA Binding Protein 1

G-CSF : Granulocytes - Colony Stimulating Factor

GM-CSF : Granulocytes Monocytes - Colony Stimulating Factor

HAP : Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques

HWE : Hardy-Weinberg Equilibrium

Hb : Hémoglobine

HTLV1 : Human T-Lymphotropic Virus 1

IC : Intervalle de Confiance

LA : Leucémies Aigues

LAL : Leucémie Aiguë Lymphoblastique

LAM : Leucémies Aiguës Myéloblastiques ou Myéloïdes

LLC : Leucémies Lymphoïdes Chroniques.

LMC : Leucémies Myéloïdes Chroniques

M-CSF : Monocytes - Colony Stimulating Factor

MAPK : Mitogen Activated Protein Kinases

MEDLINE: Medical Literature Analysis and Retrieval System Online

MGG : May Grünwald Giemsa

NCBI: National Center of Biotechnologies Information

OMS : Organisation mondiale de la santé

OR : Odds Ratio

ORL : Oto-Rhino-Larynx

PCR : Polymerase Chain Reaction

PRISMA: Preferred Reporting Item for Systematic Review and Meta-Analysis

PTAI : Purpura Thrombopénique Auto-Immune,

RARE Care : Database on the epidemiology of rare cancers in Europe

RBTN-1 : Rhombotone

RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism

SCF : Stem Cell Factor

SDS : Sodium Dodecyl Sulfate

SLP : Syndromes Lympho-Prolifératifs

SMD : Syndromes Myélo-Dysplasiques

SMP : Syndromes Myélo-Prolifératifs

SSCP : Single-Strand Conformation Polymorphism

TAL-1 : T-Cell Acute Leukemia 1

TPO : thrombopoïétine.

UV : Ultra-Violet

Table des matières

Introduction

Page 01

Partie bibliographique

Chapitre I : sang, la moelle osseuse et l'hématopoïèse

I. Sang	03
1. Définition.....	03
2. Compositions.....	03
2.1. Le plasma.....	03
2.2. Éléments figurés.....	03
2.2.1. Érythrocytes.....	04
2.2.2. Leucocytes.....	05
2.2.2.1. Polynucléaires.....	05
2.2.2.2. Monocytes.....	05
2.2.2.3. Lymphocytes.....	05
2.2.3. Plaquettes.....	06
II. Moelle osseuse	06
III. Hématopoïèse	07
1. Les compartiments de l'hématopoïèse.....	08
1.1. Les cellules souches pluripotentes (stem cells).....	08
1.2. Les progéniteurs.....	08
1.3. Les précurseurs.....	08
1.4. Les cellules matures.....	09
2. Étapes de l'hématopoïèse.....	10
2.1. Hématopoïèse primitive.....	10
2.2. Hématopoïèse définitive.....	10
3. Régulation de l'hématopoïèse.....	10
3.1. Microenvironnement médullaires.....	10
3.2. Facteurs de croissance hématopoïèse.....	10
3.2.1. Les facteurs de promotion (synergiques).....	10
3.2.2. Facteurs multipotents.....	11
3.2.3. Les facteurs restreints.....	11
3.3. Facteurs de transcription.....	12
3.4. Vitamines et oligoéléments.....	12
4. Dysfonctionnement de l'hématopoïèse.....	12

Chapitre II : leucémies aigües

1. Définition.....	13
2. Épidémiologie.....	13
3. Étiologie.....	14
4. Classification.....	15
5. Aspects cliniques et biologiques.....	16
5.1. Aspects cliniques	16
5.1.1. Syndromes d'insuffisance médullaire.....	16
5.1.2. Syndrome tumoral.....	17
5.1.3. Autres signes.....	17
5.2. Aspects biologiques.....	18
5.2.1. Myélogramme.....	18
5.2.2. Hémogramme.....	18
5.2.3. Cytochimie.....	18
5.2.4. Immunophénotypage.....	19
5.2.5. Caryotype.....	20
5.2.6. Biologie moléculaire.....	20
6. Traitement.....	21

Chapitre III : génétique des leucémies aiguës

1. Mécanismes moléculaires dans la leucémogénèse.....	22
2. Altérations géniques rencontrées dans les leucémies aiguës.....	23
2.1. Mutations de type 1.....	23
2.2. Mutations de type 2.....	24
2.3. Mutations non classées.....	24
3. Cytogénétique des LAM.....	24
3.1. Les translocations.....	25
3.2. Les anomalies de nombre.....	25
4. Biologie Moléculaire des leucémies aiguës.....	25
5. Le cytochrome P450 1A1 (CYP1A1).....	25

Partie pratique

Patients et méthodes

I. Étude moléculaire.....	28
1. Cadre de l'étude.....	28
2. Définition de la population d'étude	29
2.1. Patients.....	29
2.2. Témoins.....	29
3. Analyse génétique.....	29
3.1. Extraction d'ADN à partir de sang total.....	29
3.1.1. Le prélèvement sanguin.....	29
3.1.2. L'extraction de l'ADN.....	30
3.1.3. Détermination de la concentration, la pureté et de la qualité de l'ADN extrait.....	31
3.2. Génotypage du <i>CYP1A1</i>	31
3.2.1. Amplification de la région 3' non codante du <i>CYP1A1</i>	32
3.2.2. Digestion et migration sur gel d'agarose.....	33
4. Analyse statistique.....	34
II. Étude génétique par méta-analyse.....	37
1. Principe d'une méta-analyse.....	37
2. Polymorphisme d'intérêt.....	38
3. Réalisation de la méta-analyse.....	39
3.1. Stratégie de recherche.....	40
3.2. Sélection des études.....	40
3.3. Extraction des données.....	41
3.4. Tests statistiques.....	41

Résultats et discussion

I. Étude moléculaire.....	45
II. Méta-analyse.....	51
II.1. Sélection des études.....	51
II.2. Caractéristiques des études incluses.....	52
II.3. Vérification et ajustement de l'équilibre de Hardy-Weinberg.....	58
II.4. Analyse quantitative.....	59
II.5. Test d'hétérogénéité.....	66
II.6. Analyse de sensibilité et biais de publication.....	67
III. Méta-analyse.....	76

Conclusion et perspectives	80
---	-----------

Références bibliographiques	82
--	-----------

Résumés

Liste des figures

Figure 01. Compartimentation de l'hématopoïèse	09
02. Les facteurs de croissance hématopoïétique	11
03. Représentation schématique du site de restriction de l'enzyme HpaII.....	33
04. Représentation schématique du résultat de l'analyse par RFLP du polymorphisme	34
05. Modèle du diagramme de flux PRISMA pour la sélection des études incluses	39
06. Modèle de représentation graphique en forêt (forest plot)	43
07. Modèle de représentation graphique en entonnoir (funnel plot).....	44
08. Profil d'électrophorèse de la PCR de contrôle	45
09. Profil d'électrophorèse des fragments amplifiés par PCR après migration	46
10. Fréquences génotypiques	47
11. Fréquences alléliques.....	48
12. Diagramme de flux PRISMA pour la sélection des études incluses dans la méta-analyse ...	52
13. Représentation graphique des fréquences génotypiques indiquées dans les études incluses	54
14. Représentation graphique des fréquences alléliques indiquées dans les études incluses	55
15. Fréquences génotypiques additionnées des études incluses dans notre méta-analyse	57
16. Fréquences alléliques additionnées des études incluses dans notre méta-analyse	57
17. Graphique en forêt selon le modèle de comparaison allélique (C vs. T)	60
18. Graphique en forêt selon le modèle de comparaison récessif (CC vs. CT+TT)	60

19. Graphique en forêt selon le modèle de comparaison dominant (CC+CT vs. TT)	61
20. Graphique en forêt selon le modèle de comparaison co-dominant (CT vs. CC+TT)	61
21. Graphique en forêt selon le modèle de comparaison CC vs. TT	62
22. Graphique en forêt selon le modèle de comparaison CC vs. CT	62
23. Graphique en forêt selon le modèle de comparaison CT vs. TT	63
24. Graphique en entonnoir selon le modèle de comparaison allélique (C vs. T)	68
25. Graphique en entonnoir selon le modèle de comparaison récessif (CC vs. CT+TT)	68
26. Graphique en entonnoir selon le modèle de comparaison dominant (CC+CT vs. TT)	69
27. Graphique en entonnoir selon le modèle de comparaison codominant (CT vs. CC+TT)	69
28. Graphique en entonnoir selon le modèle de comparaison CC vs. TT	70
29. Graphique en entonnoir selon le modèle de comparaison CC vs. CT	70
30. Graphique en entonnoir selon le modèle de comparaison CT vs. TT	71
31. Graphique en forêt (Leave-1-out) selon le modèle de comparaison allélique (C vs. T)	72
32. Graphique en forêt (Leave-1-out) selon le modèle de comparaison récessif	73
33. Graphique en forêt (Leave-1-out) selon le modèle de comparaison dominant	73
34. Graphique en forêt (Leave-1-out) selon le modèle de comparaison co-dominant	74
35. Graphique en forêt (Leave-1-out) selon le modèle de comparaison CC vs. TT	74
36. Graphique en forêt (Leave-1-out) selon le modèle de comparaison CC vs. CT	75
37. Graphique en forêt (Leave-1-out) selon le modèle de comparaison CT vs. TT	75

Liste des tableaux

Tableau I. Séquences des amorces utilisées pour l'amplification	32
II. Composition du milieu réactionnel de la PCR pour l'amplification	32
III. Programme du thermocycleur pour l'amplification	33
IV. Tableau de contingence croisé type pour une étude cas-témoins	35
V. Modèles de comparaison utilisés pour notre étude cas-témoins	36
VI. fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme dans notre population d'étude	47
VII. Résultats de l'analyse statistique de l'effet du polymorphisme	49
VIII. Caractéristiques des études incluses dans la méta-analyse	53
IX. Calcul de l'équilibre de Hardy-Weinberg ajusté pour les études incluses	58
X. Résultats des tests d'association selon les différents modèles de comparaison	59
XI. Analyse statistique par sous-groupe de l'effet du type de leucémie	64
XII. Analyse statistique par sous-groupe de l'effet de l'origine ethnique	65
XIII. Résultats du test d'hétérogénéité	66

Un cancer est dû à une prolifération anormale et clonale d'un type cellulaire donné. Les hémopathies malignes, proliférations anarchiques du tissu hématopoïétique, regroupent les leucémies et les lymphomes. Ces pathologies, communément appelées « cancers du sang », correspondent à un ensemble extrêmement hétérogène de proliférations myéloïdes et lymphoïdes malignes atteignant les organes lymphoïdes et non lymphoïdes (Achouria, 2012).

La leucémie est une maladie qui s'accompagne d'une dérégulation au niveau du processus de l'hématopoïèse, mécanisme de production des cellules sanguines (globules blancs, globules rouges et plaquettes). En fait elle est due à la présence excessive d'une famille anormale et maligne de cellules de la moelle osseuse, où sont fabriquées les cellules du sang, qui, par la suite, vont infiltrer plusieurs autres organes dont le foie et la rate (Gratwohl *et al.*, 2002).

Les leucémies sont caractérisées par l'accumulation et/ou la prolifération de cellules hématopoïétiques dans la moelle osseuse et le sang ; il existe des leucémies chroniques et des leucémies aiguës. Les leucémies chroniques sont caractérisées par une évolution lente et par la prolifération et l'accumulation de cellules originaires de la moelle osseuse à un stade avancé de leur différenciation. Dans le cas où cette prolifération concerne des cellules lymphocytaires (cellules lymphoïdes de la lignée B) on parle de Leucémies Lymphoïdes Chroniques (LLC), s'il s'agit de cellules myéloïdes (lignée granulocytaire essentiellement) de Leucémies Myéloïdes Chroniques (LMC). Les leucémies aiguës sont, elles, caractérisées par une évolution rapide et par la prolifération dans la moelle osseuse et dans le sang de cellules immatures. Suivant l'origine des blastes, lymphoblastes ou myéloblastes, on parle de leucémies aiguës lymphoblastiques ou myéloblastiques (Miguet *et al.*, 2006).

La Leucémie Aiguë Lymphoblastique (LAL) est principalement une pathologie de l'enfant et de l'adolescent avec un pic d'incidence vers quatre ans. Le pronostic des LAL de l'enfant s'est amélioré de façon spectaculaire durant les quatre dernières décennies (Pui *et al.*, 2006). Les Leucémies Aiguës Myéloblastiques ou Myéloïdes (LAM) sont des hémopathies malignes liées à la prolifération et à l'arrêt de la différenciation des précurseurs médullaires des lignées granuleuses, monocytaires, érythroïdes ou plaquettaires au stade de « blastes ». Il en résulte une accumulation de ces blastes dans la moelle, le sang et éventuellement dans d'autres organes (McKenzie, 2005).

Les leucémies aiguës représentent entre 10 et 15% des hémopathies malignes et sont des cancers rares selon la définition donnée par le groupe européen RARECare (database on the epidemiology of rare cancers in Europe) avec un taux d'incidence standardisé à la population mondiale inférieur à 6/100 000 habitant/ans (Gatta *et al.*, 2011).

La classification de cette maladie repose sur plusieurs aspects où la classification FAB (French American British) base sur les caractères cytologiques et cytochimiques, alors que celle de l'OMS (Organisation mondiale de la santé) s'appuie sur les méthodes cytogénétiques et le suivi thérapeutique (Valensi, 2002).

Le diagnostic et le pronostic de la leucémie reposent sur l'examen morphologique des cellules du sang et de la moelle osseuse au microscope photonique, la cytochimie, la présentation clinique, l'immuno-phénotypage des blastes par cyrtométrie de flux, la cytogénétique et la recherche de certains marqueurs moléculaires (Sébahoun, 2005).

Dans notre travail de recherche, nous nous sommes assigné les objectifs suivants :

- Prospecter l'implication du polymorphisme T3801C (*rs4646903*) de la région 3' non codante, connu également sous la désignation de l'allèle m1, du gène *CYP1A1* (OMIM : 108330), comme facteur de risque impliqué dans la survenue des leucémies aiguës (LAM et LAL). La recherche de cette éventuelle association se fera par la réalisation d'une étude moléculaire de type cas-témoins. La révélation du polymorphisme d'intérêt se fera par l'étude du Polymorphisme de longueur des fragments de restriction ou RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) après la réalisation d'une PCR (Polymerase Chain Reaction) de la région d'intérêt.
- Réaliser une étude génétique de type méta-analyse visant à mieux préciser l'effet du même polymorphisme d'intérêt (*rs4646903*) comme facteur de risque impliqué dans la survenue des leucémies aiguës (LAM et LAL).
- Confronter les résultats obtenus avec les données de la littérature.

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

**SANG, MOELLE OSSEUSE ET
HÉMATOPOÏÈSE**

I. Sang**1. Définition**

Le sang est un tissu conjonctif liquide, spécialisé, d'origine mésenchymateuse, mélange de plasma et de cellules sanguines, il est dépourvu de fibres, plus dense que l'eau, et visqueux dû à ses composants chimiques, légèrement alcalin (pH entre 7,35 et 7,45), et de saveur salée. Le sang est de couleur rouge, il reçoit sa couleur de l'hémoglobine ; une protéine contenant du fer dont la couleur varie en fonction de son oxygénation. Ce tissu liquide circule dans toutes les veines et les artères de l'organisme. Par ce biais il irrigue tous les tissus de notre corps. Son volume représente 8 % du poids corporel (soit environ 5 à 6 litres chez l'adulte sain mâle et 4 à 5 litres chez la femme). Il sert à diffuser le dioxygène, et les éléments nutritifs nécessaires aux processus vitaux de tous les tissus du corps, et à transporter les déchets tels que le dioxyde de carbone ou les déchets azotés vers les sites d'évacuation (intestins, reins et poumons). Il sert également à amener aux tissus les cellules et les molécules du système immunitaire, et à diffuser les hormones dans tout l'organisme (Sherwood, 2015 ; Tortora et Derrickson, 2017).

2. Composition**2.1. Le plasma**

Est la composante liquide du sang, il est constitué d'eau (90%) et de substances solubles ; protéines (albumines, globulines), glucides, lipides et sels minéraux, sortis du système vasculaire ou sous l'effet de certains stimuli, le plasma coagule (l'une de ses protéines, le fibrinogène, soluble, se transforme en une molécule insoluble, la fibrine). Ce qui reste liquide après coagulation du plasma est le sérum, car dépourvu en particulier du fibrinogène. Le plasma garantit la pression oncotique par le biais de protéines en général et de l'albumine en particulier, assurant le maintien du plasma dans le système vasculaire, différentes protéines du plasma participent à l'hémostase, à la défense de l'organisme vis-à-vis des agents infectieux (immunoglobulines) et participent au transport des molécules comme le fer (transferrine) (Mauzon, 2011; Sherwood, 2015).

2.2. Éléments figurés

Les éléments figurés du sang (les cellules) ont des durées de vie limitées ; il existe un équilibre dynamique entre leur production (l'hématopoïèse et la lymphopoïèse) et leur destruction. L'hématopoïèse est la production des précurseurs sanguins (prolifération, différenciation et maturation) et se déroule dans les organes hématopoïétiques (moelle osseuse chez l'adulte, foie et rate chez l'embryon) (Mauzon, 2011 ; Tortora et Derrickson, 2017).

Le processus de la lymphopoïèse comprend la production des précurseurs lymphoïdes qui se passe au niveau de la moelle osseuse. Elle se termine par la maturation des lymphocytes dans le thymus pour les lymphocytes T et par la prolifération des cellules dans les organes lymphoïdes secondaires (Kohler *et al.*, 2011).

2.2.1. Érythrocytes

Les érythrocytes ou globules rouges, appelés aussi hématies, sont des cellules anucléées, qui ont pour fonction première de transporter l'oxygène dans l'organisme. Leur production est finement régulée par la sécrétion d'une hormone, l'érythropoïétine (EPO), par les cellules du rein selon la concentration d'oxygène disponible dans ce tissu. Une hématie se compose d'une membrane et d'un cytoplasme. La membrane est très complexe composée d'une bicouche lipidique, de glycoprotéines membranaires dont certaines supportent les antigènes de groupes sanguins et de protéines de soutien dont la spectrine, véritable cytosquelette au rôle prépondérant dans le maintien de la forme en disque biconcave, indispensable à la survie de la cellule. Cette membrane permet les échanges entre plasma et cytoplasme. À sa surface, les charges électronégatives assurent une certaine force répulsive empêchant les hématies de s'agglomérer. Le cytoplasme, outre de l'eau (65% du poids de la cellule), contient des ions minéraux, du glucose en provenance du plasma et deux constituants essentiels de nature protéique : l'hémoglobine (Hb) et l'ensemble des enzymes érythrocytaires (Sherwood, 2015 ; Tortora et Derrickson, 2017).

L'hémoglobine (environ 34 % du poids de globule, 300 millions de molécules par cellules) est un tétramère constitué de deux dimères associant 1 chaîne α et 1 chaîne autre que α (dans les conditions physiologiques β et δ et γ selon l'âge). À chacune des 4 chaînes de globine est accroché un groupe prosthétique (non protéique), l'hème contenant un atome de Fer sur lequel vient se fixer la molécule d' O_2 transportée. Les enzymes érythrocytaires de la glycolyse fournissent l'énergie nécessaire à la survie de l'hématie. Cette énergie, sous forme d'ATP, joue un rôle essentiel dans le maintien structural et fonctionnel de la membrane érythrocytaire tandis que d'autres nucléotides associés à d'autres enzymes protègent l'hémoglobine de l'oxydation. La survie de l'hématie dans la circulation est d'environ 120 jours dans les conditions physiologiques. Elle nécessite l'aptitude de l'hématie à se déformer pour traverser les capillaires les plus étroits de la circulation, en particulier dans la rate, le foie et la moelle osseuse. Cette déformabilité exige le maintien des propriétés de la membrane et la fourniture d'énergie dont la disponibilité est limitée dans le temps, à terme, les cellules vieillissent deviennent rigides et sont retenues, dans les conditions physiologiques, au niveau de la moelle osseuse essentiellement. Elles sont alors phagocytées par les macrophages ; c'est l'hémolyse physiologique (Provan et Gribben, 2010).

Au microscope optique, l'hématie se présente sous la forme d'une cellule de 5 à 7 μ de diamètre d'aspect homogène, coloré en orangé au May Grünwald Giemsa (MGG). Son épaisseur est de 1,8 μm . Son volume moyen est de 90 femtolitres (μm^3). En microscopie électronique à balayage, ces cellules apparaissent sous forme biconcave, aplatie au centre, ayant un aspect de disque. Elles ne possèdent ni mitochondrie, ni ribosome, ni REG (Kohler *et al.*, 2011).

2.2.2. Leucocytes

Les globules blancs ou leucocytes sont des cellules produites dans la moelle osseuse et présentes dans le sang, la lymphe, les organes lymphoïdes (ganglions, rate, amygdale et végétations adénoïdes et plaque de Peyer) et de nombreux tissus conjonctifs de l'organisme. Il en existe trois types principaux : les granulocytes (ou polynucléaires), les lymphocytes et les monocytes. Chaque type joue un rôle important au sein du système immunitaire en participant à la protection contre les agressions d'organismes extérieurs de manière coordonnée. De nombreuses pathologies peuvent atteindre ces cellules, par anomalie de production ou de fonctionnement (Benkhelil *et al.*, 2018).

2.2.2.1. Polynucléaires

Appelés aussi les granulocytes, Ce groupe de cellules possède des caractéristiques communes. Elles contiennent un noyau plurilobé. Les lobes sont reliés les uns aux autres par des ponts fins de chromatine. Dans le cytoplasme, il existe deux types de granulations : des granulations non spécifiques primaires, riches en hydrolases et en peroxydases, communes à l'ensemble des polynucléaires et des granulations secondaires spécifiques à chaque groupe ayant des propriétés tinctoriales différentes. Dans la cellule mature, les granulations non spécifiques diminuent. On distingue les neutrophiles, les basophiles et les éosinophiles (Kohler *et al.*, 2011).

2.2.2.2. Monocytes

Ces cellules ont une durée de vie dans le milieu sanguin très courte (environ 24 heures). Elles passent ensuite dans les tissus où elles se différencient en macrophages. Elles appartiennent au système mononuclé-phagocytaire (Benkhelil *et al.*, 2018).

2.2.2.3. Lymphocytes

Ce sont des cellules mononuclées, au rapport nucléo / cytoplasmique élevé. Leur durée de vie est variable, certains lymphocytes mémoires peuvent avoir une durée de vie très longue (Kohler *et al.*, 2011).

2.2.3. Plaquettes

Les plaquettes (ou thrombocytes) proviennent de la fragmentation du cytoplasme d'une très grande cellule médullaire, les mégacaryocytes. Ceux-ci proviennent eux-mêmes de la différenciation d'une cellule souche, puis de progéniteurs particuliers, selon un mode de division et de maturation unique, marqué par l'endomitose ; le noyau se multiplie sans que la cellule se divise ; $2N$ étant le nombre de chromosomes de la cellule précurseur, les mégacaryocytes des générations successives vont contenir $4N$, $8N$, $16N$, $32N$, $64N$. En même temps, le cytoplasme s'agrandit et les plaquettes se forment. Les mégacaryocytes qui libèrent des plaquettes sont habituellement au stade $32N$. Chaque mégacaryocyte produit plusieurs milliers de plaquettes (Sherwood, 2015). La thrombopoïèse est régulée par facteur de croissance hématopoïétique présentent des homologies avec l'érythropoïétine, la thrombopoïétine (TPO) produite principalement par le foie et le rein. La membrane qui entoure les plaquettes est de composition lipidique comme celle des autres cellules sanguines, mais en diffère par la répartition des phospholipides et surtout par la présence d'un certain nombre de glycoprotéines au rôle fondamental dans les phénomènes de l'hémostase .son organisation intérieure avec un cytosquelette ,des granulations de différents types ,un système de communication avec l'extérieur ,est très complexe et justifie qu'on puisse la considérer comme une véritable cellule. Cette « cellule » circule dans le système vasculaire pendant 7 à 10 jours et ses fonctions multiples en font un élément indispensable aux phénomènes de l'hémostase et de la coagulation (Sherwood, 2015 ; Tortora et Derrickson, 2017).

II. Moelle osseuse

La moelle osseuse est un tissu vivant spécialisé, également d'origine mésenchymateuse, à consistance « onctueuse », situé au centre des os, responsable de la production des différents types des cellules sanguines. C'est un tissu « mou », par conséquent il est protégé par de l'os qui est un tissu dur. Si on rassemblait toute la moelle osseuse chez un adulte, la masse obtenue pèserait 1,6 à 3Kg (Drouet et Lagrange, 2010). Cet « organe » est très spécial, car anatomiquement diffus, s'étend à l'intérieur des espaces médullaires des os du squelette, séparés du tissu osseux proprement dit par une couche mésenchymateuse particulière, l'endoste. Dans cette couche, ostéoclastes et ostéoblastes assurent un remaniement perpétuel du tissu osseux. La moelle osseuse est composée d'un tissu hématogène (hématopoïétique ou moelle rouge) et d'un tissu adipeux (graisseux ou moelle jaune). La moelle dispersée sur le plan anatomique, étant constituée de multiples sous-unités fonctionnelles réparties dans l'ensemble des 206 pièces osseuses du squelette (Fliedner *et al.*, 2002 ; Drouet et Lagrange, 2010).

Néanmoins, en dépit de sa dispersion anatomique, elle présente une unité structurale et fonctionnelle justifiant la réunion des différents territoires intra-osseux qui la composent en un seul et même organe hématopoïétique (Fliedner *et al.*, 2002 ; Drouet et Lagrange, 2010).

La moelle va être localisée différemment, suivant qu'on parle du fœtus, d'un nouveau-né, d'un jeune ou d'un adulte ; chez le fœtus, elle est située à l'intérieur de toutes les cavités osseuses. Chez l'adulte, on la trouve dans les logettes de l'os spongieux de certaines épiphyses, dans les vertèbres, les côtes, les os plats (sternum, os iliaque) et le crâne. Un balancement existe entre la moelle hématogène et la moelle adipeuse. L'involution médullaire se produit avec l'âge, et se traduit par une réduction progressive de la moelle rouge hématogène, remplacée par la moelle jaune adipeuse. La moelle osseuse hématopoïétique assure plusieurs fonctions : hématogène (production des cellules du sang), immunologique (c'est un organe lymphoïde primaire, lieu de différenciation et de maturation des lymphocytes B) et ostéogène (assurant la formation, la croissance et le modelage du tissu osseux avec des ostéoblastes et des ostéoclastes) (Fliedner *et al.*, 2002 ; Drouet et Lagrange, 2010).

III. Hématopoïèse

C'est un processus physiologique hiérarchisé qui permet la production continue et régulée des éléments figurés du sang à travers différentes étapes de différenciation et d'expansion. La pérennité du système hématopoïétique est assurée par un pool rare et minoritaire de cellules multipotentes résidentes de la moelle osseuse, les Cellules Souches Hématopoïétiques (CSH) qui sont à la base de cette production continue et hautement contrôlée. Ainsi, les CSH régulent et maintiennent à un taux relativement constant le nombre de cellules sanguines malgré des variations de consommation liées à des conditions pathologiques (Sébahoun, 2005). Durant la vie intra-utérine, le sac vitellin, ensuite le foie, la rate et enfin la moelle osseuse est le siège de ce phénomène. Après la naissance l'hématopoïèse normale siège uniquement dans la moelle osseuse (Rieger et Schroeder, 2012).

La CSH, relativement quiescente, génère une série de progéniteurs, hiérarchiquement organisés, qui entrent en prolifération et, en même temps, restreignent progressivement leur capacité à se différencier en divers types cellulaires. Ces phénomènes sont corrélés à l'expression de gènes spécifiques des lignées qui destinent les cellules vers l'acquisition d'un phénotype mature, c'est-à-dire fonctionnel. Elles se renouvellent constamment permettant ainsi la pérennité de l'activité médullaire, sans se différencier et donc maintenir et amplifier le pool de CSH. Elles ont aussi la capacité de reconstituer *in vivo* l'hématopoïèse myéloïde et lymphoïde après injection dans des souris immunodéficientes (Lane *et al.*, 2009).

La division asymétrique d'une CSH génère deux cellules filles au devenir différent, une CSH identique à la cellule mère et un progéniteur capable de se différencier, de proliférer, mais incapable d'auto-renouvellement. Les CSH sont très rares dans l'organisme, et on estime leur nombre à environ 0,001% des cellules médullaires (Jagannathan-Bogdan et Zon, 2013).

1. Compartiments de l'hématopoïèse

1.1. Cellules souches pluripotentes

Il s'agit de cellules primitives ayant un haut pouvoir de prolifération, en effet elles ont capables de se renouveler, ce qui permet le maintien d'un nombre constant de cellules souches ; et de se différencier, ce qui assure le renouvellement des cellules sanguines qui meurent physiologiquement après un certain délai (Antony-Debré *et al.*, 2013).

1.2. Progéniteurs

Sous l'influence des facteurs stimulants, une cellule souche totipotente va s'engager dans la différenciation d'une lignée cellulaire. Elle devient alors un progéniteur ou cellule souche différenciée ou « engagée ». Elle se fait vers la lignée lymphoïde ou vers la lignée myéloïde. La cellule souche lymphoïde exerce une potentialité de différenciation vers les deux types de lymphocytes (T et B). La cellule souche myéloïde, appelée CFU-GEMM exerce une potentialité de différenciation vers les lignées myéloïdes granuleuse, érythrocytaire, monocytaire et mégacaryocytaire (Shizuru *et al.*, 2005). À ce stade, les progéniteurs perdent progressivement leur capacité d'auto-renouvellement, mais ils sont encore peu nombreux et non identifiables morphologiquement. Ils acquièrent tout de même les marqueurs CD 33 et HLA-DR en plus du CD34. Chaque progéniteur, dont le nom est fait de CFU (Colony Forming Unit) suivi de(s) lettre(s) caractérisant les lignées, garde le potentiel de différenciation. Il va poursuivre son programme de différenciation et donner naissance à des progéniteurs encore plus engagés (Lane *et al.*, 2009 ; Antony-Debré *et al.*, 2013).

1.3. Précurseurs

C'est un compartiment de division et de maturation qui apparaît après plusieurs divisions des progéniteurs avec une potentialisation de différenciation de plus en plus limitée. À ce stade, les précurseurs sont spécifiques d'une seule lignée et sont morphologiquement identifiables. Ils ont perdu toute capacité d'auto-renouvellement (Wu *et al.*, 2007).

Les précurseurs les plus immatures sont : les myéloblastes (à l'origine des polynucléaires), les proérythroblastes (à l'origine des hématies), les monoblastes (à l'origine des monocytes), les lymphoblastes (à l'origine des lymphocytes), ainsi que les mégacaryoblastes (à l'origine des plaquettes) (Wu *et al.*, 2007).

1.4. Cellules matures

L'ensemble de l'hématopoïèse a lieu dans la moelle osseuse et, dans les conditions physiologiques, seules les cellules terminales, matures et fonctionnelles vont passer dans le sang : polynucléaires, hématies, plaquettes, lymphocytes et monocytes. Le sang ne représente souvent qu'un lieu de passage et de transport entre leur lieu de production (la moelle) et le lieu de leurs fonctions (les tissus). Seuls, les lymphocytes et les monocytes auront de nouvelles différenciations après leur séjour sanguin (Adimy *et al.*, 2008).

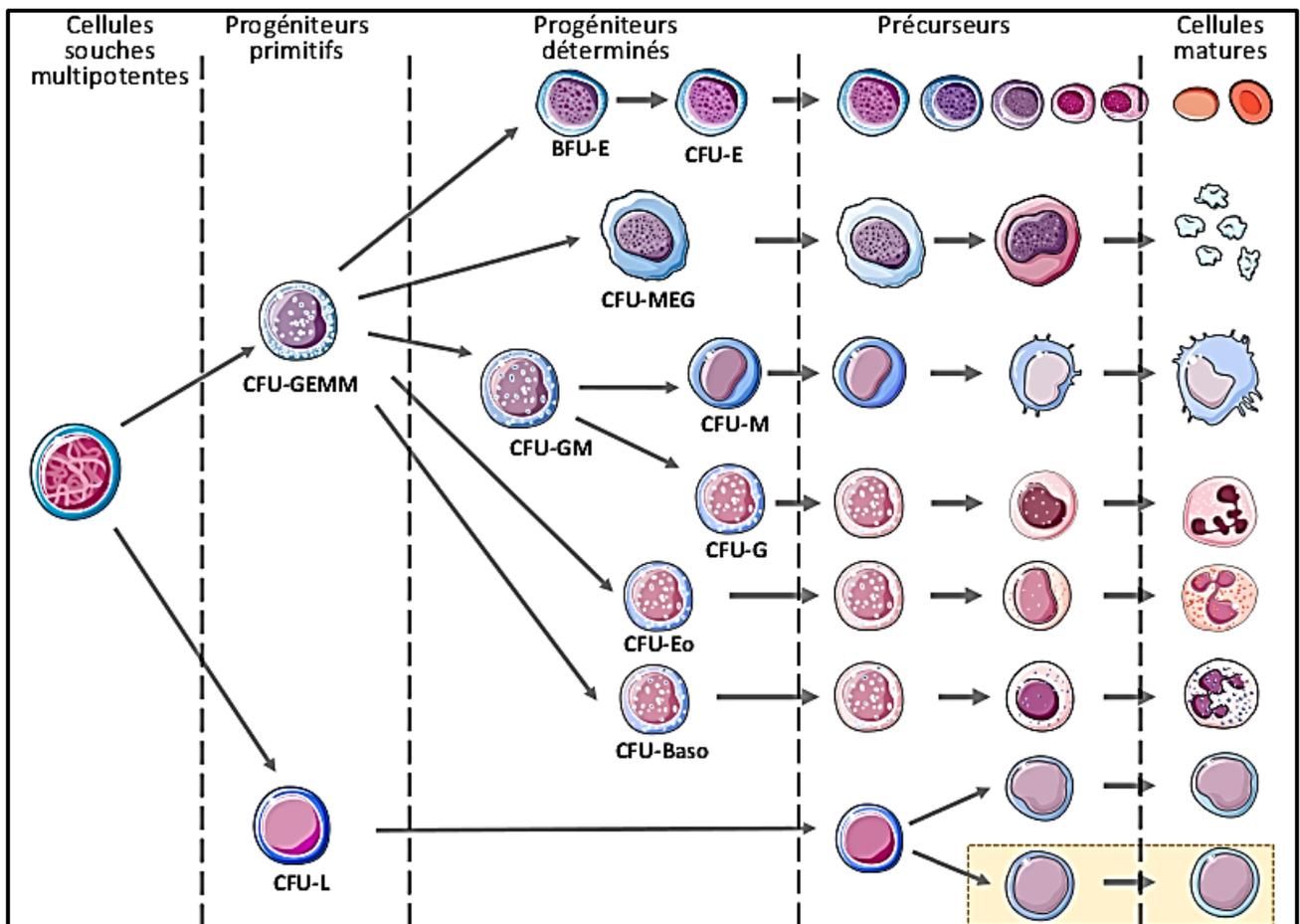


Figure 01. Compartimentation de l'hématopoïèse (Rieger et Schroeder, 2012).

2. Étapes de l'hématopoïèse

L'ensemble de l'hématopoïèse a lieu dans la moelle osseuse, seules les cellules terminales vont passer dans le sang. Durant ces périodes, plusieurs évènements moléculaires sont observés :

2.1. Hématopoïèse primitive

Elle se déroule du 18^{ème} jour jusqu'à la fin de la 8^{ème} semaine de la vie embryonnaire. Le Facteur de Transcription (FT) TAL-1 (T-cell Acute Leukemia 1) est exprimé à la fois dans les cellules endothéliales et hématopoïétiques, et les FT GATA-1 (GATA Binding Protein 1) et RBTN-1 (rhombotine) nécessaires à l'érythropoïèse primitive s'expriment également

2.2. Hématopoïèse définitive

D'autres FT sont impliqués : GATA-2, c-MYB, AML-1, GATA-3. Un peu plus tardivement, les FT myéloïdes : SCF (Stem Cell Factor) ou c-kit ligand et son récepteur c-kit, ainsi que l'EPO et son récepteur apparaissent (Palis, 2014).

3. Régulation de l'hématopoïèse

3.1. Microenvironnement médullaire

Le microenvironnement prend part à l'organisation générale de la moelle en « niche », donnant aux cellules souches les conditions anatomiques et intercellulaires nécessaires pour le bon déroulement de l'hématopoïèse. Le stroma médullaire permet les contacts intercellulaires et la sécrétion de facteurs de croissance (cytokines) (Martinaud *et al.*, 2017).

3.2. Facteurs de croissance hématopoïèse

Aussi appelés cytokines ou CSF (Colony Stimulating Factor). Ce sont des glycoprotéines jouant le rôle d'hormones hématopoïétiques dont la sécrétion est endocrine (rein), paracrine (stroma médullaire) et parfois autocrine, assurant la régulation et la continuité du processus hématopoïétique (Kaushansky, 2006). Il y a trois types de facteurs de croissance selon le lieu d'action au cours de l'hématopoïèse :

3.2.1. Facteurs de promotion (synergiques)

Augmentent la survie et le nombre des cellules souches entrant en cycle cellulaire : IL-1, IL-6, IL-11, IL-7, SCF (Stem Cell Factor) et sensibilisent les cellules aux autres facteurs de croissance par induction de récepteurs membranaires (Jagannathan-Bogdan et Zon, 2013).

3.2.2. Facteurs multipotents

Favorisent la différenciation, la multiplication et la survie des CSH et progéniteurs les plus immatures : IL-3 et le GM-CSF (Granulocytes Monocytes) pour les progéniteurs myéloïdes ou IL-7 pour les progéniteurs lymphoïdes (Kaushansky, 2006 ; Jagannathan-Bogdan et Zon, 2013).

3.2.3. Facteurs restreints

Comme le G-CSF (Granulocytes), M-CSF (Monocytes), l'érythropoïétine (hématies) ou IL-5 (lignée éosinophile) et la thrombopoïétine dont le rôle est de favoriser la multiplication, la maturation des précurseurs et la différenciation des progéniteurs les plus engagés dans une lignée particulière (Kaushansky, 2006). La fixation des facteurs de croissance ou des cytokines sur leurs récepteurs induit l'activation de diverses voies de signalisation intracellulaire comme la MAPK (Mitogen Activated Protein Kinases) qui vont agir sur le cycle cellulaire, la différenciation ou l'apoptose. Certains de ces facteurs de croissance (TGF- β , IFN- λ) inhibent l'hématopoïèse, dans des conditions pathologiques et/ou physiologiques (Jagannathan-Bogdan et Zon, 2013).

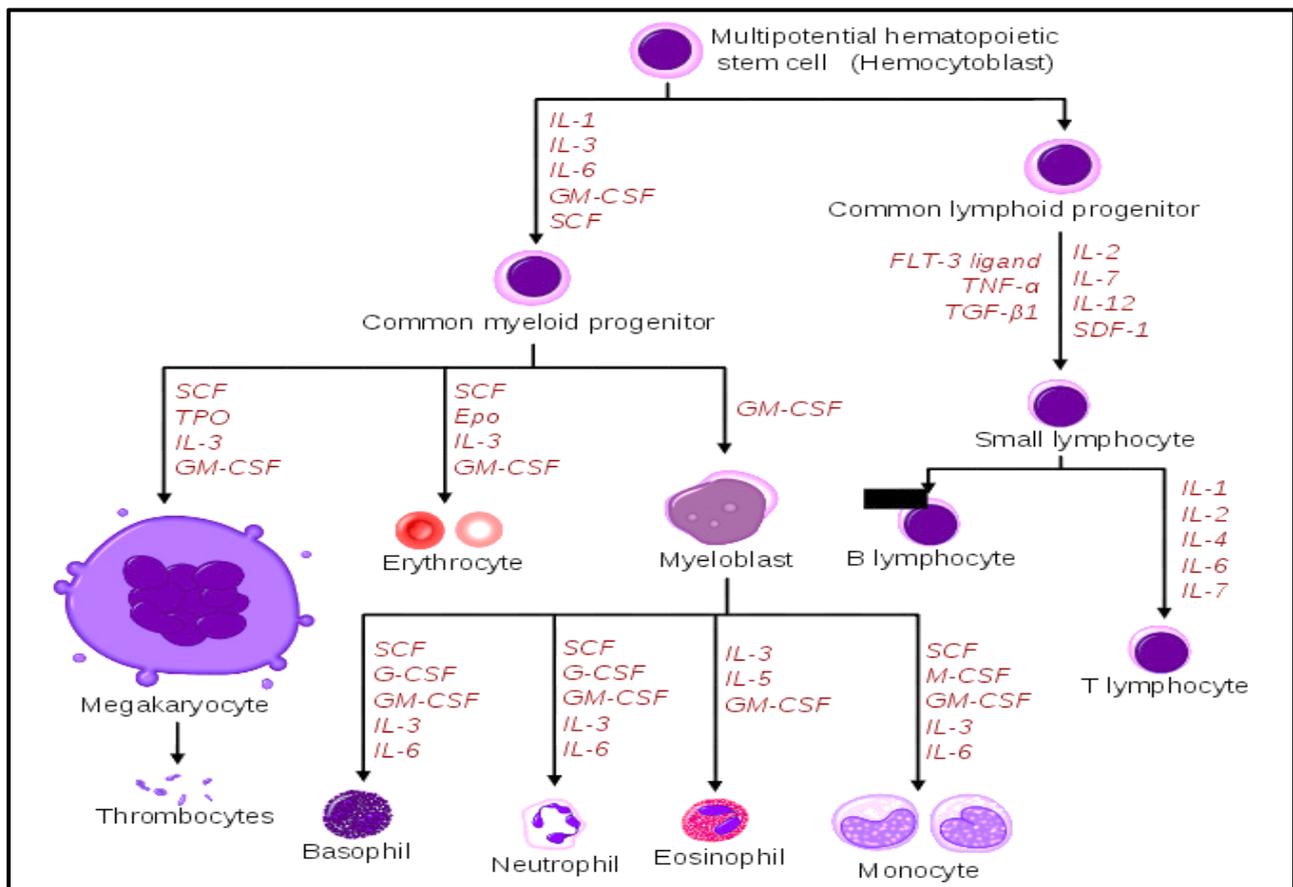


Figure 02. Les facteurs de croissance hématopoïétique (Rieger et Schroeder, 2012).

3.3. Facteurs de transcription

Ils modulent l'hématopoïèse en termes d'auto-renouveaulement, de différenciation de prolifération, d'apoptose, de sénescence, de capacités de migration ou bien d'adhésion. L'expression des facteurs de transcription s'effectue à un stade de maturation particulier et son influence s'exerce sur une lignée spécifique (Gocho et Yang, 2019).

3.4. Vitamines et oligoéléments

Certaines vitamines telles que la cobalamine (B12) et l'acide folique (B9) agissent sur l'ensemble des lignées cellulaires, en effet ces dernières sont nécessaires à la synthèse de l'Acide Désoxyribo-Nucléique (ADN) et donc à la division cellulaire. Un déficit de ces vitamines entraînera un blocage dans les différents compartiments de maturation et une augmentation du volume cellulaire. Les oligoéléments sont nécessaires à la production de protéines spécifiques de lignées. Comme le fer, élément indispensable pour la formation de l'hémoglobine, en cas de carence en fer la cellule ne pourra pas avoir une concentration en hémoglobine nécessaire pour bloquer les divisions cellulaires, engendrant des divisions supplémentaires provoquant l'apparition de cellules plus petites (microcytose) (Rieger et Schroeder, 2012 ; Martinaud *et al.*, 2017).

4. Dysfonctionnement de l'hématopoïèse

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, cytophèrese, plasmaphèrese).
- **Défaut de destruction** : pathologies d'accumulation (LLC, LMC) (Schmidt *et al.*, 2013).

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. Plus les altérations apparaissent tôt dans le processus de maturation, plus l'agressivité du cancer risque d'être élevée (Schmidt *et al.*, 2013).

CHAPITRE II

LEUCÉMIES AIGÜES

1. Définition

Les Leucémies Aigües (LA) constituent un groupe hétérogène d'affections hématologiques clonales caractérisées par une prolifération maligne dans la moelle osseuse d'un clone cellulaire anormal du tissu hématopoïétique et bloquée à un stade précis de différenciation, avec expansion de cellules immatures (blastes) qui peuvent être présentes dans le sang périphérique. La place actuelle de la biologie est fondamentale, car elle permet d'établir le diagnostic, de recueillir les facteurs du pronostic afin d'adapter le traitement et la gravité prévisible de la maladie. D'autre part, elle permet le suivi des leucémies aiguës après instauration des traitements (Jmili *et al.*, 2005). En Europe et aux États-Unis, les LA représentent 80% des leucémies et environ 35% des cancers de l'enfant. En Tunisie, les leucémies représentent actuellement la première hémopathie maligne diagnostiquée et traitée. Dès les premières descriptions, la sous-classification des LA en une série de variétés distinctes s'est imposée du simple fait de leur diversité morphologique. Ces subdivisions ont montré par la suite un intérêt pronostique du fait de leur sensibilité différente aux chimiothérapies. Malgré le développement de nouvelles technologies pour la caractérisation des différentes entités de leucémies aiguës dans les applications cliniques, on continue à utiliser les recommandations anciennes de la classification FAB, mise au point en 1976 et basée sur des caractéristiques morphologiques et cytochimiques dans beaucoup de pays en développement (Hasserjian, 2013).

2. Épidémiologie

Les leucémies aiguës, lymphoïdes et myéloïdes, sont des maladies rares, survenant à une fréquence d'environ 4 à 5 cas nouveaux par an pour 100 000 habitants, dont 90% chez l'adulte. Ils représentent 10 à 15% des hémopathies malignes et sont des affections rares qui en dehors de quelques formes sont souvent de pronostic péjoratif (Gatta *et al.*, 2011). Il existe une légère prédominance masculine (sexe-ratio 3/2) (Maynadié et Troussard, 2015).

Les LAM ont une incidence stable au cours du temps dans les pays occidentaux. L'âge médian de survenue est de 63 ans. En dehors des formes avec anomalies cytogénétiques récurrentes, en particulier les LA pro-myélocytaïres qui ont une survie à 5 ans voisine de 60%, les LAM ont une survie à 5 ans inférieure à 20% et qui ne s'améliore pas au fil du temps. Les LAL ont une incidence proche de 1,5/100 000 habitants/an. Elles sont surtout fréquentes chez l'enfant où l'incidence est supérieure à 6 avant 4 ans. Leur pronostic est meilleur chez l'enfant avec une survie à 5 ans de 90% chez l'enfant alors qu'elle n'est que de 35 à 40% chez l'adulte. On note une amélioration régulière de cette survie partout dans les pays occidentaux où les LAL B sont plus fréquentes et de meilleurs pronostics que les LAL T (Maynadié et Troussard, 2015).

Les leucémies aiguës sont des maladies rares rencontrées surtout chez le sujet âgé pour les LAM et surtout chez l'enfant pour les LAL. En dehors des formes avec anomalies cytogénétiques récurrentes, dont la LAP, qui ont un relativement bon pronostic, les LAM gardent un très mauvais pronostic pour lequel aucune amélioration n'est encore notable. Les LAL sont quant à elles de très bon pronostic chez l'enfant. Chez l'adulte, des progrès sont à noter bien que le pronostic reste sombre (Harioly Nirina *et al.*, 2015).

3. Étiologie

De nombreux travaux précisent que l'étiologie des leucémies aiguës reste inconnue avec 80% à 90% de cas idiopathiques. Toutefois on retrouve des facteurs favorisants dans 10% à 20% des cas ; certains liés à l'individu et d'autres liés à l'environnement (Landi *et al.*, 2006). On peut résumer ces facteurs de risques contribuant au processus de leucémogénèse comme suit :

- **Chimiothérapies anticancéreuses** : responsables de 10% des LAM. Sont en cause les agents alkylants, dans un délai allant jusqu'à 5 à 7 ans suivant l'administration, souvent après une phase de myélodysplasie, et les inhibiteurs de topoisomérase II, dans un délai inférieur à 2 ans.
- **Facteurs génétiques** : anomalies chromosomiques constitutionnelles (trisomie 21, maladie de Fanconi), déficit de p53 (syndrome de Li-Fraumeni), déficits immunitaires constitutionnels (ataxie-télangiectasie).
- **Facteurs viraux** : bien connus chez l'animal, ils ne peuvent être mis en cause que dans certaines formes très particulières : HTLV1 (Human T-Lymphotropic Virus 1) et leucémies-lymphomes T du Japon et des Antilles, EBV (Epstein-Barr Virus) dans certaines leucémies de type Burkitt.
- **Exposition aux radiations ionisantes.**
- **Toxiques** : hydrocarbures benzéniques (anciennement, peinture sur carrosserie, caoutchouc, pétrochimie, tabagisme).
- **L'acutisation de syndromes myéloprolifératifs chroniques** (leucémie myéloïde chronique surtout, maladie de Vaquez, splénomégalie myéloïde, thrombocytémie essentielle plus rarement) et de **syndromes myélodysplasiques** constituent des formes particulières, de très mauvais pronostic (Bourrelly, 2014).

4. Classification

Les leucémies aiguës sont des proliférations néoplasiques des précurseurs médullaires des cellules sanguines, associées à un blocage de maturation de ces précurseurs au stade de blastes. Il en résulte une accumulation de ces blastes dans la moelle, dans le sang, et éventuellement dans d'autres organes. La transformation maligne peut toucher les précurseurs des différentes lignées sanguines : granulocytaires, monocytaires, lymphoïdes, érythroblastiques et mégacaryocytaires, donnant lieu aux différents types de leucémies aiguës (Jaffe, 2001 ; Mandal, 2013).

Le système de classification FAB mis au point en 1976 (Bennett *et al.*, 1976) se base surtout sur l'apparence des cellules leucémiques, ou blastes, observées au microscope. Il classe la LAM en fonction du type de cellule à partir duquel la leucémie s'est développée et du degré de maturité des cellules. L'aspect des cellules constituant l'infiltrat permet, avec les colorations panoptiques usuelles (MGG) et la cytochimie, de classer cette leucémie aiguë. La classification FAB distingue 8 variétés définies selon leur différenciation et leur degré de maturation granuleuse (LAM0 à LAM7) (Vardiman *et al.*, 2009). Cette classification définit également trois catégories des LAL selon la morphologie des lymphoblastes : les lymphoblastes L1 se voient dans 85% des LAL et représentent la forme prédominante chez l'enfant. Les lymphoblastes L2 se voient dans 14% des cas et prédominent chez l'adulte. Les lymphoblastes L3 (LAL de type Burkitt) avec des immunoglobulines de surface sont retrouvés dans 1 à 2% des LAL de l'enfant comme de l'adulte. Cette classification n'est pas corrélée avec les marqueurs immunologiques de surface sauf pour les LAL3 qui présentent toujours des marqueurs de prolifération B (Mandal, 2013) (annexe I).

La classification des leucémies aiguës proposée par l'OMS en 2001 intègre les données morphologiques, immuno-phénotypiques, génétiques et cliniques dans le but de définir des entités biologiquement homogènes et cliniquement pertinentes. Le classement des leucémies aiguës est basé sur l'appartenance des blastes à une lignée lymphoïde ou myéloïde (Vardiman, 2010). Les LAL sont divisées en LAL à précurseurs B et LAL à précurseurs T. Les LAM comprennent quatre grandes catégories :

- LAM avec anomalies génétiques récurrentes,
- LAM avec signes de dysplasie touchant plusieurs lignées,
- LAM secondaires à des thérapeutiques,
- LAM autres, n'entrant pas dans les catégories précédentes (Vardiman, 2010 ; Mandal, 2013) (annexe I).

5. Aspects cliniques et biologiques

5.1. Aspects cliniques

La leucémie aiguë est caractérisée par l'association à des degrés variables de signes témoignant de l'infiltration tumorale et de signes consécutifs à l'insuffisance de production des éléments hématologiques normaux. Les symptômes cliniques sont très polymorphes, parfois très riches, parfois bas. L'ancienneté des troubles est rarement supérieure à 1 mois et le début est en général assez brutal, et il peut être asymptomatique et passer inaperçu (Wintrobe, 2008).

Les signes cliniques des leucémies peuvent être groupés principalement en ceux dues à l'insuffisance médullaire et ceux dues au syndrome tumoral proprement dit. Parfois, certains signes cliniques de gravité variable peuvent y'être associés (Greer *et al.*, 2013).

5.1.1. Syndromes d'insuffisance médullaire

L'insuffisance médullaire est liée à l'accumulation des cellules blastiques au niveau de la moelle osseuse et/ou l'arrêt de différenciation des cellules qui peuvent être progénitrices de la lignée lymphoïde (LAL) ou de la lignée myéloïde (LAM) (Zuckerman *et al.*, 2012). L'évolution médullaire des leucémies peut générer une insuffisance de l'hématopoïèse normale et des signes cliniques d'insuffisance médullaire plus ou moins associés : syndrome anémique d'origine érythrocytaire, syndrome hémorragique d'origine plaquettaire et infectieux d'origine leucocytaire favorisé par la neutropénie. Dans les leucémies aiguës ils sont presque toujours présents et associés (Gupta *et al.*, 2015). On en distingue trois en fonction des cytopénies sanguines trois manifestations du syndrome d'insuffisance médullaire :

- **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.
- **Le syndrome infectieux** : associée à l'importance de la neutropénie, l'atteinte de la lignée granulocytaire provoque une neutropénie voire une agranulocytose (définis 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). 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 (Gupta *et al.*, 2015).

- **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 (Zuckerman *et al.*, 2012 ; Gupta *et al.*, 2015).

5.1.2. Syndrome tumoral

Il s'agit d'un ensemble des signes cliniques liés à l'envahissement des tissus et organes par les cellules hyper-proliférantes d'une hémopathie. Cet envahissement entraîne une augmentation de volume et/ou un retentissement fonctionnel selon la cible. Les deux tissus principalement touchés sont les ganglions lymphatiques et la rate (Greer *et al.*, 2013). Il survient particulièrement dans les leucémies aiguës à composante monocytaire et LAL-T. 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 paralysie des nerfs crâniens.
- Hypertrophie gingivale et atteinte cutanée (nodules rouge-violet indolores, indolores et incrustés dans le derme, mais fortement évocateurs d'une leucémie aiguë myéloïde) (Zuckerman *et al.*, 2012 ; Gupta *et al.*, 2015).

5.1.3. Autres signes

- **Syndrome de lyse cellulaire tumoral** : C'est l'ensemble des complications secondaires à la destruction massive, spontanée ou provoquée d'une grande quantité de cellules néoplasiques lors d'un traitement anticancéreux, et parfois sans traitement. Il est plus fréquemment associé aux LAL et LAM.
- **Syndrome de CIVD** : La coagulation intravasculaire disséminée est liée à un catabolisme excessif du fibrinogène. Cela est dû à une libération massive de substances pro-coagulantes dans l'espace vasculaire, entraînant ainsi une activation excessive du processus de coagulation et une activation systémique de la thrombine rencontrée principalement dans le cadre du diagnostic des LAM3 et des leucémies aiguës lymphoblastiques de type Burkitt, ce syndrome peut aussi être observé dans les autres types de leucémies (Bounid et Haouach, 2019).

5.2. Aspects biologiques

Le diagnostic des leucémies repose souvent sur une prise de sang. Lorsque l'examen du sang ne permet pas le diagnostic avec certitude, on passe souvent à la réalisation d'autres examens comme le myélogramme ainsi que d'autres examens biologiques (Eveillard *et al.*, 2017).

5.2.1. Myélogramme

C'est l'examen de la moelle osseuse qui nécessite un prélèvement par ponction dans l'os, il évalue les proportions entre les différentes cellules de la moelle osseuse. C'est l'examen clef du diagnostic, il est indispensable même s'il existe des blastes circulants. Il va permettre d'affirmer le diagnostic. La moelle est le plus souvent riche en cellules, pauvre en mégacaryocytes, et contient, par définition au moins 20% de blastes (souvent plus, jusqu'à 100%). Pour les LAM les blastes contiennent souvent quelques granulations et parfois 1 ou plusieurs bâtonnets rouges (Azurophiles) appelés corps d'Auer. Alors que pour les LAL, les blastes sont de taille petite ou moyenne avec un cytoplasme peu abondant (Eveillard *et al.*, 2017 ; Kessal *et al.*, 2018).

5.2.2. Hémogramme

C'est l'analyse quantitative et qualitative des éléments figurés du sang. Il est toujours anormal dans le cas de leucémies et représente l'examen majeur du diagnostic. On observe souvent une anémie presque constante, parfois sévère, normocytaire ou modérément macrocytaire (LAM avec dysmyélopoïèse), non régénérative, une thrombopénie : très fréquente, parfois < 10 G/l, une leucocytose très variable, allant de la leucopénie (< 3 G/l) à l'hyperleucocytose majeure (> 100 G/l), et une neutropénie fréquente (< 1.5 G/l). Les blastes circulants peuvent représenter l'essentiel des leucocytes (formes hyper-leucocytaires), mais sont parfois absents ou très rares (Formes leucopéniques). Leur aspect morphologique varie d'une LA à l'autre, leur identification peut être difficile (Kessal *et al.*, 2018).

5.2.3. Cytochimie

Les colorations cytochimiques permettent de préciser la classification en LAL ou LAM quand l'étude cytologique simple est insuffisante. Les techniques de coloration panoptiques dont le seul objectif est de permettre une analyse morphologique ne répondent pas toujours aux attentes des cytologistes. Dans certains cas, il faut nécessairement recourir à des techniques de coloration spécialisées telles que la cytochimie. La cytochimie consiste à colorer, grâce à leurs propriétés chimiques particulières des structures de la cellule spécifique d'une lignée (Inwoley *et al.*, 2004).

Reposant sur des réactions colorées visualisables au microscope optique, la cytochimie est destinée à l'identification des substrats et d'activités enzymatiques dans les cellules. L'utilisation de la cytochimie ultra-structurale contribue à l'identification d'une population blastique. Elle est très utile en pathologie où les cellules deviennent nombreuses et monstrueuses, rendant la seule description morphologique difficile, sinon impossible. Il existe plusieurs techniques cytochimiques. En routine, deux techniques sont très utiles pour étudier les LA. Ce sont :

- **La réaction des myéloperoxydases (ou du noir soudan B)** qui est positive dans les LAM et certaines LA monocytaires. Elle est indispensable pour faire la distinction entre LAM1 et LAL2. Elle met en évidence l'activité peroxydasique des cellules de la lignée granulocytaire et en est spécifique. La production d'eau oxygénée permet la transformation d'un sel de benzidine en un composé brun aux endroits où se trouve la peroxydase ;
- **La réaction des estérases avec le naphтол AS ou ASD acétate (NASDA)** : elle est le plus souvent utilisée pour individualiser les cellules granuleuses et monocytaires au sein d'une population blastique (Salah *et al.*, 2014).

5.2.4. Immunophénotypage

L'immunophénotypage est la détermination d'antigènes cellulaires, qu'ils soient membranaires, intracytoplasmiques ou nucléaires. Il permet de caractériser la nature et le degré de différenciation des cellules leucémiques et constitue ainsi une étape essentielle au diagnostic et à la classification des hémopathies malignes. Aujourd'hui, l'immunophénotypage est devenu l'élément primordial pour le diagnostic et le choix du traitement dans le cas des LAL (Salah *et al.*, 2014). Il existe plusieurs techniques :

- **La cytofluorométrie** : l'analyse en cytofluorométrie des cellules marquées par immunofluorescence est considérée comme la méthode de référence pour la caractérisation immuno-phénotypique des LA.
- **L'utilisation des anticorps monoclonaux** : il existe sur le marché près de deux mille anticorps monoclonaux (AcMo) qui servent à détecter une centaine de molécules différentes présentes sur les cellules hématopoïétiques normales ou pathologiques. Les anticorps monoclonaux sont regroupés, selon la molécule ou l'antigène qu'ils reconnaissent, dans une classe de différenciation (CD). Seule une minorité d'entre eux est utile au diagnostic des hémopathies malignes.
- **L'immunocytochimie** : c'est la technique de marquage sur lames de cellules étalées par cyto-centrifugation et lisible au microscope optique. Elle a l'avantage de corrélérer la morphologie avec l'expression antigénique (Salah *et al.*, 2014 ; Béné et Lacombe, 2015).

5.2.5. Caryotype

Les techniques cytogénétiques conventionnelles et moléculaires sont maintenant intégrées dans le panel d'analyses indispensables au diagnostic de leucémie aiguë. Les anomalies chromosomiques contribuent à définir le type de leucémie et présentent aussi l'intérêt d'être des facteurs pronostiques indépendants, essentiels pour les choix thérapeutiques. Les techniques cytogénétiques contribuant au diagnostic des entités les plus fréquentes. Parmi les techniques d'approche du génome, actuellement disponibles, le caryotype reste un outil de base car il représente un moyen efficace et simple pour avoir une vue d'ensemble du génome (Dastugue, 2003).

L'analyse cytogénétique des leucémies aiguës révèle des anomalies chromosomiques acquises non aléatoires dans 50 à 90% des caryotypes. Elles peuvent être corrélées avec des paramètres morphologiques [t(15;17)(q22;q12) et LAM3] et/ou immunologiques [t(1;19)(q23;p13) et LAL PreB]. Elles constituent un facteur pronostique indépendant des autres facteurs de risque, favorable dans une LAL avec hyperdiploïdie > 50 chromosomes, une LAM avec inv(16)(p3;q22), défavorable dans une LAL avec chromosome Philadelphie ou t(4;11)(q21;q23), une LAM avec délétion du bras long d'un chromosome 5 ou un caryotype complexe. Le caryotype est nécessaire pour le suivi des patients en cas de rechute et pour l'évaluation de la maladie résiduelle (Mugneret et Charrin, 2002).

5.2.6. Biologie moléculaire

Les techniques de biologie moléculaire sont aujourd'hui devenues incontournables dans la prise en charge des leucémies aiguës. Leur sensibilité élevée et les possibilités de standardisation en ont fait des outils de choix dans l'évaluation diagnostique et pronostique des malades, si bien qu'elles ont aujourd'hui leur place dans la plupart des protocoles en vigueur (Preudhomme, 2002). Environ 30 à 40% des leucémies aiguës présentent une translocation équilibrée induisant classiquement la fusion de deux gènes avec production d'un ARN chimérique, dont la mise en évidence constitue un argument diagnostique objectif et permet de définir certaines entités de LA au pronostic bien établi avec une prise en charge thérapeutique la plus adaptée possible. Au cours de ces dernières années, de nombreuses autres altérations ont pu être identifiées et trouvent particulièrement leur place en absence d'anomalie cytogénétique récurrente. Certaines sont d'ores et déjà étudiées de manière systématique. Enfin, la grande sensibilité de ces techniques leur a permis de s'imposer comme le gold standard pour l'évaluation de la réponse au traitement et/ou la détection des rechutes infracliniques, permettant une modification voire une intensification des traitements le plus précocement possible (Duployez et Preudhomme, 2015).

6. Traitement

Le but est double : obtenir une rémission (disparition de la maladie détectable) et éviter les rechutes. Ce traitement repose principalement sur une chimiothérapie intensive, et s'accompagne au moins dans sa phase initiale d'une insuffisance médullaire sévère et prolongée (Thomas, 2002). En l'absence de tout traitement, la leucémie aiguë est mortelle en quelques semaines essentiellement par complications hémorragiques et/ou infectieuses. Ce délai peut cependant être nettement prolongé dans certains cas, par un traitement symptomatique (transfusions et traitement des complications infectieuses). Cette attitude est proposée chez les patients de plus de 75 ans chez qui on ne peut envisager de chimiothérapie du fait de la toxicité (Boissel, 2006).

- **Chimiothérapie** : différents médicaments sont utilisés, toujours associés de façon à bénéficier de différents mécanismes d'action et à empêcher certaines résistances. Les anthracyclines et la cytosine arabinoside sont la base du traitement des LAM. On les utilise aussi dans les LAL, avec d'autres drogues plus spécifiques de cette maladie comme la vincristine, l'asparaginase, le méthotrexate (intraveineux et/ou intrathécal), et les corticoïdes (Boissel, 2006).
- **Radiothérapie** : elle n'est utilisée que dans deux indications : irradiation prophylactique ou curative des localisations neuroméningées (LAL de l'adulte et leucémies aiguës monoblastiques), et irradiation corporelle totale utilisée en préparation aux greffes de cellules souches hématopoïétiques (Boissel, 2006).
- **Grefe de cellules-souches hématopoïétiques** : cette opération permet de remplacer les cellules souches « leucémiques ». Il en existe deux types :
 - **Allogénique** : les cellules sont prélevées chez un donneur sain, HLA identique, familial ou non. L'allogreffe permet de réaliser une préparation chimio- et/ou radiothérapique à visée cytotoxique, mais elle a également un effet curatif propre du fait de réaction immunitaire anti-leucémique du greffon. Par contre, elle est responsable d'une mortalité toxique élevée (autour de 15%) et ne peut pas être proposée aux sujets âgés.
 - **Autogreffe** : les cellules sont prélevées chez le malade en rémission. Dans ce cas, on ne bénéficie pas d'effet immunitaire anti-leucémique et le seul intérêt de l'autogreffe est de pouvoir réaliser une préparation chimio/radiothérapique intensive (Boissel, 2006).
- **Thérapeutiques « ciblées »** : dans certaines leucémies, on utilise des agents à visée différenciante (cas de l'acide rétinoïque dans les LAM3) ou bloquant spécifiquement un signal intracellulaire dérégulé (cas des inhibiteurs de tyrosine-kinases dans les proliférations avec chromosome Philadelphie) (Thomas et Thiebaut, 2004).

CHAPITRE III

GÉNÉTIQUE DES LEUCÉMIES AIGUËS

1- Mécanismes moléculaires dans la leucémogénèse

Les fondements génétiques du cancer ont été établies dans les années 1970 par l'étude de modèles expérimentaux de transformation qui nous ont permis de mettre en évidence l'existence d'oncogènes et de gènes suppresseurs de tumeurs. Dans le cas des leucémies aiguës, 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. Cette transformation tumorale est un processus multi-étape qui résulte de l'accumulation d'anomalies génétiques, le plus souvent acquises dans un progéniteur hématopoïétique et qui nécessite la coopération d'au moins deux événements : l'un bloquant la différenciation, et l'autre stimulant la survie cellulaire et la prolifération (Bernard, 2010). Des expériences sur des modèles animaux nous ont permis de montrer que seule une fraction des cellules leucémiques est capable de recréer la leucémie, révélant ainsi une structure hiérarchique de la prolifération dans nombre de leucémies aiguës 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 (Rowley, 2000).

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 LMC et à certaines 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 ciblé des LMC (Ravinet *et al.*, 2011).

2- Altérations géniques rencontrées dans les leucémies aiguës

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 caryotypes 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 les processus de différenciation myéloïde et lymphoïde. 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 (Ravinet *et al.*, 2011).

Les anomalies génétiques trouvées dans les leucémies aiguës 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).

Grâce à l'apport des techniques d'analyse génomique à grande échelle, notamment array-CGH (Comparative Genomic Hybridization), 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 myélodysplasiques et de la mononucléose (Duployez et Preudhomme, 2015).

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* (Duployez et Preudhomme, 2015).

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 (Duployez et Preudhomme, 2015).

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 (Duployez et Preudhomme, 2015).

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. Les mieux caractérisés actuellement sont les gènes : *DNMT*, *TET2*, *IDH1/IDH2*, *NPM1*, *ASXL1*, *WT1*, *BAALC*, *ERG*, *EVII* et *MNI*, ainsi que le gène *P53* (Takahashi, 2011 ; Duployez et Preudhomme, 2015).

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 diagnostique 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- Les translocations

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 (Mugneret et Charrin, 2002).

3-2- Les 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 Charrin, 2002).

4- Biologie Moléculaire des leucémies aiguës

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. 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. La duplication interne en tandem de *FLT3* (*FLT3-ITD*) est associée à un pronostic défavorable. 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 (Duployez et Preudhomme, 2015).

5- Le cytochrome P450 1A1 (*CYP1A1*)

Les cytochromes P450 (CYP) forment une superfamille multigénique d'enzymes impliquées dans le métabolisme oxydatif de molécules très diverses, comprenant aussi bien des xénobiotiques que des substances endogènes. Chez l'homme, les cytochromes sont localisés principalement dans le réticulum endoplasmique et dans les mitochondries. Ils sont généralement ubiquitaires, présents pour la plupart dans le foie mais aussi dans de nombreux tissus importants. Certaines isoformes sont spécifiques d'un tissu donné (Williams *et al.*, 2000 ; Ortiz de Montellano, 2004).

Les réactions de biotransformation des xénobiotiques catalysées par les CYPs s'inscrivent dans un processus de détoxification évitant l'accumulation de substances potentiellement toxiques dans l'organisme. La grande diversité des molécules rencontrées a conduit, au cours de l'évolution, à une importante variabilité inter et intra-espèce en termes de profil métabolique. Il s'agit d'enzymes inductibles, en particulier par certaines hormones, médicaments ou polluants chimiques. Paradoxalement, ces enzymes peuvent parfois catalyser l'activation chimique de certains composés et produire des métabolites toxiques, mutagènes, voire cancérigènes (Ortiz de Montellano, 2004). De plus, les CYPs humains sont très polymorphes (<http://www.cypalleles.ki.se/>). Ceci peut modifier la susceptibilité à certaines pathologies ou modifier la réponse à certains traitements médicamenteux. On dénombre actuellement 17 familles de cytochromes P450 chez l'homme, comportant 49 gènes et 15 pseudogènes. Les formes prépondérantes de P450s sont représentées par les sous-familles *CYP1A*, *CYP2C* et *CYP3A*. Le *CYP1A2* est essentiellement exprimé au niveau du foie. À l'inverse, les *CYP1A1* et *CYP1B1* sont surtout des iso-enzymes retrouvées dans des tissus extra-hépatiques (Nelson *et al.*, 1996). Un polymorphisme génétique important pour plusieurs CYP conduisant à des niveaux d'expression enzymatiques très différents selon les individus traduisant des différences interindividuelles de susceptibilité à l'action des toxiques a été mis en exergue (Genguerich, 2005).

Le gène *CYP1A1* (OMIM : 108330) code pour une mono-oxygénase ; enzyme de détoxification inductible par les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) impliquée dans le métabolisme des xénobiotiques et dans celui du cholestérol, des stéroïdes et autres lipides. Ce gène est localisé en 15q22-q24. Il contient 7 exons et 6 introns. Il comprend 5987 pb. Il est localisé à 25 kb du *CYP1A2* et code pour une protéine de 512 acides aminés (Zanger et Schwab, 2013).

Le gène *CYP1A1* est sous le contrôle d'un facteur de transcription ; le récepteur des hydrocarbures aromatiques AHR (Aryl Hydrocarbon Receptor). L'expression de *CYP1A1* est à prédominance extra-hépatique. Le *CYP1A1* est exprimé dans le foie fœtal, mais son expression chez l'adulte n'est pas très importante. Par ailleurs, il est exprimé dans les poumons où des variations importantes dans les niveaux de *CYP1A1* ont été observées entre les individus. Cette isoenzyme est également retrouvée dans le placenta et dans les cellules sanguines périphériques (les lymphocytes et monocytes). De plus, l'ARNm associé au gène *CYP1A1* a été détecté dans d'autres tissus comme le pancréas, la prostate, le thymus, l'intestin grêle, le colon et les glandes mammaires et le testicule (Shimizu *et al.*, 2000). L'importance du *CYP1A1* vient du fait qu'il a toujours été associé avec le métabolisme de composés pro-cancérigènes en métabolites hautement cancérigènes (Vakharia *et al.*, 2001).

Plusieurs polymorphismes de *CYP1A1* ont été décrits dans la littérature ; quatre d'entre eux sont les plus étudiés pour leur implication dans plusieurs pathologies :

- **m1 (*CYP1A1**2 ou *CYP1A1**2A)** : sujet de notre étude, identifié en 1987, le polymorphisme T3801C (*rs4646903*) situé dans la région 3' non codante en aval du site de polyadénylation a pour conséquence l'apparition d'un nouveau site de restriction *MspI*. Ce polymorphisme altère la stabilité de l'ARNm codé et le niveau d'expression du gène générant ainsi une protéine fortement inductible par les hydrocarbures et une activité enzymatique augmentée (Shah *et al.*, 2009).
- **m2 (*CYP1A1**2C)** : identifié en 1991, le polymorphisme A2455G (*rs1048943*) localisé dans l'exon 7 (codon 462) conduit à la substitution Ile462Val avec pour conséquence la disparition d'un site de restriction *BsrDI* (Shah *et al.*, 2009).
- **m3 (*CYP1A1**3)** : identifié en 1993, le polymorphisme T3205C dans la région 3' non codante en amont du site de polyadénylation a pour conséquence l'apparition d'un nouveau site de restriction *MspI* (Shah *et al.*, 2009).
- **m4 (*CYP1A1**4)** : identifié en 1996, le polymorphisme C2453A (*rs1799814*) dans l'exon 7 (codon 461) conduisant à la substitution Thr461Asn avec pour conséquence la disparition d'un site de restriction *BsaI* (Shah *et al.*, 2009).

De nombreuses prospections ont prospecté l'implication du polymorphisme m1 (sujet de notre étude) dans la survenue de pathologies complexes, essentiellement cancéreuses (poumon, prostate, vessie et leucémies) (Androutsopoulos *et al.*, 2009).

Partie pratique

Patients et méthodes

Notre travail de recherche est axé sur deux volets complémentaires :

- Réaliser une étude moléculaire de type cas-témoins visant à prospecter l'implication du polymorphisme T3801C (*rs4646903*) de la région 3' non codante du gène *CYP1A1* (OMIM : 108330), comme facteur de risque impliqué dans la survenue des leucémies aiguës (LAM et LAL). La révélation du polymorphisme d'intérêt se fera par RFLP.
- Réaliser une étude génétique de type méta-analyse visant à mieux préciser l'effet du polymorphisme d'intérêt cité précédemment comme facteur de risque impliqué dans la survenue des leucémies aiguës (LAM et LAL).

I. Étude moléculaire

1. Cadre de l'étude

Nous avons effectué entre le dimanche 08 mai et le jeudi 02 juin 2022, une étude moléculaire, transversale, descriptive, de type cas-témoins, avec recrutement prospectif, monocentrique, au niveau du service d'hématologie du CHU Benbadis - Constantine. Ce volet de notre travail de recherche a pour objectif d'évaluer l'impact d'un variant génétique donnée (polymorphisme) T3801C (*rs4646903*) du gène *CYP1A1* dans le risque de survenue d'une leucémie aiguë dans une cohorte de patients issus de l'Est algérien. Nous avons essayé d'évaluer la différence dans la distribution de ce variant génétique rapporté comme facteur de risque impliqué dans la leucémogénèse entre une population de cas, constituée d'hommes et de femmes diagnostiqués avec une leucémie aiguë (LAM ou LAL), et une population de témoins, supposés sains, sélectionnés dans la population générale et qui ne sont *a priori* pas porteurs de la pathologie étudiée. L'objectif étant de vérifier, sur un « échantillon représentatif » de la population algérienne, des données publiées dans la littérature qui associent (ou non) ce polymorphisme à un risque accru de développer ce type d'hémopathies malignes.

2. Définition de la population d'étude

2.1. Patients

Les personnes incluses dans notre étude sont tous des hommes et des femmes diagnostiqués avec une leucémie aiguë et recrutées au niveau du service d'hématologie du CHU Benbadis - Constantine. Tous les patients ayant participé à cette étude moléculaire, après lecture et explications exhaustives, ont signé un consentement éclairé nous autorisant à l'utilisation de leurs données cliniques, biologiques, ainsi que de leur matériel génétique (ADN) pour la présente étude moléculaire ainsi que d'autres examens à l'avenir (annexe II). Les données ont été recueillies à partir des dossiers des malades (archive) en utilisant une fiche de renseignement (annexe III). Nous avons exclu de cette prospection les patientes refusant de faire le prélèvement.

2.2. Témoins

Un total de 84 personnes en bonne santé apparente, et ce après la réalisation d'un questionnaire dûment renseigné, ont été recrutés comme témoins dans cette étude. Le matériel génétique de ces témoins a été recueilli dans le cadre d'études précédentes ayant prospectées l'implication de ce variant génique dans d'autres dysfonctionnements, et ce au niveau du laboratoire de recherche Biologie et Génétique Moléculaire du CHU Ben Badis - Constantine. Cette cohorte des témoins sains est jugée comme étant représentative de la répartition du polymorphisme d'intérêt (T3801C du gène *CYP1A1*), sujet de notre étude, dans la population algérienne (Boudokhane *et al.*, 2020).

3. Analyse génétique

Après recrutement des patients, l'extraction de l'ADN, ainsi que l'analyse moléculaire qui a suivi pour l'étude des polymorphismes T3801C (*rs4646903*) du gène *CYP1A1* ont été effectuées au niveau du Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBt) - Constantine.

3.1. Extraction d'ADN à partir de sang total

3.1.1. Le prélèvement sanguin

Le prélèvement sanguin (5 à 10 ml) destiné à l'extraction de l'ADN est recueilli dans des conditions stériles par ponction veineuse, dans un tube vacutainer (sous vide) contenant de l'EDTA (Ethylene Diamino Tetracetic Acid) comme anticoagulant (tubes avec bouchon de couleur mauve).

3.1.2. L'extraction de l'ADN

La technique d'extraction d'ADN employée sur un prélèvement de sang total utilise un solvant inorganique, le NaCl, dite méthode de *Miller*. L'extraction se fait en trois étapes ; la préparation des leucocytes, l'extraction de l'ADN proprement dite et enfin la solubilisation (*Miller et al.*, 1988). Après réalisation d'un prélèvement sanguin de 5 à 10 ml dans des tubes vacutainer EDTA, l'extraction de l'ADN est lancée immédiatement ou si les conditions ne le permettent pas dans les 3 à 5 jours qui suivent la réalisation du prélèvement conservé à +4°C (dans un simple réfrigérateur). L'extraction de l'ADN se fait en 3 étapes :

- **Préparation des leucocytes** : les leucocytes sont séparés du sang par lyse hypotonique des dans un tampon Tris-EDTA (Tris 20 mM, EDTA 5 mM, pH 7,5) (TE) 20:5 pendant 10 minutes dans la glace. Après lavage, le culot est remis en suspension dans le TE 20:5.
- **Extraction de l'ADN** : se fait par ajout d'un tampon de lyse (NaCl 400 mM, EDTA 2 mM, Tris 10 mM, pH 8,2), du Sodium Dodecyle Sulfate (SDS) à 10% et de la protéinase K à 10 mg/ml. Les tubes sont mis en rotation sur une roue, à 27°C, pendant une nuit, et sont refroidi le lendemain dans la glace pendant 5 minutes. On ajoute ensuite 1 ml de NaCl 4M pour la libération de l'ADN nucléaire dans le lysat ainsi que la digestion et l'élimination des protéines qui lui sont associées par précipitation avec ce solvant inorganique. La pelote d'ADN est formée dans le surnagent par précipitation avec l'éthanol pur. Une fois la pelote d'ADN récupérée avec une pipette Pasteur, elle est rincée deux fois dans l'éthanol à 70% et mise ensuite dans un tube Nunc® de 1,5 ml.
- **Solubilisation** : l'ADN ainsi obtenu est solubilisé en phase aqueuse, et ce en ajoutant entre 300 et 1000 µl d'eau bidistillée selon la grosseur de la pelote. On laisse une nuit sur un agitateur-rotateur à 37°C, puis à température ambiante jusqu'à dissolution complète Cette opération dure entre 1 et 2 jours.

3.1.3. Détermination de la concentration, la pureté et de la qualité de l'ADN extrait

La pureté ainsi que la concentration de l'ADN sont déterminées par spectrophotométrie à lumière Ultra-Violet (UV) avec un Nanodrop® (Thermo Scientific Nanodrop® ND-1000). Il s'agit d'un spectrophotomètre particulier qui ne nécessite pas l'utilisation de cuvette. Un volume de 2 µl de l'échantillon est déposé directement à l'extrémité d'un câble de fibre optique. Lorsque celui-ci est mis en contact avec un second câble par fermeture de l'appareil, l'échantillon est maintenu par une tension de surface et traversé par un signal lumineux. Il est possible ainsi de mesurer et de quantifier les ADN double comme simple brin. L'analyse de l'absorbance se fait par un logiciel (Nanodrop® 1000 v3.7) installé sur un ordinateur relié à l'appareil.

L'ADN absorbe à 260 nm alors que les protéines qui représentent les témoins de contamination absorbent à 280 nm. L'absorption (absorbance ou Densité Optique (DO)) est mesurée à deux longueurs d'ondes différentes (260 et 280). Par la suite, le rapport 260/280 est établi pour évaluer la pureté de l'ADN est déterminée en vérifiant une éventuelle contamination par les protéines ou par les ARN. On considère que : l'ADN est suffisamment pur lorsque le rapport $R = DO\ 260/280$ est compris entre 1,6 et 2 ($1,6 < R \leq 2$), l'ADN est contaminé par les protéines si $R < 1,6$ et que l'ADN est contaminé par les ARN si $R > 2$.

3.2. Génotypage du *CYP1A1*

Afin de génotyper notre population pour le polymorphisme d'intérêt du gène *CYP1A1* nous avons été amené à réaliser une technique de PCR-RFLP (amplification génique suivie du digestion enzymatique). Cette technique est basée sur le fait que la présence de l'allèle muté crée ou entraîne la disparition d'un site de coupure pour une enzyme de restriction donnée. On amplifie par PCR classique un segment d'ADN spécifique de la région d'intérêt contenant la mutation ponctuelle étudiée. Le produit d'amplification est ensuite digéré par une enzyme de restriction adéquate et les produits de digestion sont séparés par électrophorèse sur gel d'agarose. Le profil électrophorétique de digestion ainsi obtenu permet de constater la présence ou l'absence d'une coupure enzymatique du produit amplifié (différences du profil électrophorétique en fonction du génotype), révélant la présence ou l'absence du polymorphisme.

3.2.1. Amplification de la région 3' non codante du *CYP11A1*

Pour prospecter le polymorphisme T3801C (rs4646903) (région 3' non codante) (connu également sous la désignation de l'allèle m1) du gène *CYP11A1* (OMIM : 108330), nous avons amplifié par PCR la région 3' non codante en utilisant une paire d'amorces spécifiques.

Tableau I. Séquences des amorces utilisées pour l'amplification de la région 3' non codante du *CYP11A1*.

Amorces	Séquence (5'→3')	Taille de la région amplifiée (pb)
<i>CYP11A1</i> (F)	CAGTGAAGAGGTGTAGCCGCT	340
<i>CYP11A1</i> (R)	TAGGAGTCTTGTCTCATGCCT	

Solution d'amorces préparée séparément pour (F) et (R) par une dilution au 1/6^{ième} à partir de la solution mère : 10 µl (F) ou (R) + 50 µl d'eau bi-distillée.

Les réactifs utilisés pour la préparation du milieu réactionnel de la PCR ainsi que les quantités nécessaires pour chaque tube sont mentionnés dans le tableau ci-après. La préparation du milieu réactionnel de la PCR se fait dans la glace.

Tableau II. Composition du milieu réactionnel de la PCR pour l'amplification de la région 3' non codante du *CYP11A1*.

Réactif	Vol/tube (µl)
ADN (~50ng)	2
Tampon 10X (Sans MgCl ₂)	2
dNTP 2Mm	3,20
MgCl ₂ 50Mm	0,60
Taq Polymérase (Bioline® 250U)	0,16
H ₂ O bi-distillée	17,42
Amorces (F)	2
Amorces (R)	2
Total	25

Tableau III. Programme du thermocycleur pour l'amplification de la région 3' non codante du *CYP11A1* (durée : 108 minutes).

Processus	Température (°C)	Temps	Cycles
Dénaturation initiale	95	4 minutes	1
Dénaturation	95	30 secondes	40
Hybridation	61	30 secondes	
Élongation	72	30 secondes	
Élongation finale	72	4 minutes	1

Les produits de PCR sont stockés à 4°C jusqu'à utilisation. Un contrôle de PCR est réalisé avant de passer à la digestion.

3.2.2. Digestion et migration sur gel d'agarose

Le polymorphisme T3801C fait apparaître un site de restriction supplémentaire pour *HpaII* (enzyme extraite de la bactérie *Haemophilus parainfluenzae* (American Type Culture Collection (ATCC) 49669) ou celui de son isoschizomère *MspI* extraite de bactéries du genre *Moraxella* (ATCC 49670) (figure 03).

Les produits de PCR sont mis en incubation pendant 5 heures à 37°C dans l'étuve en présence de l'enzyme de restriction *HpaII* (ou *MspI*) (Kit BioLabs®) et du tampon de digestion 1X (CutSmart® Buffer) (Kit BioLabs®). La digestion est stoppée par immersion dans un bain-marie à 80°C pendant 20 minutes.

La migration des produits de PCR digérés et colorés au BBP (dilué au 1/2 dans le TBE1X) se fait sur un gel d'agarose (UltraPure™ Agarose) à 3 % préparé avec du BET. La migration se fait sous un courant à 100V pendant 2 heures et en parallèle avec le marqueur de taille XIV (marquer XIV - 100 pb, Roche®).

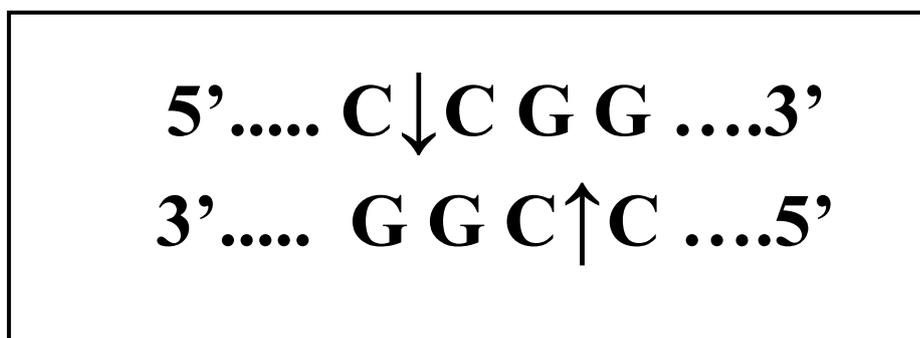


Figure 03. Représentation schématique du site de restriction de l'enzyme *HpaII*.

Pour le génotype TT on observe une seule bande qui correspond au fragment de 340 pb. Pour le génotype TC on obtient 3 bandes qui correspondent aux fragments de 140, 200 et 340 pb. Enfin, pour le génotype CC, on observe deux bandes correspondantes à deux fragments de 140 et 200 pb (figure 04).

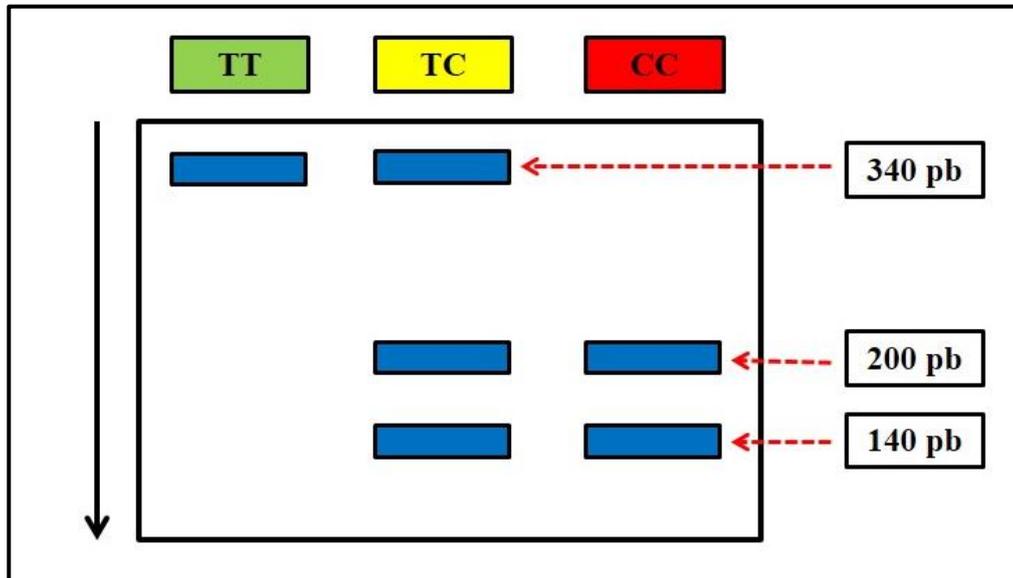


Figure 04. Représentation schématique du résultat de l'analyse par RFLP du polymorphisme T3801C du *CYP1A1* sur un fragment de PCR digéré par *HpaII*.

4. Analyse statistique

Dans ce travail de recherche, nous avons effectué une étude statistique visant à prospecter l'association entre le polymorphisme T3801C du gène *CYP1A1* et la survenue de deux types d'hémopathies malignes ; les leucémies aiguës myéloïdes (LAM) et lymphoïdes (LAL). Nous avons procédé à une étude transversale de type cas-témoins pour chercher à déceler une différence de distribution d'un variant génétique entre une population de cas (patients LAM et/ou LAL), constituée d'individus diagnostiqués avec l'hémopathie en question, et une population composée de témoins, supposés sains, sélectionnés dans la population générale et qui ne sont *a priori* pas porteurs du type de l'hémopathie étudié. L'objectif de cette étude était de vérifier, sur un « échantillon aussi représentatif que possible » de la population algérienne, des données publiées dans la littérature qui associent ou non le polymorphisme étudié, supposé délétère, à un risque accru de développer une leucémie aiguë de type myéloïde ou lymphoïde.

Préalablement à toute analyse statistique de type cas-témoins, il est nécessaire de réaliser une évaluation de l'équilibre de *Hardy-Weinberg* pour éviter de possibles erreurs dues à un biais de génotypage ou de sélection. Pour vérifier qu'une population est en équilibre d'*Hardy-Weinberg*, l'utilisation du test du χ^2 standard est préconisée. Cependant, cette évaluation classique du χ^2 est possible uniquement lorsque les effectifs sont supérieurs à 5. Dans le cas contraire, il est nécessaire d'utiliser le χ^2 corrigé avec la correction de *Fisher*, valable lorsque la représentativité d'un génotype est inférieure à 3. Cela a été fait en utilisant une macro Excel (Microsoft Office® 2010) téléchargée sur le site : <http://www.anastats.fr/outils.php>. Si le degré de significativité (*p-value*) indiqué est $< 0,05$, cela permet de conclure que notre population d'étude n'est pas en équilibre d'*Hardy-Weinberg*. Cette valeur a été déterminée pour les cohortes de témoins et de celle des femmes OPK enrôlées dans cette étude.

L'analyse statistique réalisée par l'utilisation du test du χ^2 , aussi appelé test de *Pearson*, est basée sur le calcul de l'Odds Ratio (OR) et la valeur *p* dans le but de déterminer s'il existe une association significative entre le polymorphisme et le dysfonctionnement étudié. Les calculs ont été faits en utilisant le logiciel EPI-info 7.0™ ; logiciel de statistiques appliquées à l'épidémiologie disponible en accès et téléchargement gratuit à l'adresse : <http://www.epiconcept.fr>.

Pour le calcul de l'OR nous avons établi un tableau de contingence. Il est présenté sous la forme d'un tableau croisé 2x2. Le statut malade/non malade des sujets de l'étude est présenté en colonne et le caractère exposé/non exposé en ligne. L'OR = (a/b)/(c/d). L'Intervalle de Confiance (IC) fixé est de 95 % (ou 0,95) (tableau IV).

Tableau IV. Tableau de contingence croisé type pour une étude cas-témoins.

	Patients	Témoins	Total
Exposés (Présence du facteur présumé de risque de la maladie)	a	b	a + b
Non-exposés (Absence du facteur présumé de risque de la maladie)	c	d	c + d
Total	a + c	b + d	a + b + c + d

Pour la valeur p , le seuil critique que nous avons fixé est de 0,05 (vu que la valeur de l'IC pour l'OR est de 95 %). Si la valeur de p calculée est inférieure à ce seuil fixé, la différence entre les paramètres est déclarée statistiquement significative.

Afin d'évaluer toutes les contributions possibles de l'allèle muté C dans la survenue des leucémies aiguës, nous avons analysé différents effets possibles de l'allèle muté sur notre population de patients en comparaison avec la cohorte des témoins (tableau V).

Tableau V. Modèles de comparaison utilisés pour notre étude cas-témoins.

Modèle de comparaison	Fréquences comparées
Modèle dominant	TT <i>versus</i> TC+CC
Modèle récessif	CC <i>versus</i> TC+TT
Modèle homozygote	CC <i>versus</i> TT
Modèle hétérozygote	CC <i>versus</i> TC
Modèle allélique	C <i>versus</i> T

II. Étude génétique par méta-analyse

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, Science Direct, Google scholars, 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'effet 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 l'étude de l'effet du polymorphisme T3801C (*rs4646903*) de la région 3' non codante du gène *CYP1A1* (OMIM : 108330) dont l'implication dans la survenue des hémopathies malignes en général, et des leucémies aiguës (LAM et LAL) en particulier, a été prospectée dans de nombreuses études, qui rapportent d'ailleurs des résultats contradictoires, indiquant une présence ou absence d'association statistiquement significative. Ce polymorphisme a fait également l'objet de plusieurs études par notre équipe du laboratoire de recherche Biologie Moléculaire et Cellulaire (BMC) pour leurs implications probables et éventuelles 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 ce polymorphisme dans la population générale algérienne.

3. Réalisation de la méta-analyse

La procédure de réalisation de la méta-analyse que nous avons adoptée est conforme à celle décrite dans les recommandations PRISMA (Preferred Reporting Item for Systematic Review and Meta-Analysis). Celles-ci détaillent, en particulier, les étapes d'identification et de sélection des articles. Le diagramme de flux de PRISMA résume ces quatre phases :

- Identification des références après interrogation d'une ou plusieurs bases de données,
- Sélection des références basée sur la lecture du titre et du résumé après suppression des doublons lorsque plusieurs bases de données ont été consultées,
- Éligibilité des articles après lecture du texte intégral ;
- Inclusion des études (figure 05).

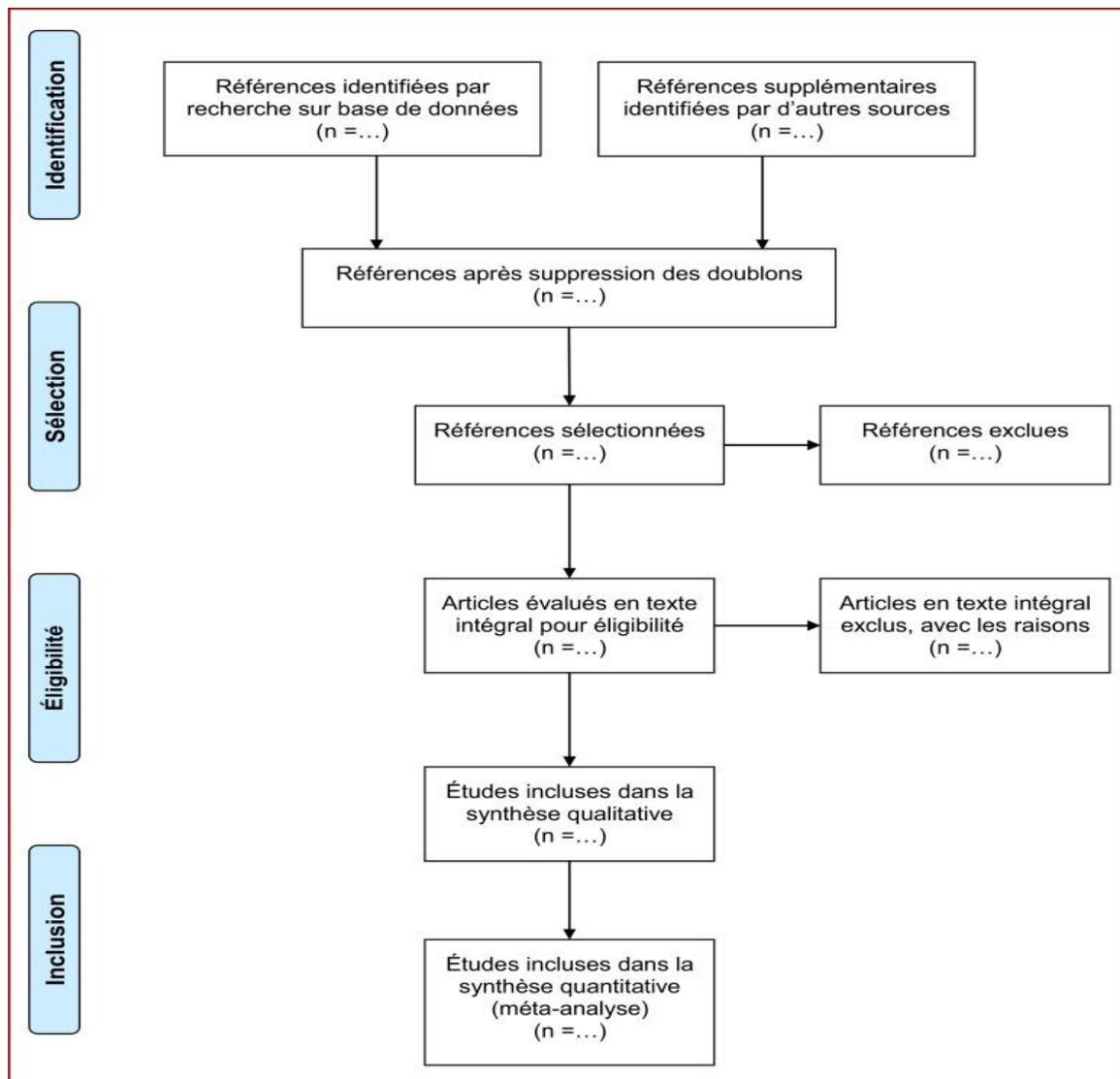


Figure 05. Modèle du diagramme de flux PRISMA pour la sélection des études incluses.

La sélection, l'éligibilité et l'inclusion dépendent des critères d'inclusion et d'exclusion fixés *a priori* selon la question de recherche.

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 30 mai 2022). 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 de ce polymorphisme d'intérêt sélectionné dans la survenue des leucémies aiguës. Nous avons procédé à une recherche exhaustive en utilisant les mots-clefs suivants :

- Acute Myeloid Leukemia ou AML, *CYP1A1*, T3801C.
- Acute Lymphoid Leukemia ou ALL, *CYP1A1*, T3801C.

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 et/ou une LAL.
- 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 d'inclusion et d'exclusion bien définis pour 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'OR et de la valeur *p*.

Ont été exclues :

- Les études sur la LAM et/ou LAL prospectant l'effet de polymorphismes autres que ceux sélectionnés dans notre étude, et ce même s'il s'agit de ceux du même gène : A2455G ou rs1048943 dans l'exon 7 (codon 462) conduit à la substitution Ile462Val, T3205C dans la région 3'non codante en amont du site de polyadénylation, C2453A ou rs1799814 dans l'exon 7 (codon 461) conduisant à la substitution Thr461Asn.
- Les études de pharmacogénétique prospectant l'effet des polymorphismes sélectionnés dans la réponse à une thérapeutique particulière de la LAM et/ou LAL.
- 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 et/ou LAL 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 de ces hémopathies. 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 identique à celui utilisé pour le volet moléculaire de cette étude.

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 prospector l'effet de l'allèle récessif (C) sous les sept modèles de comparaison génétique possibles :

- Le modèle allélique : C vs. T
- Le modèle récessif : CC vs. CT+TT
- Le modèle dominant : CC+CT vs. TT
- Le modèle codominant : CT vs. CC+TT
- Le modèle : CC vs. TT
- Le modèle : CC vs. CT
- Le modèle : CT vs. TT

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 inclus 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 06).

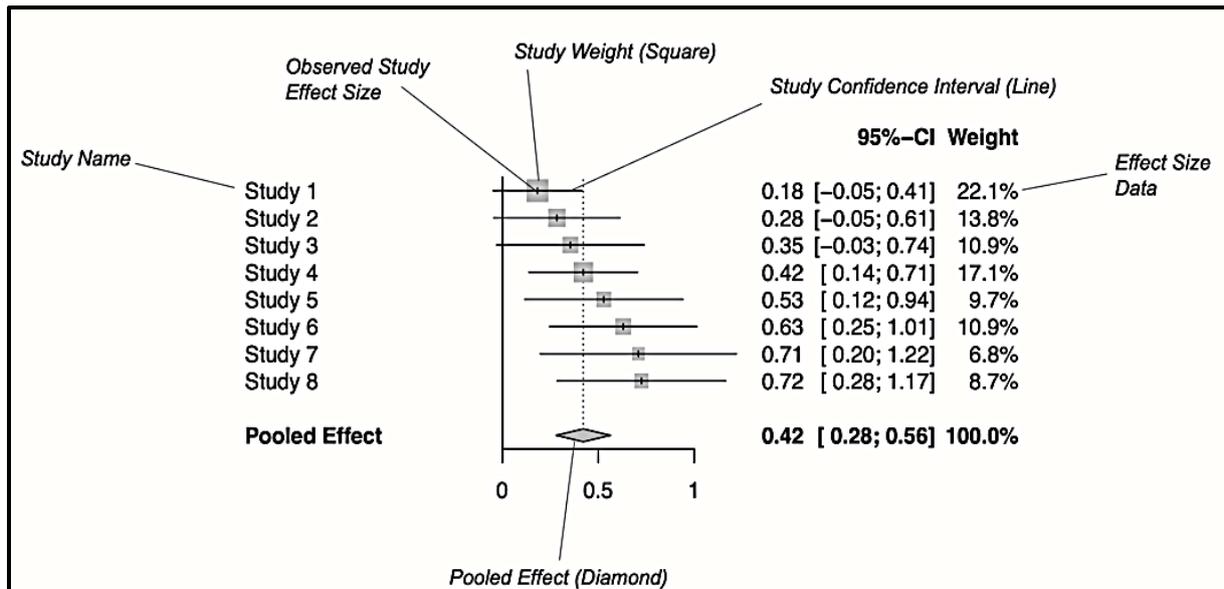


Figure 06. Modèle de représentation graphique en forêt (*forest plot*) (Boissel, 2007).

- **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 07).

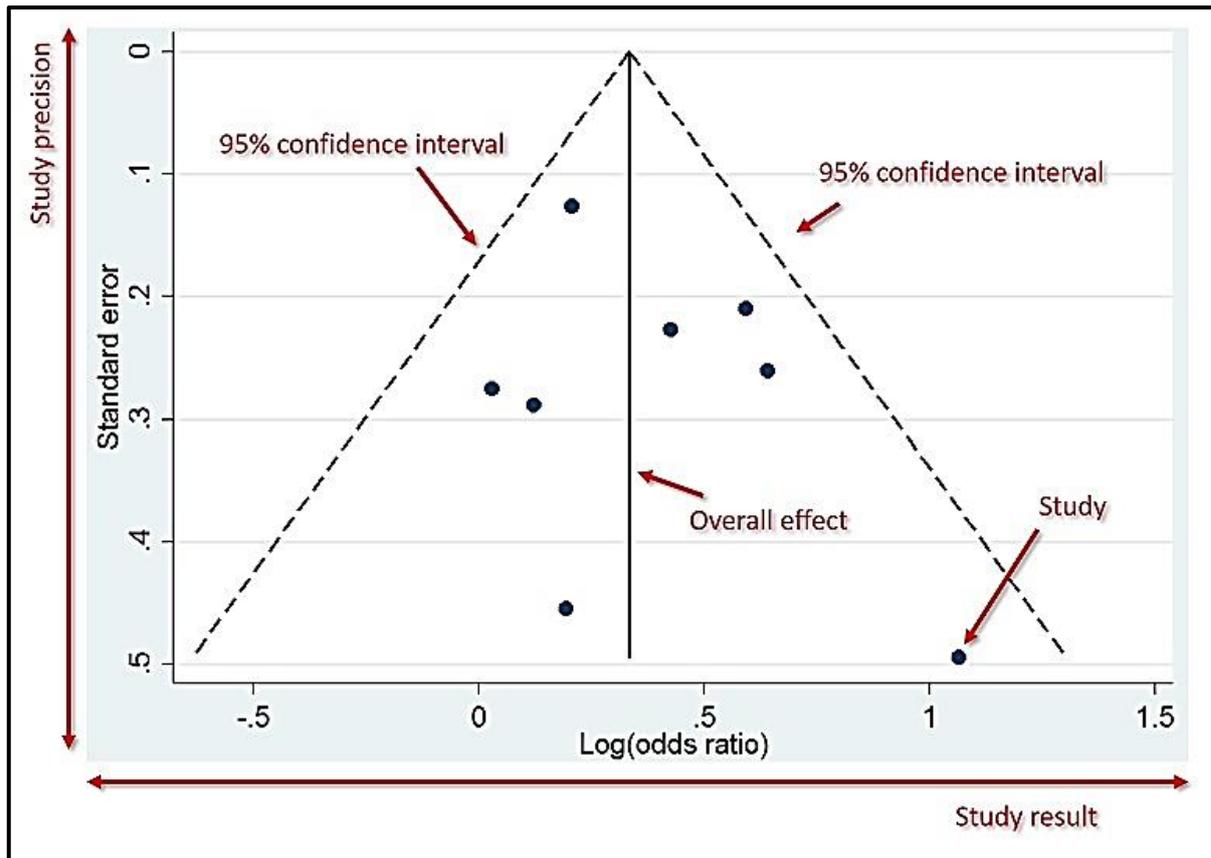


Figure 07. Modèle de représentation graphique en entonnoir (funnel plot) (Boissel, 2007).

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 sur la valeur de $p : < 0,05$ signifie qu'il y a de l'hétérogénéité.

**Résultats
et
discussion**

I. Étude moléculaire

Après extraction de l'ADN, réalisation d'une PCR classique, et avant de passer à l'étape de la digestion par une enzyme de restriction spécifique pour révéler les génotypes de nos patients, nous avons procédé à ce qu'on appelle une PCR de contrôle. Il s'agit de la mise en migration sur gel d'agarose des produits de PCR pour s'assurer que l'amplification s'est faite correctement. Le profil électrophorétique obtenu est présenté dans la photographie ci-dessous.

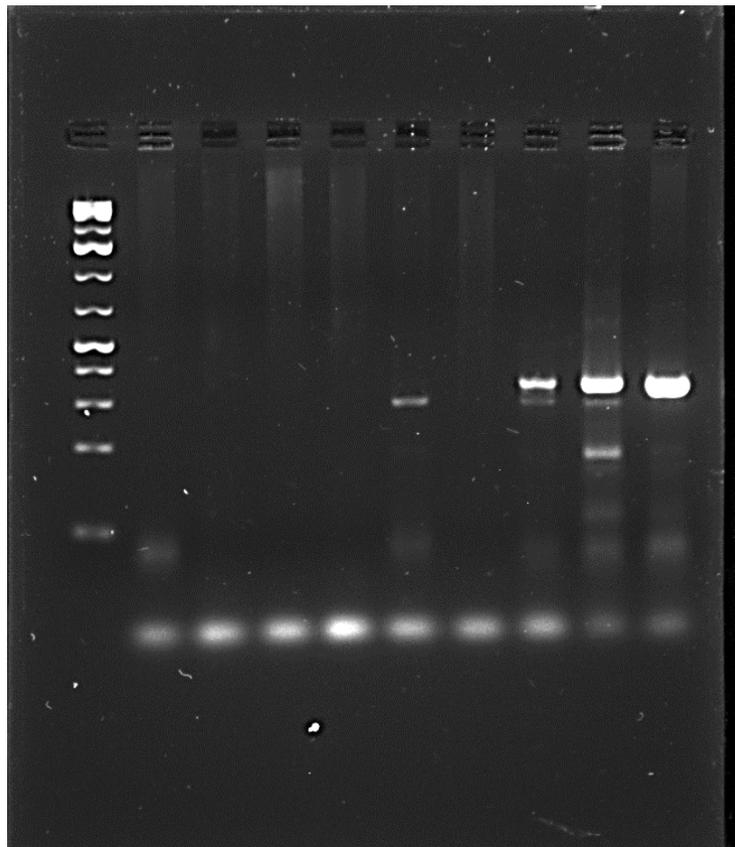


Figure 08. Profil d'électrophorèse de la PCR de contrôle.

Les fragments de 340 pb visualisables sur ce profil électrophorétique correspondent à la région 3' non codante, qui contient le polymorphisme d'intérêt, et qui a été amplifiée par une PCR classique en utilisant une paire d'amorces spécifiques. La réussite de la PCR se traduit par une bande nette. L'absence de bande dans la colonne du dépôt du prélèvement d'ADN correspond soit à une délétion partielle ou totale de la région d'intérêt soit à un problème technique : échec de l'amplification, problème de dépôt sur gel, ou plus probablement, d'un ADN dégradé. La PCR a été refaite pour les prélèvements avec un signal négatif.

Par la suite, nous avons soumis les produits de PCR à une digestion par une enzyme de restriction spécifique (*MspI*) pendant 5 heures à 37°C. Le profil électrophorétique obtenu pour trois de nos patients après digestion est présenté dans la photographie ci-dessous.



Figure 09. Profil d'électrophorèse des fragments amplifiés et digérés après migration.

M: marqueur TT : homozygote sauvage CC : homozygote muté TC : hétérozygote

Il est à signaler que nous avons soumis 11 prélèvements de patients atteints d'une leucémie aiguë à l'analyse génétique visant à révéler le polymorphisme T3801C du gène *CYP1A1*.

La lecture rigoureuse des profils électrophorétiques obtenus nous a permis d'établir les génotypes de nos 11 patients et de calculer les fréquences génotypiques et alléliques. Pour rappel, notre population de témoins (définie dans la partie patients et méthodes) provient d'une étude antérieure qui a été réalisée sur notre variant génique d'intérêt en association avec un autre dysfonctionnement (cancer broncho-pulmonaire). À propos, nous nous sommes contentés de relever les fréquences génotypiques et alléliques mentionnées dans l'étude. Les fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme T3801C du gène *CYP1A1* dans notre population d'étude sont détaillées dans le tableau ci-après (tableau VI).

Tableau VI. fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme T3801C du gène *CYP1A1* dans notre population d'étude.

SOPK					Témoins				
TT	TC	CC	T	C	TT	TC	CC	T	C
09 81,82%	02 18,18%	00 00,00%	20 90,91%	02 9,09%	71 84,52%	11 13,10%	02 02,38%	153 91,07%	15 08,93%
11 100%			22 100%		84 100%			168 100%	

La comparaison des fréquences génotypiques entre les deux cohortes de patients atteints d'une leucémie aiguë et de témoins a mis en exergue des similarités, mais aussi des variations notables. En effet, dans les deux cohortes, le génotype homozygote sauvage TT était le plus fréquent, arborant des proportions similaires, avec 81,82% chez les patients et 84,52% chez les témoins, suivi par l'hétérozygote TC avec une fréquence de 18,18% chez les patients et 13,10% chez les témoins. Une différence notable entre les deux séries consiste en l'absence totale du génotype homozygote muté (CC) dans la cohorte des patients, alors qu'il est présent chez les témoins à une fréquence de 02,38% (figure 10).

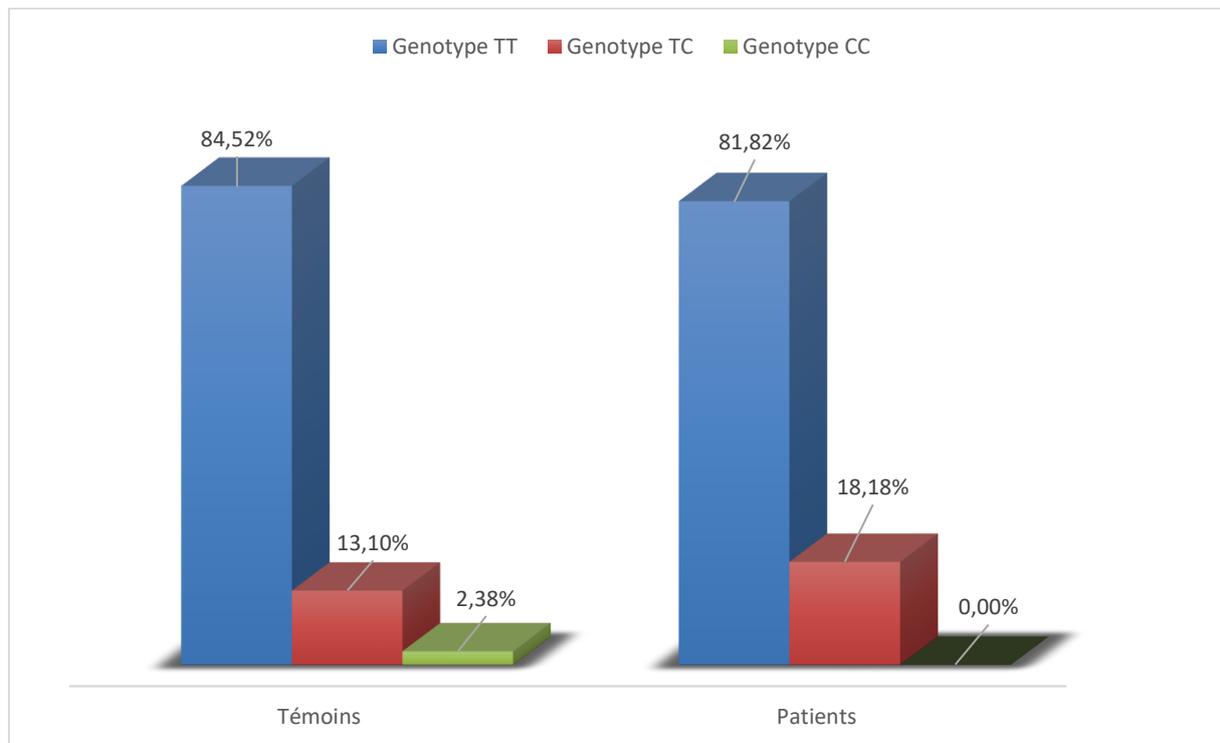


Figure 10. Fréquences génotypiques.

Pour les fréquences alléliques, les répartitions des allèles T et C dans nos deux séries étaient assez proches. En effet, dans les deux cohortes, l'allèle sauvage T était le plus fréquent, présent à une proportion de 90,91% et 91,07% chez les patients et les témoins respectivement. Quant à l'allèle C, le moins fréquent, il a été trouvé à une fréquence de 9,09% chez les patients et 8,93% chez les témoins (figure 11).

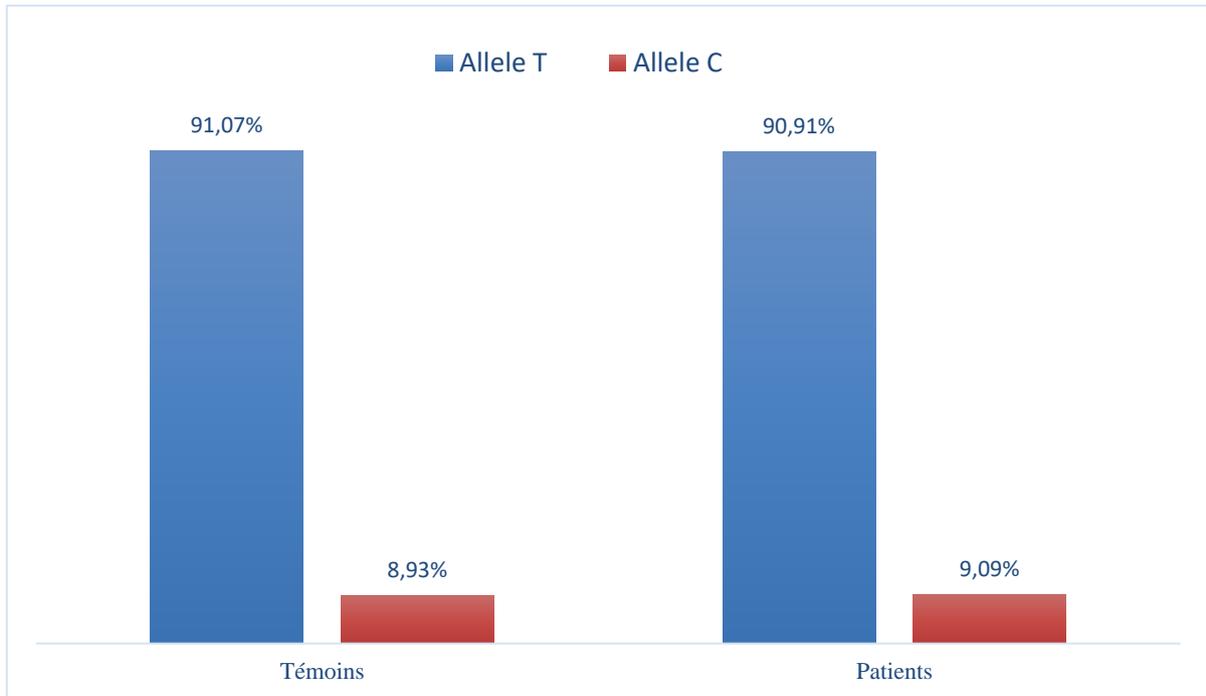


Figure 11. Fréquences alléliques.

Pour évaluer la signification réelle de cette hétérogénéité constatée surtout sur les fréquences génotypiques entre les deux cohortes, nous avons été amenés à réaliser une étude statistique de type cas-témoins. Cependant, avant de procéder à l'analyse statistique, nous avons soumis les valeurs de la distribution des différents génotypes dans la cohorte des patients au test visant à déterminer si une population d'étude est bien en équilibre de *Hardy-Weinberg*. Nous avons obtenu une *p-value* de 0.0742 ; valeur supérieure à 0,05 ce qui suggère que notre population est bien en équilibre. Cette observation conditionne la fiabilité des résultats obtenus à l'issue de cette étude.

L'analyse des résultats du génotypage du gène *CYP1A1* pour le polymorphisme étudié selon les quatre modèles de comparaison génétique utilisés n'a révélé aucune différence statistiquement significative dans la distribution des génotypes entre patients et témoins. En effet, pour les quatre modèles de comparaison ; dominant (TT vs TC + CC), hétérozygote (TC vs TT + CC) ; récessif (CC vs TC + TT) et allélique (T vs C), toutes les valeurs de *p* obtenues étaient respectivement de 0.743, 0.516, 0.746 et 0.971 ; toutes supérieures au seuil de significativité de 0,05 ce qui indique l'absence d'association statistiquement significative entre le variant génique et pathologie étudiée dans notre série (tableau VII).

Tableau VII. Résultats de l'analyse statistique de l'effet du polymorphisme T3801C du gène *CYP1A1* établi par le test du χ^2 .

	Témoins		Patients		OR (IC 95%)	<i>p value</i>
	%	n	%	n		
TT vs TC + CC (Modèle dominant)	84,52%	71	81,82%	09	1.2137 [0.3800; 3.8765]	0.743
CT vs TT + CC (Modèle hétérozygote)	13,10%	11	18,18%	02	1.4747 [0.4566; 4.7634]	0.516
CC vs TC + TT (Modèle récessif)	02,38%	02	00,00	00	1.4348 [0.1604; 12.8317]	0.746
Allèle T	91,07%	153	90,91%	20	1.0200 [0.3415; 3.0462]	0.971
Allèle C	08,93%	15	9,09%	02		

Selon les résultats obtenus dans notre étude, les patients leucémiques algériens sélectionnés et inclus dans notre population d'étude, et qui ont l'allèle C, ne sont pas plus exposés au risque de développer une leucémie aiguë par rapport à ceux qui présentent le génotype TT et à un moindre niveau TC, et l'allèle C, muté, supposé délétère, ne peut être considéré comme un facteur de risque, par rapport à l'allèle T, sauvage, du moins dans la population étudiée.

Ces conclusions qui ont été formulées après la réalisation de la présente étude ont été tirées après le génotypage et la comparaison des résultats pour le polymorphisme T3801C du gène *CYP1A1* entre une série assez réduite composée de 11 patients atteints d'une leucémie aiguë et une série plus ou moins conséquente de témoins sains composée de 84 individus sains. De plus, l'un des génotypes, l'homozygote récessif CC est totalement absent chez les patients. Néanmoins, notre population d'étude est en équilibre de *HWE* comme l'indique le test correspondant qui nous a permis de calculer la valeur correspondante.

Pour précision, notre série de 11 patients est composée de 8 individus atteints de LAM et 3 de LAL. Tous les patients LAL présentent le génotype homozygote sauvage TT, alors que pour les patients avec LAM, 6 sont homozygotes TT et deux sont hétérozygotes. Malheureusement, l'effectif extrêmement réduit de nos patients pour chaque de type de leucémie aiguë ne nous permet pas faire une analyse statistique comparative de l'effet du polymorphisme étudié sur le risque de survenue de chaque type de leucémie aiguë pris séparément. Des études menées séparément sur chacune de ces entités pathologiques sont à envisager.

Même si les données obtenues suggèrent que le polymorphisme T3801C du gène *CYP1A1* ne joue aucun rôle dans le risque de développer une leucémie aiguë et que les porteurs du génotype hétérozygote TC ou homozygote CC ne présentent aucun risque significativement accru par rapport à ceux qui portent le génotype homozygote TT, et face à l'effectif extrêmement réduit de la cohorte des patients (11 cas), ces résultats ne nous permettent pas de tirer des conclusions claires et définitives quant au degré d'incrimination du polymorphisme étudié dans genèse d'une leucémie aiguë chez les patients issus de l'Est algérien.

II. Méta-analyse

II.1. Sélection des études

Afin d'apporter une contribution à la précision de l'implication du polymorphisme T3801C (*rs4646903*) de la région 3' non codante, connu également sous la désignation de l'allèle m1, du gène *CYP1A1* (OMIM : 108330), comme facteur de risque impliqué dans la survenue des leucémies aiguës (LAM et LAL), nous avons été amenés à réaliser une revue systématique de type méta-analyse.

Notre méta-analyse a été construite selon les recommandations PRISMA. Il s'agit d'une liste de contrôle comprenant 27 critères indiquant comment chaque critère doit être documenté. Cette liste permet aux auteurs de méta-analyses de documenter leur travail de manière transparente. Les éditeurs de journaux demandent de plus en plus aux auteurs de tenir compte de ces critères avant soumission de leur revue pour publication.

Basés sur les critères de recherche et d'éligibilité (inclusion et exclusion) mentionnés dans la partie patients et méthode, nous avons établi en premier un Diagramme de flux qui fournit de manière standardisée un aperçu graphique des résultats de la recherche effectuée dans le cadre d'une revue systématique. Il documente le nombre d'articles qui ont été identifiés, combien ont finalement été inclus dans la méta-analyse et toutes les étapes intermédiaires (figure 12).

L'interrogation des bases de données en utilisant les mots clefs sélectionnés (Acute Myeloid Leukemia ou AML, CYP1A1, T3801C - Acute Lymphoid Leukemia ou ALL, CYP1A1, T3801C.) nous a permis l'identification de 123 articles dans la base de données Google Scholar et 72 articles dans la base de données PubMed. Après avoir éliminé les doublons, nous sommes arrivés à 68 articles. Par la suite nous avons exclu les résultats non pertinents pour arriver un total de 59 articles qui ont été lus. D'emblée, 18 articles ont été rejetés sur la base du titre de la publication. Au final, 41 articles ont été soumis à nos critères d'éligibilité. Nous en avons exclu 22 pour plusieurs raisons :

- Études sur la thématique, mais qui ne sont pas construites sur le modèle cas-témoins (n = 05),
- Impossibilité d'avoir le texte intégral de la publication (n = 03),
- Absence de données exploitables (fréquences génotypique et allélique) (n = 03),
- Données répétées ou superposées (n = 00),
- Études en pharmacogénétique en rapport avec le rôle du polymorphisme dans la sensibilité aux traitements (n = 11).

Au final, nous avons inclus un total de 19 études dans notre méta-analyse (figure 12).

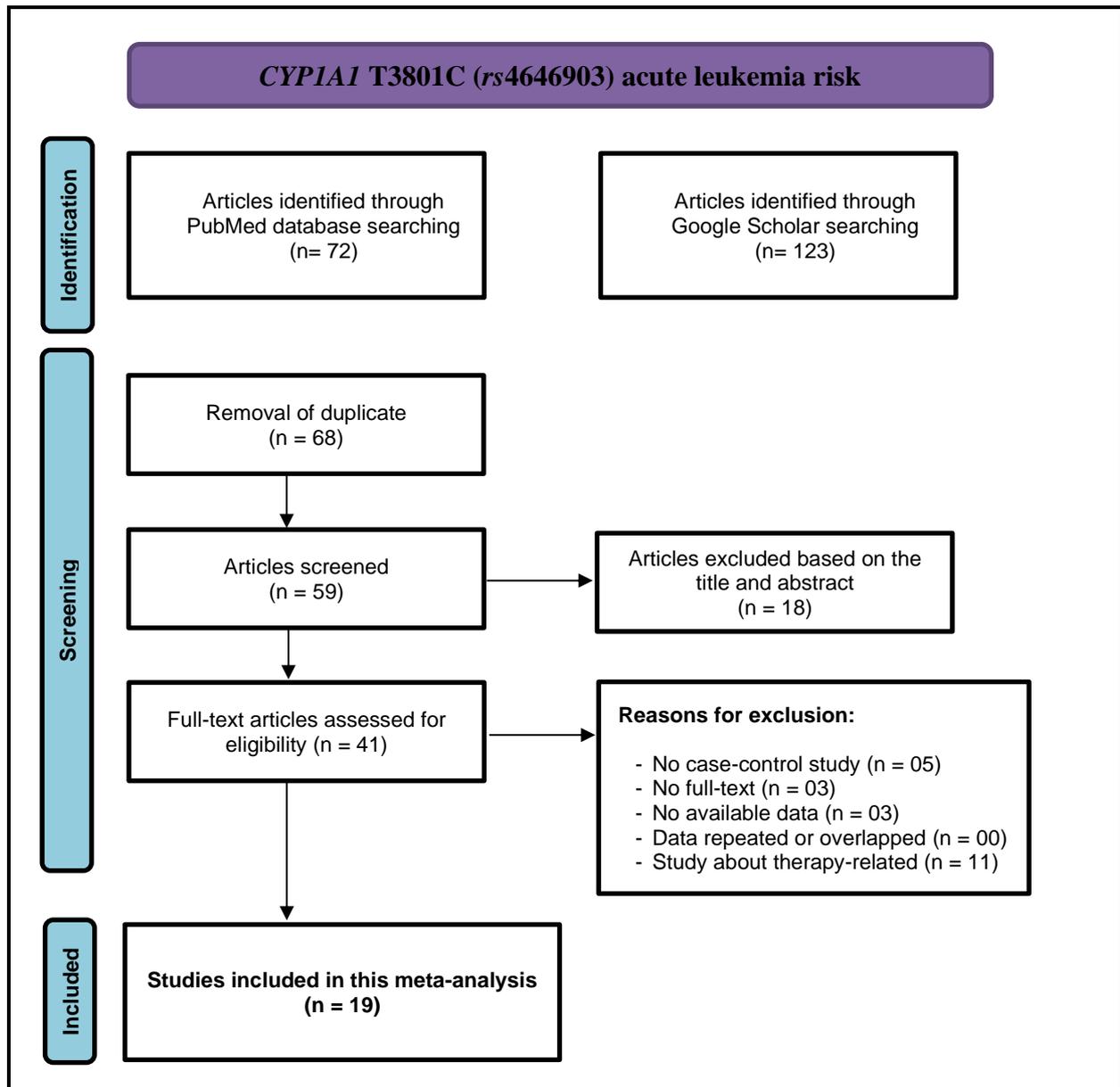


Figure 12. Diagramme de flux PRISMA pour la sélection des études incluses.

II.2. Caractéristiques des études incluses

Les caractéristiques détaillées des études incluses dans notre méta-analyse sont détaillées dans le tableau VIII. Les fréquences génotypiques et alléliques rapportées par ces études sont représentées graphiquement dans les figures 13 et 14.

Tableau VIII. Caractéristiques des études incluses dans la méta-analyse.

	Auteur et année de l' étude	Présence ou absence d' association	Pays	Type de leucémie aigüe (LAM ou LAL)	Patients										Témoins											
					Cohorte	TT	TT (%)	TC	TC (%)	CC	CC (%)	T	T (%)	C	C (%)	Cohorte	TT	TT (%)	TC	TC (%)	CC	CC (%)	T	T (%)	C	C (%)
1	Krajinovic et al., 1999	Oui	Canada	LAL	170	137	80,59	32	18,82	1	0,59	306	90,00	34	10,00	299	264	88,29	33	11,04	2	0,67	561	93,81	37	6,19
2	Balta et al., 2003	Oui	Turquie	LAL	26	20	76,92	6	23,08	0	0,00	46	88,46	6	11,54	145	103	71,03	35	24,14	7	4,83	241	83,10	49	16,90
3	D'Alo F et al., 2004	Oui	Italie	LAM	178	161	90,45	17	9,55	0	0,00	339	95,22	17	4,78	268	226	84,33	42	15,67	0	0,00	494	92,16	42	7,84
4	Canalle et al., 2004	Oui	Brésil	LAL	113	73	64,60	34	30,09	6	5,31	180	79,65	46	20,35	221	147	66,52	71	32,13	3	1,36	365	82,58	77	17,42
5	Joseph et al., 2004	Oui	Inde	LAL	118	9	7,63	41	34,75	68	57,63	59	25,00	177	75,00	73	2	2,74	22	30,14	49	67,12	26	17,81	120	82,19
6	Aydin-Sayitoglu et al., 2006	Non	Turquie	LAL	155	108	69,68	46	29,68	1	0,65	262	84,52	48	15,48	140	106	75,71	30	21,43	4	2,86	242	86,43	38	13,57
7	Aydin-Sayitoglu et al., 2006	Non	Turquie	LAM	94	65	69,15	24	25,53	5	5,32	154	81,91	34	18,09	140	106	75,71	30	21,43	4	2,86	242	86,43	38	13,57
8	Bolufer et al., 2007	Non	Espagne	LAL	170	430	97,07	13	2,93	0	0,00	873	98,53	13	1,47	106	368	81,06	84	18,50	2	0,44	820	90,31	88	9,69
9	Bolufer et al., 2007	Non	Espagne	LAM	170	412	93,00	31	7,00	0	0,00	855	96,50	31	3,50	106	368	81,06	84	18,50	2	0,44	820	90,31	88	9,69
10	Majumdar et al., 2008	Oui	Inde	LAM	110	41	37,27	39	35,45	30	27,27	121	55,00	99	45,00	126	66	52,38	51	40,48	9	7,14	183	72,62	69	27,38
11	Jiang et al., 2008	Oui	Chine	LAM	98	29	29,59	50	51,02	19	19,39	108	55,10	88	44,90	120	44	36,67	50	41,67	26	21,67	138	57,50	102	42,50
12	Yamaguti et al., 2010	Non	Brésil	LAL	99	61	61,62	35	35,35	3	3,03	157	79,29	41	20,71	99	66	66,67	27	27,27	6	6,06	159	80,30	39	19,70
13	Swinney et al., 2011	Oui	USA	LAL	222	137	61,71	20	9,01	65	29,28	294	66,22	150	33,78	529	315	59,55	35	6,62	179	33,84	665	62,85	393	37,15
14	Bonaventure et al., 2012	Oui	France	LAL	430	350	81,40	75	17,44	5	1,16	775	90,12	85	9,88	542	454	83,76	87	16,05	1	0,18	995	91,79	89	8,21
15	Kim et al., 2012	Oui	Chine	LAM	415	135	32,53	219	52,77	61	14,70	489	58,92	341	41,08	1700	636	37,41	801	47,12	263	15,47	2073	60,97	1327	39,03
16	Suneetha et al., 2011	Oui	Inde	LAL	91	9	9,89	43	47,25	39	42,86	61	33,52	121	66,48	150	17	11,33	65	43,33	68	45,33	99	33,00	201	67,00
17	Bonaventure et al., 2012	Oui	France	LAM	50	41	82,00	7	14,00	2	4,00	89	89,00	11	11,00	542	454	83,76	87	16,05	1	0,18	995	91,79	89	8,21
18	Ouerhani et al., 2013	Non	Tunisie	LAL	100	80	80,00	18	18,00	2	2,00	178	89,00	22	11,00	106	95	89,62	11	10,38	0	0,00	201	94,81	11	5,19
19	Agha et al., 2014	Oui	Égypte	LAL	186	166	89,25	17	9,14	3	1,61	349	93,82	23	6,18	200	180	90,00	18	9,00	2	1,00	378	94,50	22	5,50

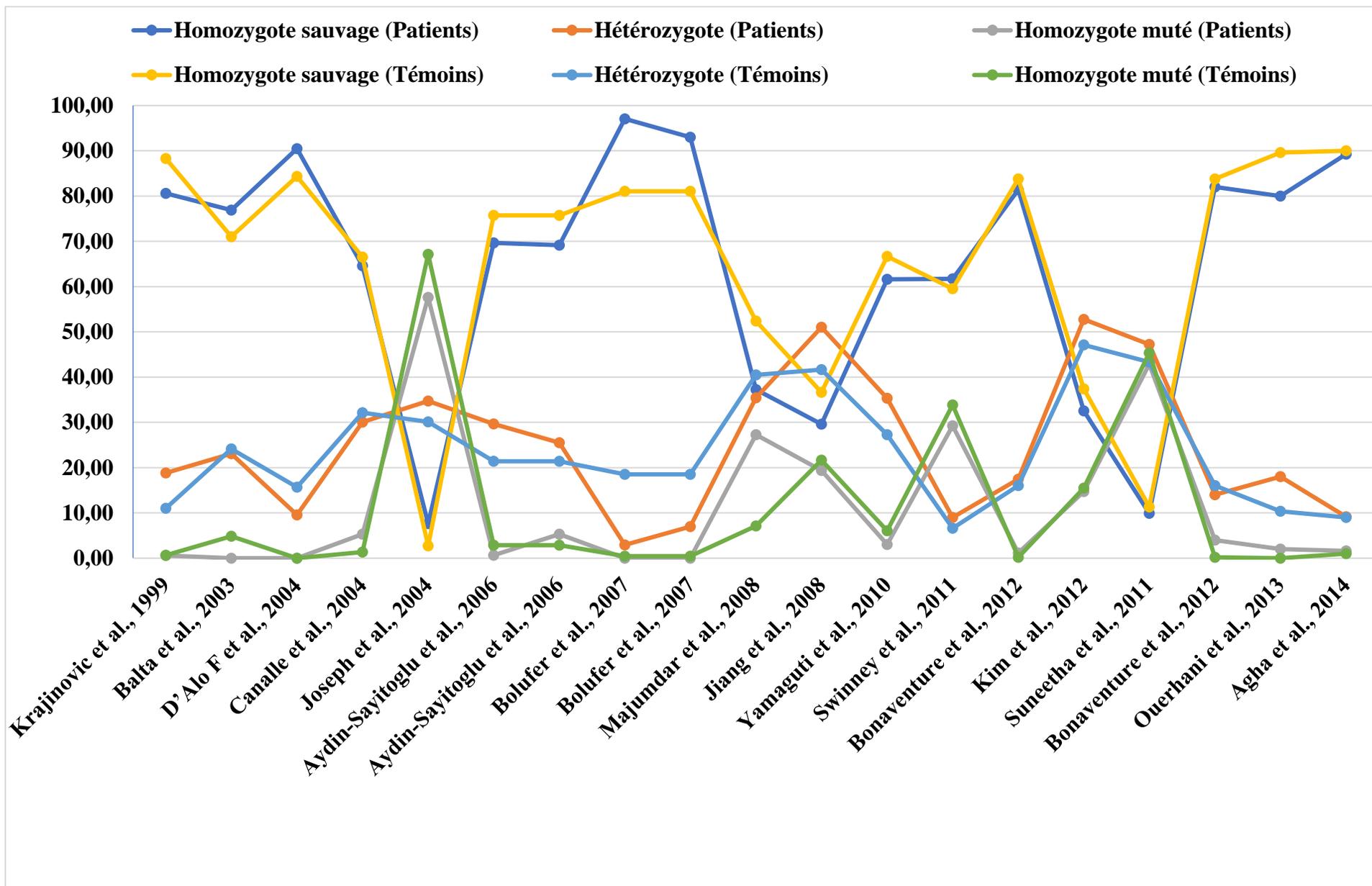


Figure 13. Représentation graphique des fréquences génotypiques indiquées dans les études incluses dans la méta-analyse.

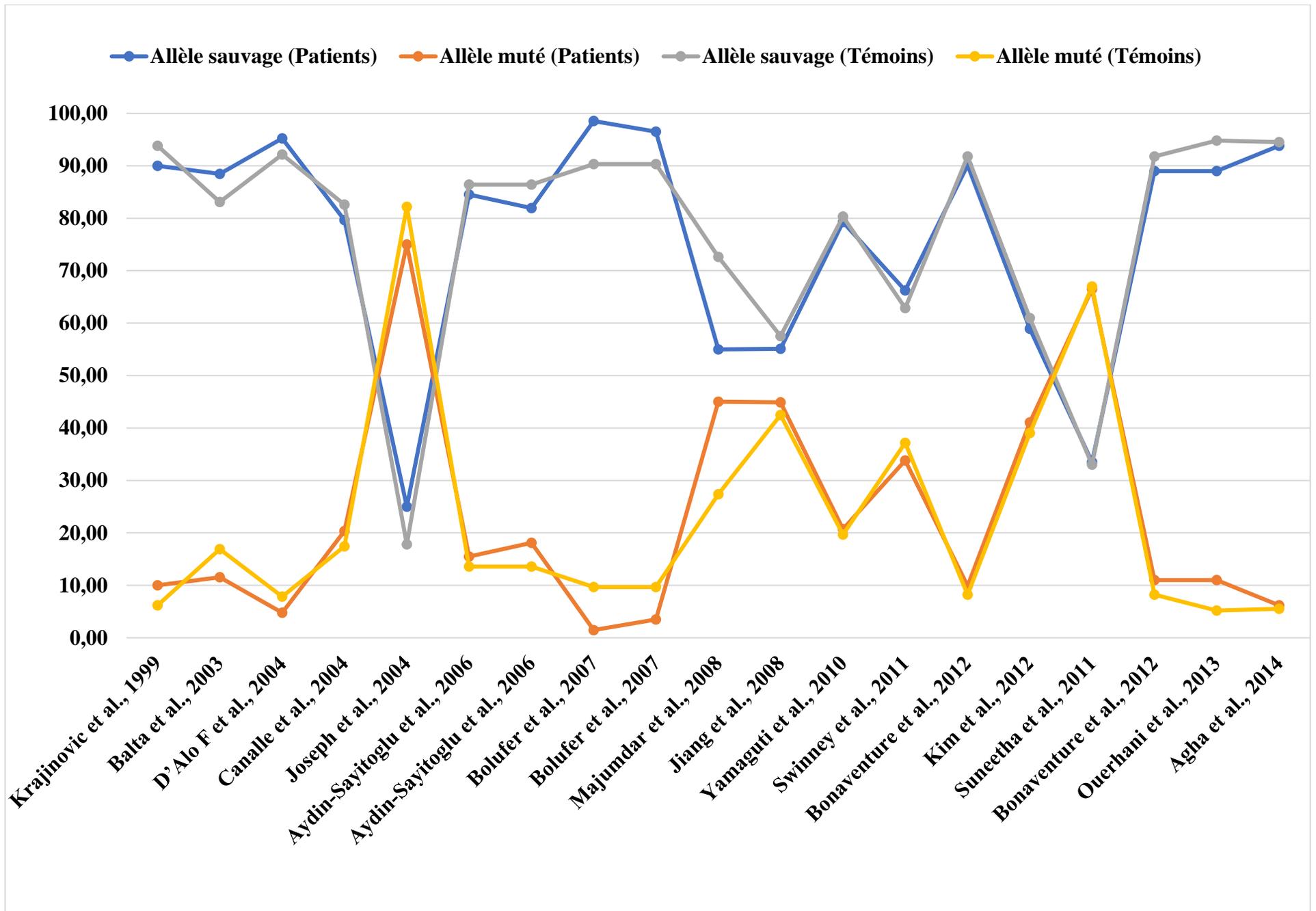


Figure 14. Représentation graphique des fréquences alléliques indiquées dans les études incluses dans la méta-analyse.

Les 19 études incluses dans notre méta-analyse sont toutes des études construites selon le modèle cas-témoins ayant prospecté l'implication du polymorphisme T3801C du gène *CYP1A1* comme facteur de risque impliqué dans la survenue des leucémies aiguës myéloïdes et/ou lymphoïdes : Krajinovic *et al.*, 1999 ; Balta *et al.*, 2003 ; D'Alo F *et al.*, 2004 ; Canalle *et al.*, 2004 ; Joseph *et al.*, 2004 ; Aydin-Sayitoglu *et al.*, 2006 ; Bolufer *et al.*, 2007 ; Majumdar *et al.*, 2008 ; Jiang *et al.*, 2008 ; Yamaguti *et al.*, 2010 ; Swinney *et al.*, 2011 ; Bonaventure *et al.*, 2012 ; Kim *et al.*, 2012 ; Suneetha *et al.*, 2011 ; Bonaventure *et al.*, 2012 ; Ouerhani *et al.*, 2013 ; Agha *et al.*, 2014. Il est à préciser que les études de Aydin-Sayitoglu *et al.*, 2006 ; Bolufer *et al.*, 2007 sont cités deux fois. En fait, chacun de ces deux auteurs a présenté une étude avec deux cohortes distinctes de patients leucémiques (LAL et LAM). Les études incluses ont été réalisées dans des pays différents (Brésil, Canada, Chine, Égypte, Espagne, France, Inde, Italie, Tunisie, Turquie et USA), et sur différentes ethnies (caucasiens, asiatiques et afro-américains). Parmi ces études, 07 ont été réalisées sur les LAM et 12 (36%) sur les LAL (64%).

Ces 19 études antérieures à la nôtre ayant prospecté l'association entre le polymorphisme T3801C du gène *CYP1A1* et le risque de survenue d'une leucémie aiguë ont rapporté des résultats assez contradictoires. Sur ces études, 13 d'entre elles ont rapporté une association positive et suggèrent que l'allèle C présent en une seule copie chez les hétérozygotes TC et en deux copies chez les homozygotes CC, constitue bien un facteur de risque du dysfonctionnement étudié (Krajinovic *et al.*, 1999 ; Balta *et al.*, 2003 ; D'Alo F *et al.*, 2004 ; Canalle *et al.*, 2004 ; Joseph *et al.*, 2004 ; Majumdar *et al.*, 2008 ; Jiang *et al.*, 2008 ; Swinney *et al.*, 2011 ; Bonaventure *et al.*, 2012 ; Kim *et al.*, 2012 ; Suneetha *et al.*, 2011 ; Bonaventure *et al.*, 2012 ; Agha *et al.*, 2014). Six études seulement, dont deux menées sur la population turque et deux sur la population espagnole, ont infirmé la présence d'une telle association et rapportent qu'il n'y a aucune différence statistiquement positive dans la distribution des fréquences génotypiques et alléliques entre les patients et les témoins saines (Aydin-Sayitoglu *et al.*, 2006 ; Bolufer *et al.*, 2007 ; Yamaguti *et al.*, 2010 ; Ouerhani *et al.*, 2013).

Il est à mentionner également que les auteurs de ces études ont utilisé diverses techniques de Biologie Moléculaire pour la révélation du polymorphisme d'intérêt. Pour la plupart, ces auteurs ont réalisé une PCR-RFLP (16 études), deux ont procédé à un séquençage Sanger, et un a réalisé une PCR-SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism).

Notre méta-analyse inclut un total de 2995 patients et 5612 témoins supposés sains en bonne santé apparente. Il est à signaler que la population des patients leucémiques se compose de 1115 patients atteints de LAM et 1880 patients atteints de LAL. Les fréquences génotypiques et alléliques additionnées des études incluses dans notre méta-analyse sont résumées dans les figures ci-dessous (figure 15 et 16).

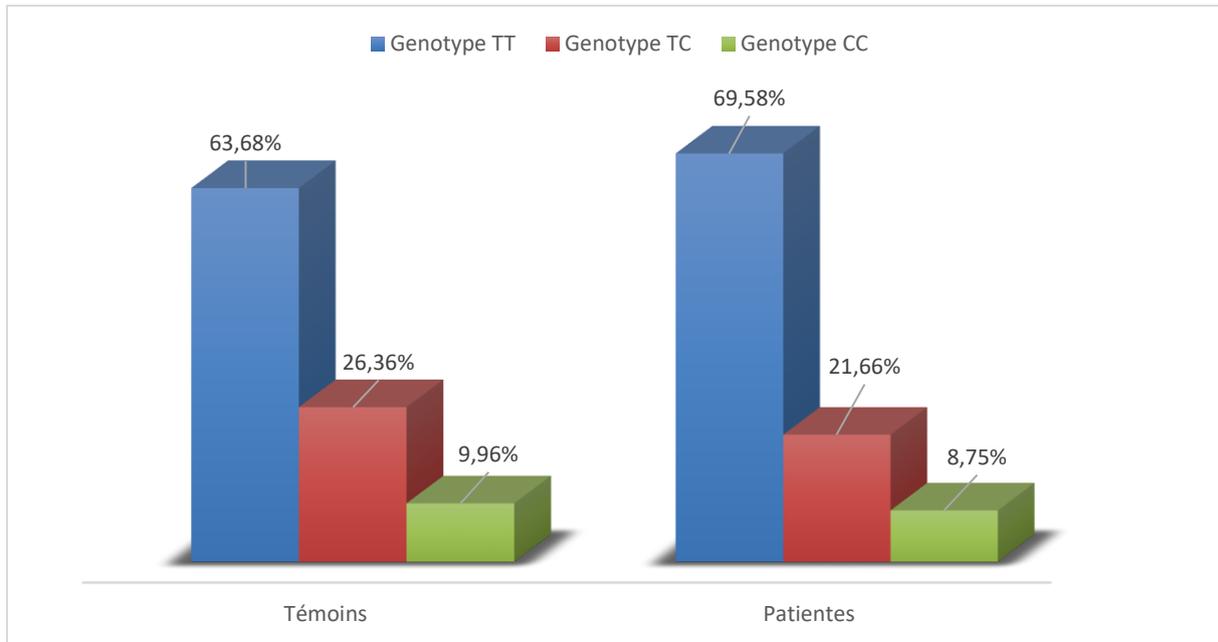


Figure 15. Fréquences génotypiques additionnées des études incluses dans notre méta-analyse.

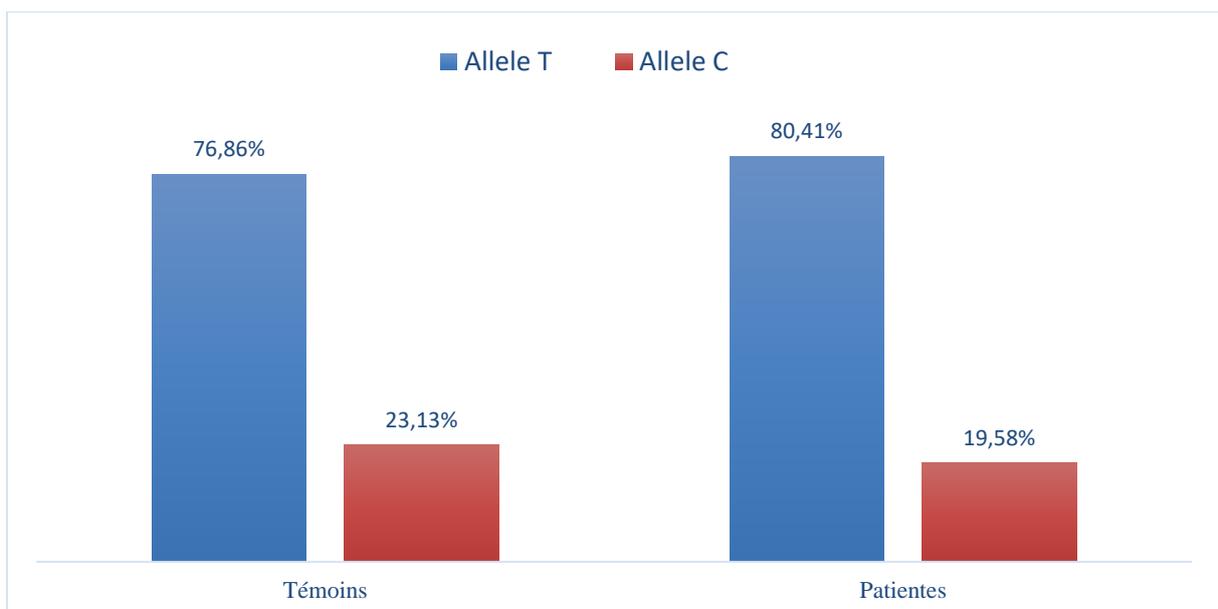


Figure 16. Fréquences alléliques additionnées des études incluses dans notre méta-analyse.

Les données correspondantes aux études incluses dans notre méta-analyse ont été introduites dans le logiciel utilisé à cette fin (CMA software 3.0).

II.3. Vérification et ajustement de l'équilibre de *Hardy-Weinberg*

Pour une méta-analyse d'études de type cas-témoins, il est d'usage de commencer par une vérification suivie d'un ajustement de l'équilibre de *Hardy-Weinberg*. Les résultats de cette opération sont indiqués dans le tableau ci-après. Il est à signaler que toutes les études incluses dans notre méta-analyse indiquent que les fréquences génotypiques rapportées dans leurs populations respectives de patients et de témoins étaient en équilibre de *HWE*. Néanmoins, nos calculs par le logiciel utilisé rapportent que les génotypes des deux cohortes de l'étude menée par Swinney *et al.*, 2011 ne sont pas en équilibre, car la valeur de *p* de l'équilibre de *HWE* ajusté était inférieure au seuil de significativité choisi fixé à 0,05.

Tableau IX. Calcul de l'équilibre de *Hardy-Weinberg* ajusté pour les études incluses dans la méta-analyse.

Auteur	Pays et Ethnie	TT Cas	TC Cas	CC Cas	TT Témoins	TC Témoins	CC Témoins	HW P value	HW-ajusté P value
Krajinovic <i>et al.</i>, 1999	Canada (Caucasienne)	137	32	1	264	33	2	0,3941	0,5348
Balta <i>et al.</i>, 2003	Turquie (Caucasienne)	20	6	0	103	35	7	0,0907	0,3539
D'Alo F <i>et al.</i>, 2004	Italie (Caucasienne)	161	17	0	226	42	0	0,164	0,3591
Canalle <i>et al.</i>, 2004	Brésil (Caucasienne)	73	34	6	147	71	3	0,083	0,3539
Joseph <i>et al.</i>, 2004	Inde (Asiatique)	9	41	68	2	22	49	0,8011	0,8415
Aydin-Sayitoglu <i>et al.</i>, 2006	Turquie (Caucasienne)	108	46	1	106	30	4	0,3057	0,4468
Aydin-Sayitoglu <i>et al.</i>, 2006	Turquie (Caucasienne)	65	24	5	106	30	4	0,3057	0,4468
Bolufer <i>et al.</i>, 2007	Espagne (Caucasienne)	430	13	0	368	84	2	0,2247	0,3881
Bolufer <i>et al.</i>, 2007	Espagne (Caucasienne)	412	31	0	368	84	2	0,2247	0,3881
Majumdar <i>et al.</i>, 2008	Inde (Asiatique)	41	39	30	66	51	9	0,8415	0,8415
Jiang <i>et al.</i>, 2008	Chine (Asiatique)	29	50	19	44	50	26	0,1062	0,3539
Yamaguti <i>et al.</i>, 2010	Brésil (Caucasienne)	61	35	3	66	27	6	0,1701	0,3591
Swinney <i>et al.</i>, 2011	USA (Caucasienne)	137	20	65	315	35	179	0,1272	0,000
Bonaventure <i>et al.</i>, 2012	France (Caucasienne)	350	75	5	454	87	1	0,1304	0,3539
Kim <i>et al.</i>, 2012	Chine (Asiatique)	135	219	61	636	801	263	0,6805	0,8081
Suneetha <i>et al.</i>, 2011	Inde (Asiatique)	9	43	39	17	65	68	0,806	0,8415
Bonaventure <i>et al.</i>, 2012	France (Caucasienne)	41	7	2	454	87	1	0,1304	0,3539
Ouerhani <i>et al.</i>, 2013	Tunisie (Caucasienne)	80	18	2	95	11	0	0,5731	0,7259
Agha <i>et al.</i>, 2014	Égypte (Caucasienne)	166	17	3	180	18	2	0,0577	0,3539

II.4. Analyse quantitative

Les principaux résultats de cette méta-analyse sont répertoriés dans le tableau X (résultats des tests d'association). Les diagrammes en forêt (Forest plot) des modèles de comparaisons de méta-analyses sont présentés aux figures 17, 18, 19, 20, 21, 22 et 23.

Tableau X. Résultats des tests d'association selon les différents modèles de comparaison.

Modèle		OR	95%-CI	p-value
Modèle allélique (C vs. T)	Fixed effect	1.0105	[0.9278; 1.1006]	0.8102431049
	Random effect	0.9620	[0.7646; 1.2103]	0.7408713824
Modèle récessif (CC vs. CT+TT)	Fixed effect	0.9820	[0.8247; 1.1692]	0.8380643108
	Random effect	1.1585	[0.8050; 1.6674]	0.4283505125
Modèle dominant (CC+CT vs. TT)	Fixed effect	1.0142	[0.9081; 1.1327]	0.8024421663
	Random effect	0.9662	[0.7299; 1.2791]	0.8103129971
Modèle hétérozygote (CT vs. CC+TT)	Fixed effect	1.0151	[0.9079; 1.1350]	0.7919752613
	Random effect	0.9724	[0.7415; 1.2752]	0.8395498594
CC vs. TT	Fixed effect	1.1155	[0.9135; 1.3621]	0.283591467
	Random effect	1.2915	[0.8496; 1.9633]	0.231322456
CC vs. CT	Fixed effect	0.9343	[0.7638; 1.1428]	0.5083338475
	Random effect	1.0845	[0.7412; 1.5869]	0.6760085922
CT vs. TT	Fixed effect	1.0113	[0.8974; 1.1398]	0.8533163563
	Random effect	0.9662	[0.7208; 1.2954]	0.818419288

- **Fixed effect:** méthode d'estimation à effet fixe : variance inverse.
- **Random effect:** Méthode d'estimation des effets aléatoires de DerSimonian-Laird.

Les résultats des tests d'association selon les différents modèles de comparaison, avec la méthode d'estimation à effet fixe ainsi que celle des effets aléatoires, ont mis évidence des associations non significatives avec des valeurs inférieures qui sont toutes supérieures au seuil de significativité fixé à 0,05. L'analyse des représentations graphiques en forêt confirme cette observation.

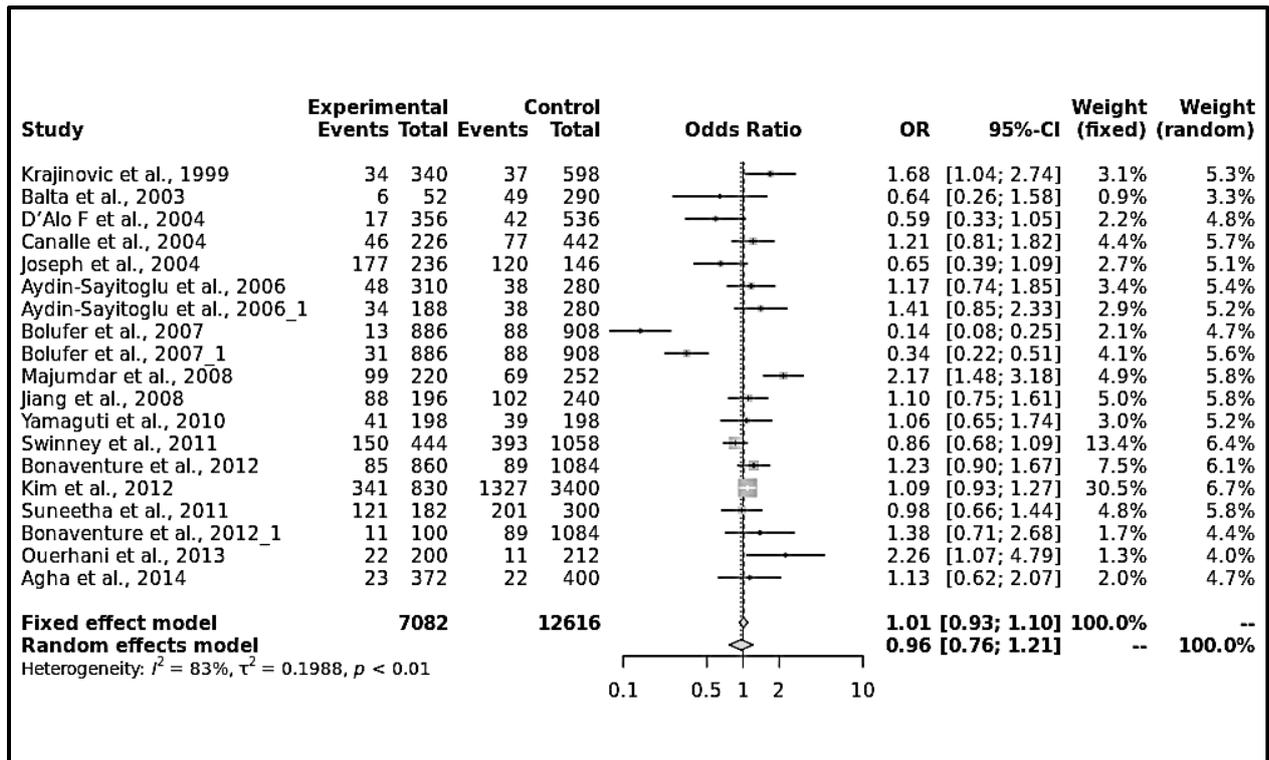


Figure 17. Graphique en forêt selon le modèle de comparaison allélique (C vs. T).

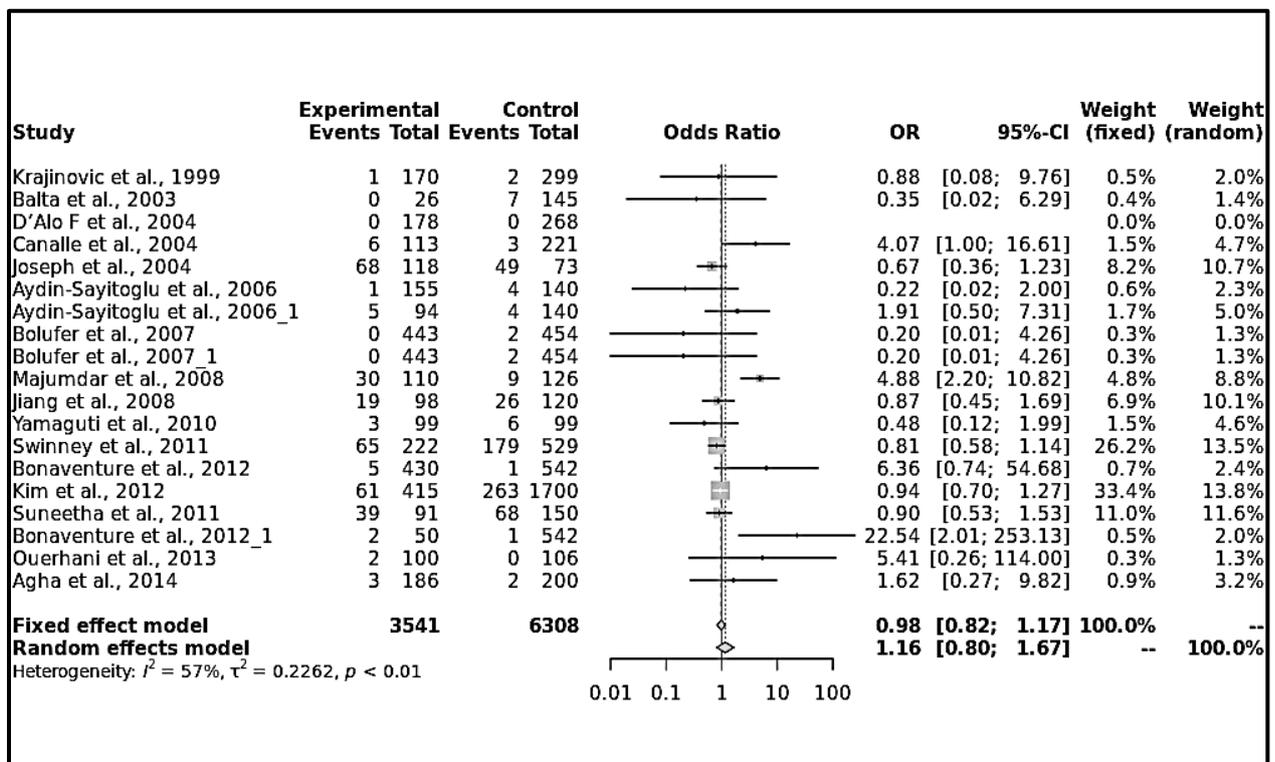


Figure 18. Graphique en forêt selon le modèle de comparaison récessif (CC vs. CT+TT).

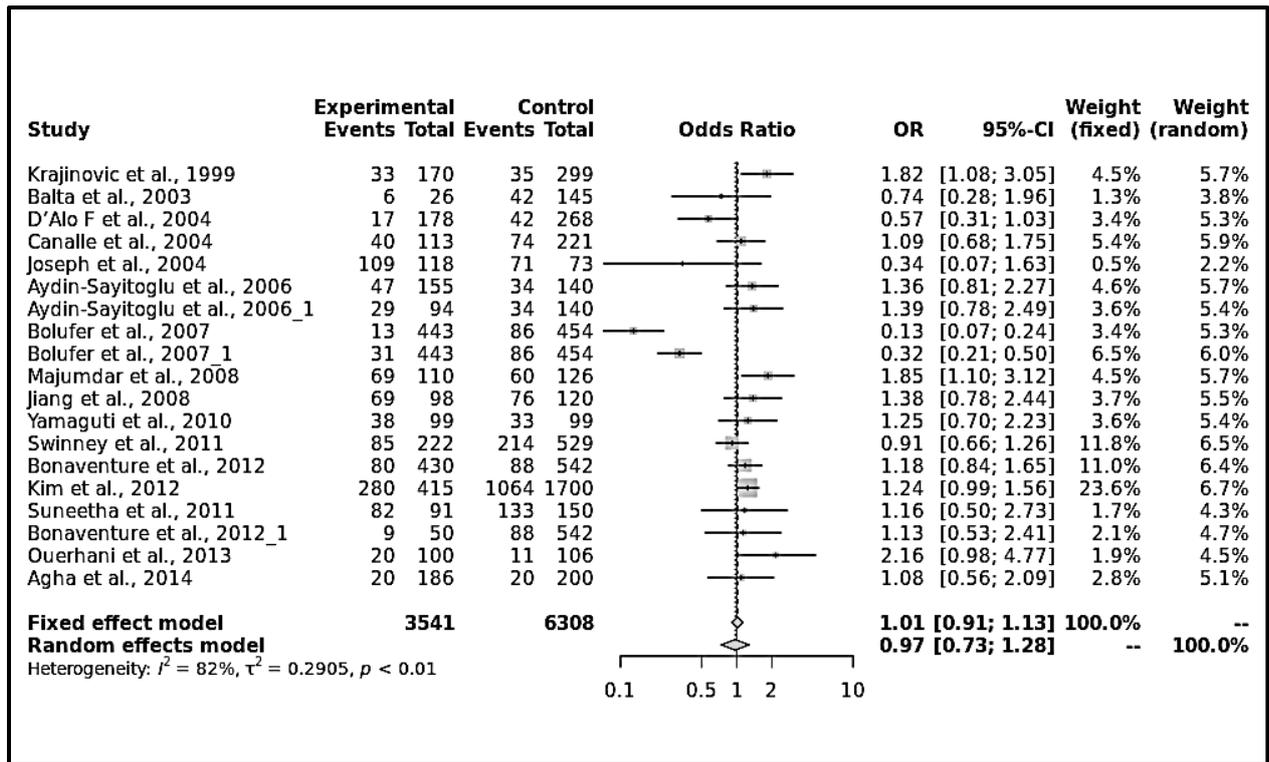


Figure 19. Graphique en forêt selon le modèle de comparaison dominant (CC+CT vs. TT).

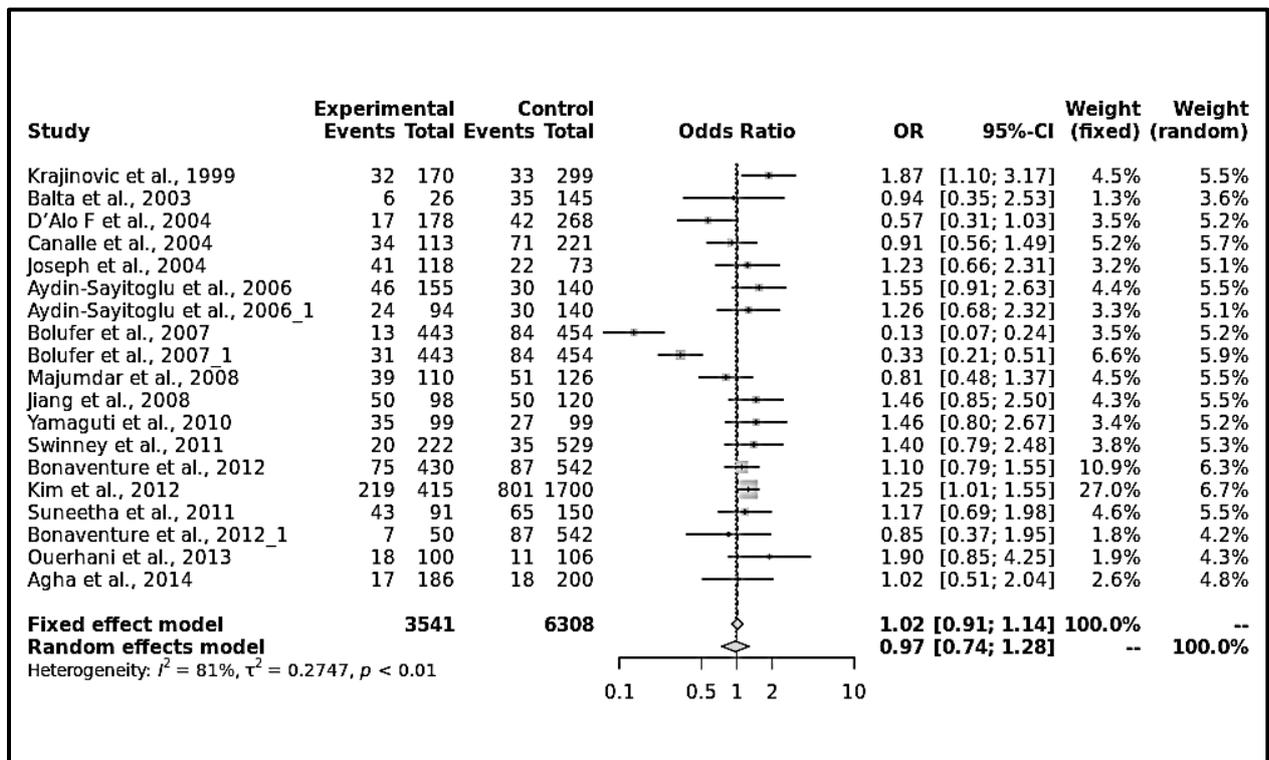


Figure 20. Graphique en forêt selon le modèle de comparaison co-dominant (CT vs. CC+TT).

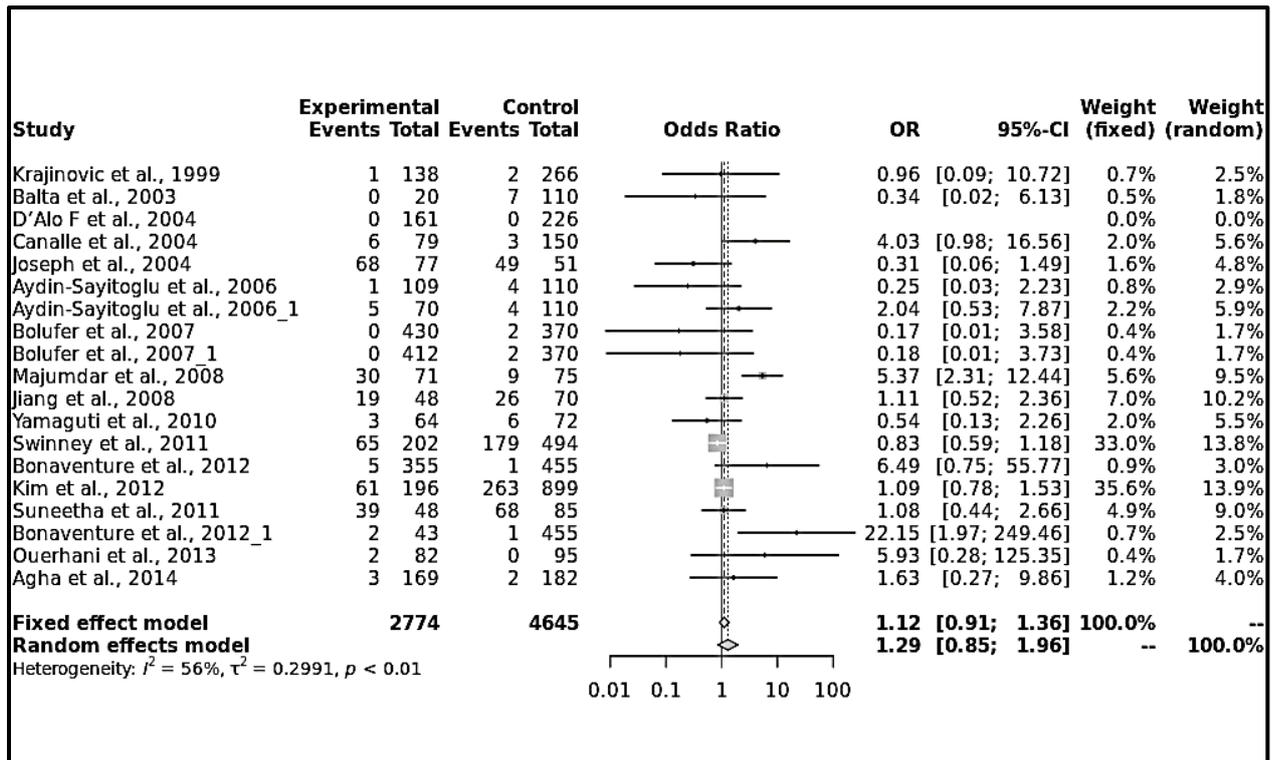


Figure 21. Graphique en forêt selon le modèle de comparaison CC vs. TT.

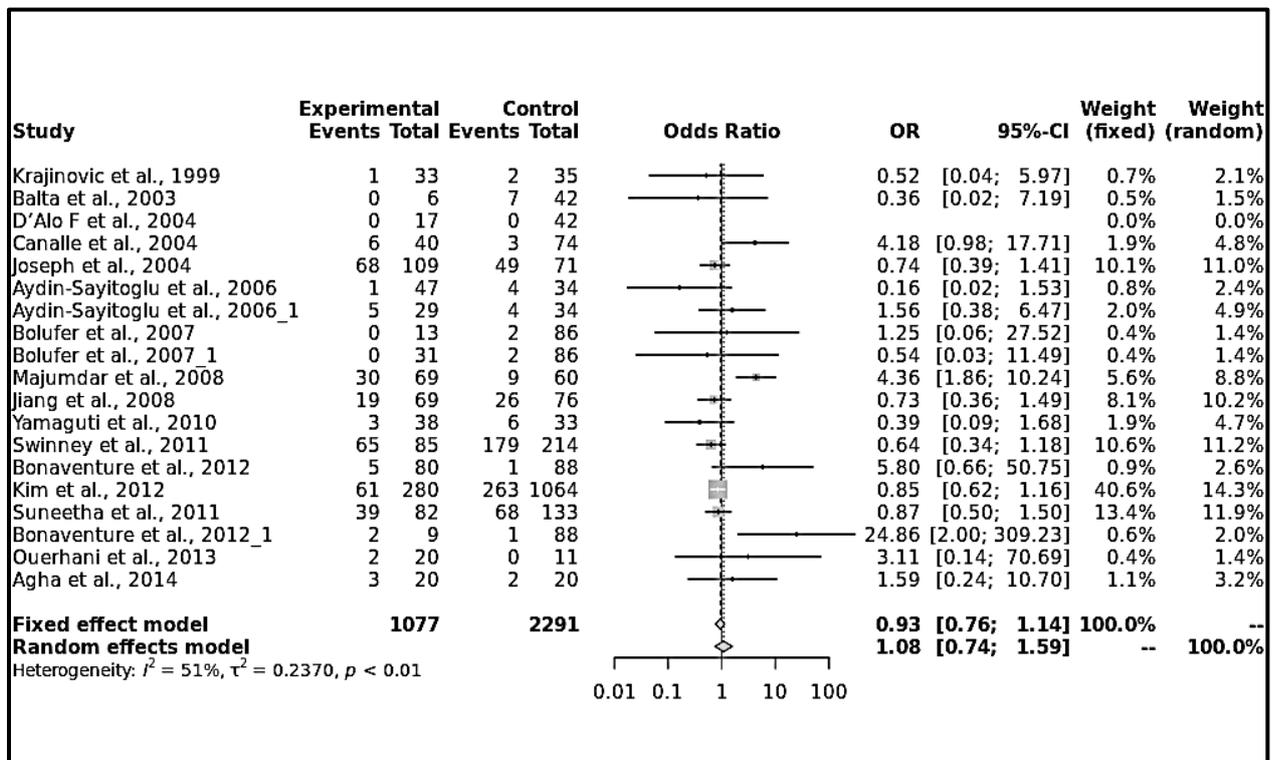


Figure 22. Graphique en forêt selon le modèle de comparaison CC vs. CT.

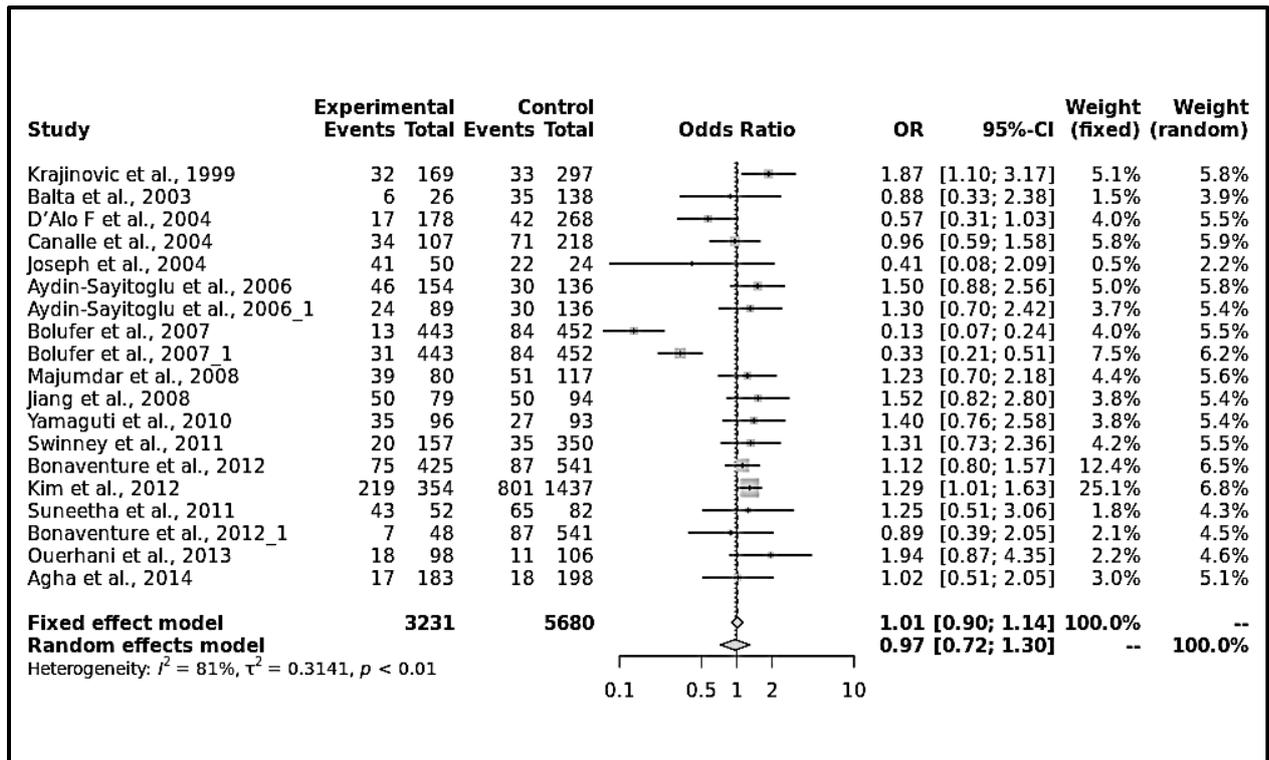


Figure 23. Graphique en forêt selon le modèle de comparaison CT vs. TT.

Nous avons par la suite, dans cette méta-analyse, essayé d'examiner l'effet de ce polymorphisme dans les LAL et les LAM pris séparément. Là encore, aucune différence statistiquement significative n'a été décelée, et ce selon les sept modèles de comparaison génétiques (tableau XI).

Tableau XI. Analyse statistique par sous-groupe de l'effet du type de leucémie (LAM vs LAL).

Modèle	Type de leucémie aiguë	Nombre d'études	Test d'association			Test d'hétérogénéité			Bias de publication
			OR	95% CI	p-value	Modèle	OR	95% CI	
Modèle allélique (C vs. T)	Overall	19	0,962	[0.7646; 1.2103]	0,740871	Random	0	0,8345	0,58
	ALL	12	0,9354	[0.6899; 1.2683]	0,667162	Random	0	0,8164	0,7782
	AML	7	1,0041	[0.6675; 1.5105]	0,984307	Random	0	0,8742	0,7938
Modèle récessif (CC vs. CT+TT)	Overall	18	1,1585	[0.8050; 1.6674]	0,428351	Random	0,0015	0,5709	0,3067
	ALL	12	0,8481	[0.6663; 1.0796]	0,180883	Fixed	0,2297	0,2176	0,5482
	AML	6	1,7345	[0.7765; 3.8745]	0,179266	Random	0,0004	0,7786	0,346
Modèle dominant (CC+CT vs. TT)	Overall	19	0,9662	[0.7299; 1.2791]	0,810313	Random	0	0,8199	0,5564
	ALL	12	0,9549	[0.6527; 1.3971]	0,812147	Random	0	0,8137	0,6635
	AML	7	0,9804	[0.6116; 1.5715]	0,934341	Random	0	0,8531	0,7489
Modèle hétérozygote (CT vs. CC+TT)	Overall	19	0,9724	[0.7415; 1.2752]	0,83955	Random	0	0,8072	0,5604
	ALL	12	1,0626	[0.7304; 1.5457]	0,751025	Random	0	0,8071	0,8981
	AML	7	0,8417	[0.5419; 1.3072]	0,442828	Random	0	0,8304	0,3918
CC vs. TT	Overall	18	1,2915	[0.8496; 1.9633]	0,231322	Random	0,002	0,5601	0,526
	ALL	12	0,8954	[0.6720; 1.1929]	0,450248	Fixed	0,1844	0,2646	0,7475
	AML	6	1,9494	[0.8771; 4.3330]	0,101408	Random	0,0017	0,7412	0,4105
CC vs. CT	Overall	18	1,0845	[0.7412; 1.5869]	0,676009	Random	0,007	0,5085	0,2331
	ALL	12	0,8198	[0.6022; 1.1162]	0,206981	Fixed	0,2655	0,1816	0,5111
	AML	6	1,6023	[0.7184; 3.5740]	0,249367	Random	0,0013	0,7494	0,2249
CT vs. TT	Overall	19	0,9662	[0.7208; 1.2954]	0,818419	Random	0	0,8074	0,5692
	ALL	12	1,0037	[0.6640; 1.5172]	0,985898	Random	0	0,8085	0,7148
	AML	7	0,9065	[0.5698; 1.4423]	0,678752	Random	0	0,8322	0,5968

Nous avons par la suite, dans cette méta-analyse, essayé d'examiner l'effet de ce l'origine ethnique, caucasienne et asiatique, pris séparément. Les résultats que nous avons obtenus sont mentionnés dans le tableau ci-dessous (**tableau XII**).

Tableau XII. Analyse statistique par sous-groupe de l'effet de l'origine ethnique (Asiatiques vs caucasiens).

Modèle	Ethnicité	Nombre d' études	Test d'association			Test d'hétérogénéité			Biais de publication
			OR	95% CI	p-value	Modèle	p-value	I ²	
Modèle allélique (C vs. T)	Overall	19	0,962	[0.7646; 1.2103]	0,740871	Random	0	0,8345	0,58
	Asian	5	1,1282	[0.8314; 1.5310]	0,438759	Random	0,0027	0,7542	0,9822
	Caucasian	14	0,9033	[0.6536; 1.2483]	0,537816	Random	0	0,8504	0,9035
Modèle récessif (CC vs. CT+TT)	Overall	18	1,1585	[0.8050; 1.6674]	0,428351	Random	0,0015	0,5709	0,3067
	Asian	5	1,1229	[0.6768; 1.8632]	0,653558	Random	0,0017	0,7692	0,4885
	Caucasian	13	1,2576	[0.6576; 2.4049]	0,488418	Random	0,0355	0,459	0,3452
Modèle dominant (CC+CT vs. TT)	Overall	19	0,9662	[0.7299; 1.2791]	0,810313	Random	0	0,8199	0,5564
	Asian	5	1,2937	[1.0703; 1.5637]	0,007767	Fixed	0,3024	0,1763	0,665
	Caucasian	14	0,8961	[0.6237; 1.2872]	0,552635	Random	0	0,8479	0,9884
Modèle hétérozygote (CT vs. CC+TT)	Overall	19	0,9724	[0.7415; 1.2752]	0,83955	Random	0	0,8072	0,5604
	Asian	5	1,2067	[1.0188; 1.4294]	0,029607	Fixed	0,5859	0	0,6239
	Caucasian	14	0,9082	[0.6164; 1.3381]	0,626123	Random	0	0,8442	0,8339
CC vs. TT	Overall	18	1,2915	[0.8496; 1.9633]	0,231322	Random	0,002	0,5601	0,526
	Asian	5	1,3093	[0.6682; 2.5653]	0,432297	Random	0,004	0,7399	0,8988
	Caucasian	13	1,2913	[0.6758; 2.4673]	0,439062	Random	0,0384	0,4527	0,3707
CC vs. CT	Overall	18	1,0845	[0.7412; 1.5869]	0,676009	Random	0,007	0,5085	0,2331
	Asian	5	1,0382	[0.6430; 1.6761]	0,878142	Random	0,0077	0,7118	0,4129
	Caucasian	13	1,2008	[0.6075; 2.3735]	0,598732	Random	0,0551	0,42	0,2511
CT vs. TT	Overall	19	0,9662	[0.7208; 1.2954]	0,818419	Random	0	0,8074	0,5692
	Asian	5	1,2792	[1.0472; 1.5626]	0,015872	Fixed	0,7007	0	0,3714
	Caucasian	14	0,9069	[0.6152; 1.3371]	0,621919	Random	0	0,8434	0,838

L'analyse des données obtenues par le logiciel utilisé pour la réalisation de cette méta-analyse a révélé plusieurs associations positives suggérant que l'allèle C peut constituer un facteur de risque dans la genèse des leucémies aiguës chez les Asiatiques. En effet, en incluant exclusivement les cinq études menées chez les Asiatiques, nous avons constaté des valeurs de *p* inférieures au seuil de significativité fixé à 0,05.

Nous avons relevé selon le modèle dominant (CC+CT vs. TT), le modèle hétérozygote (CT vs. CC+TT), ainsi que le modèle de comparaison CT vs. TT des valeurs de p qui étaient respectivement de 0,007767, 0,029607 et 0,015872.

Il est à rappeler que dans notre méta-analyse, nous avons inclus cinq études réalisées sur des populations provenant de la région de l'Asie ; trois études réalisées en Inde (Joseph *et al.*, 2004 ; Majumdar *et al.*, 2008 et Suneetha *et al.*, 2011), et deux réalisées en Chine (Jiang *et al.*, 2008 ; Kim *et al.*, 2012). Toutes ces études ont conclu à l'incrimination du polymorphisme d'intérêt comme facteur de risque probable de survenue des leucémies aiguës chez les Asiatiques. Ces données n'infirmement pas l'effet potentiel de ce variant allélique chez les Caucasiens, mais suggèrent qu'un rôle plus important dans le processus de leucémogénèse chez les Asiatiques.

II.5. Test d'hétérogénéité

Les résultats du test d'hétérogénéité selon les cinq modèles génétiques de comparaison sont tous très significatifs, car inférieurs au seuil de 0,05. Il est intéressant de noter que pour 6 (sur les 7) modèles de comparaison, la valeur de p est inférieure à 0,01 ce qui révèle une très grande hétérogénéité dans les fréquences génotypiques et alléliques rapportées par les études incluses dans notre méta-analyse.

Tableau XIII. Résultats du test d'hétérogénéité.

Modèle	τ^2	H	I ²	Q	p -value
Modèle allélique (C vs. T)	0.20	2.46	0.83	108.74	0.00
Modèle récessif (CC vs. CT+TT)	0.23	1.53	0.57	39.61	0.00
Modèle dominant (CC+CT vs. TT)	0.29	2.36	0.82	99.92	0.00
Modèle hétérozygote (CT vs. CC+TT)	0.27	2.28	0.81	93.36	0.00
CC vs. TT	0.30	1.51	0.56	38.65	0.00
CC vs. CT	0.24	1.43	0.51	34.59	0.01
CT vs. TT	0.31	2.28	0.81	93.46	0.00

- τ^2 : écart-type estimé des effets sous-jacents entre les études,
- H : Hétérogénéité,
- I² : pourcentage de variation entre les études due à l'hétérogénéité plutôt qu'au hasard,
- Q : la mesure de Cochran de l'hétérogénéité est, qui est calculée comme la somme pondérée des différences au carré entre les effets des études individuelles et l'effet groupé entre les études, les pondérations étant celles utilisées dans la méthode de regroupement.

En raison de cette forte hétérogénéité, nous avons effectué une méta-régression logistique et une analyse de sous-groupes pour explorer les sources potentielles d'hétérogénéité avec les covariables suivantes : origine ethnique (asiatique, caucasienne), types de leucémies aiguës (LAM et LAL) et approches de génotypage (PCR-RFLP ou autres).

Après avoir estimé la contribution potentielle de chaque co-variable à l'hétérogénéité par méta-régression logistique sous le logiciel CMA, nous avons constaté que toutes les valeurs de p étaient toutes très inférieures au seuil de 0,05, ce qui signifiait que l'hétérogénéité constatée pourrait être attribuée à un ou plusieurs des facteurs ci-dessus. Cependant, l'analyse des sous-groupes a indiqué une diminution significative de l'hétérogénéité dans l'unique sous-groupe des Asiatiques. Ainsi, il a été déduit que l'ethnicité pourrait être la principale source d'hétérogénéité élevée, révélant ainsi que probable différence réelle dans la distribution de ce polymorphisme entre Asiatiques et Caucasiens.

II.6. Analyse de sensibilité et biais de publication

Les graphiques en entonnoir de Begg (funnel plot) ont été générés par le logiciel (figures 24, 25, 26, 27, 28, 29 et 30) et le test d'egger a été réalisé pour évaluer le biais de publication (tableaux XI, XII et XIII) de la littérature sur le polymorphisme *CYP17* T/C et le risque global de leucémies aiguës inclus dans la méta-analyse. La réalisation d'un funnel-plot (graphique en forme d'entonnoir inversé) permet de montrer, en fonction de la précision des études ou de la taille de l'échantillon en ordonnée d'une part, et de la taille de l'effet du facteur de risque étudiée (effect size) en abscisse d'autre part, que certaines publications sont manquantes : la répartition des points n'est pas homogène autour de la vraie valeur, ne remplissant pas une image en entonnoir inversée.

L'examen des graphiques en entonnoir généré par le logiciel de méta-analyse utilisé a permis de mettre en évidence un biais statistique dans plusieurs publications retenues dans cette étude et ce selon un ou plusieurs modèles de comparaison. En effet, pour l'étude de Bolufer *et al.*, 2007 menées en Espagne sur les LAL et qui a conclu à l'absence de l'effet du polymorphisme d'intérêt dans le processus de leucémogénèse sur la population étudiée, nous avons noté un biais selon les modèles de comparaison allélique, dominant, récessif et hétérozygote (figures 24, 25, 26 et 27). En ce qui concerne l'étude de Majumdar *et al.*, 2008 menée en Inde sur une série de patients LAM, et qui a conclu à la présence de l'effet du polymorphisme d'intérêt, nous avons relevé un biais de publication selon les modèles alléliques, récessifs, CC vs. TT et CC vs. CT.

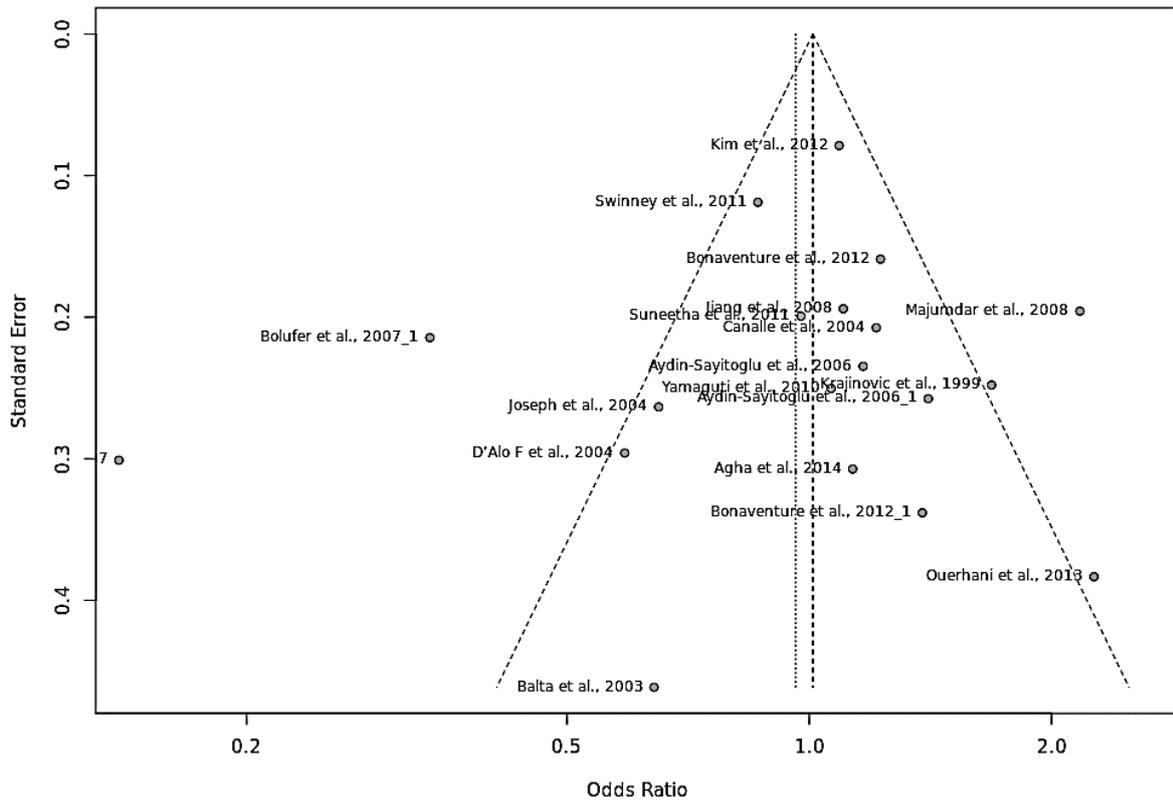


Figure 24. Graphique en entonnoir selon le modèle de comparaison allélique (C vs. T).

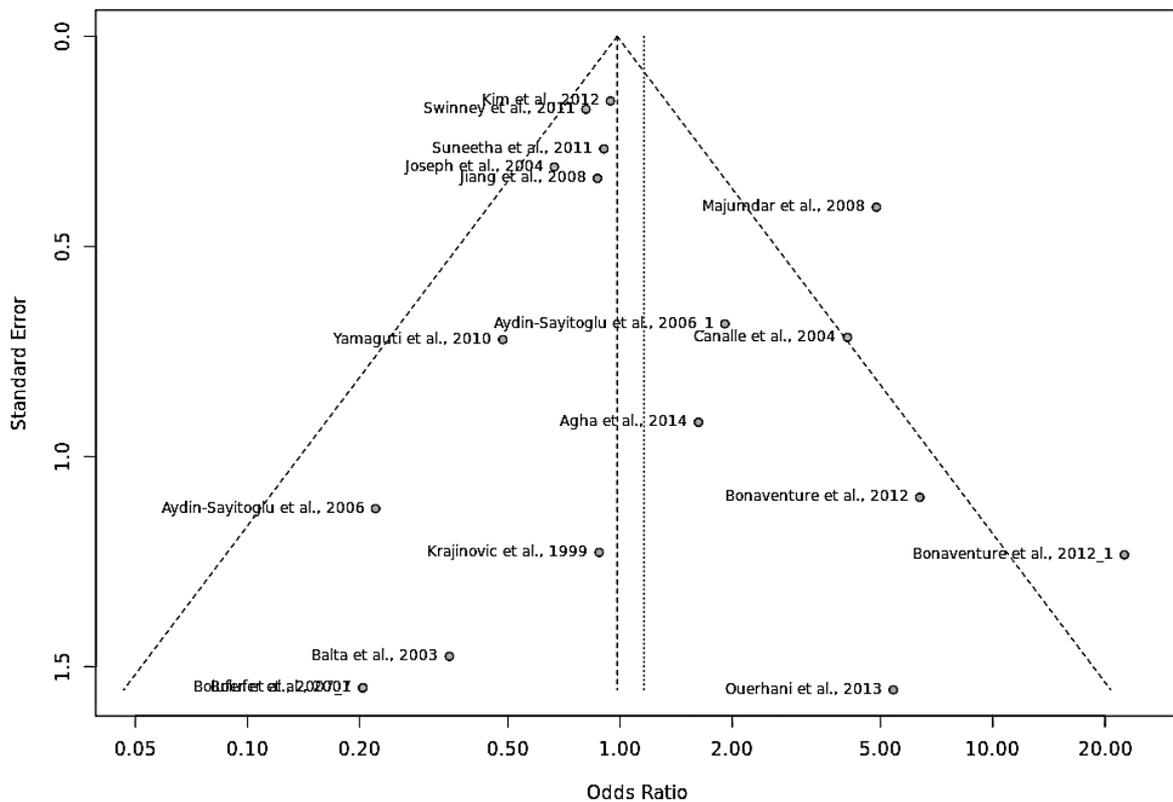


Figure 25. Graphique en entonnoir selon le modèle de comparaison récessif (CC vs. CT+TT).

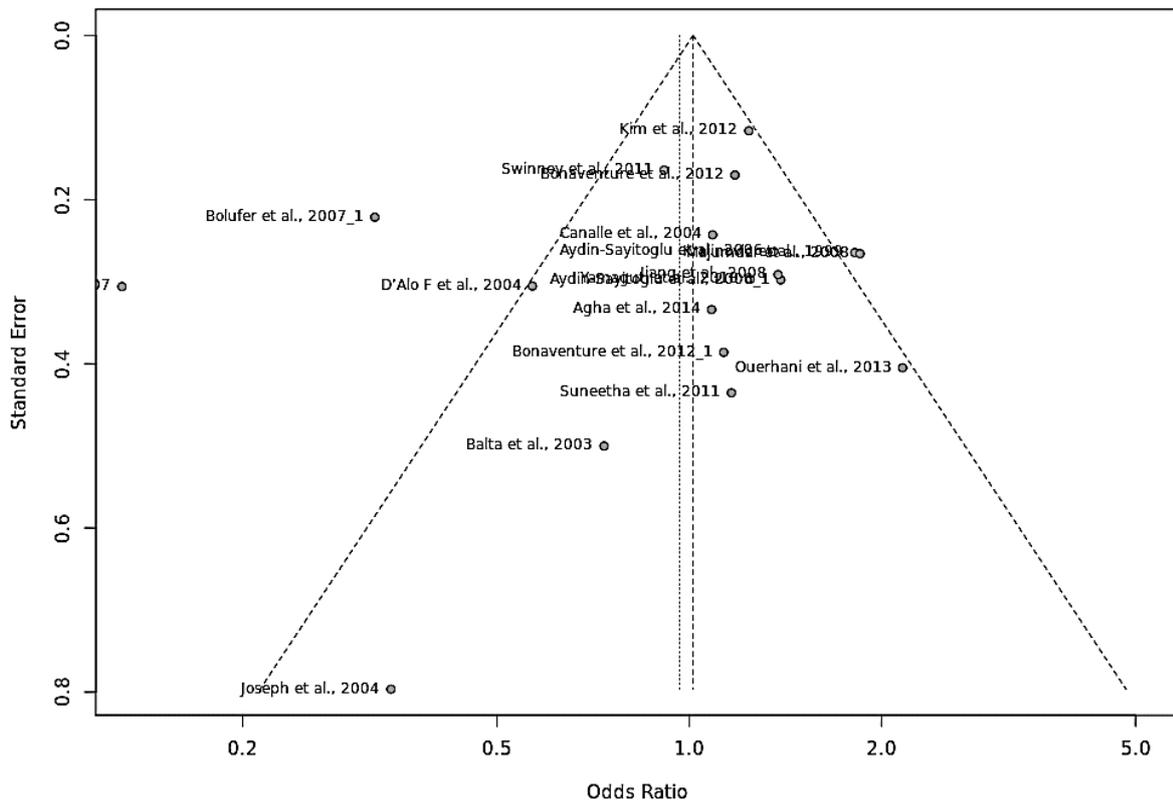


Figure 26. Graphique en entonnoir selon le modèle de comparaison dominant (CC+CT vs. TT).

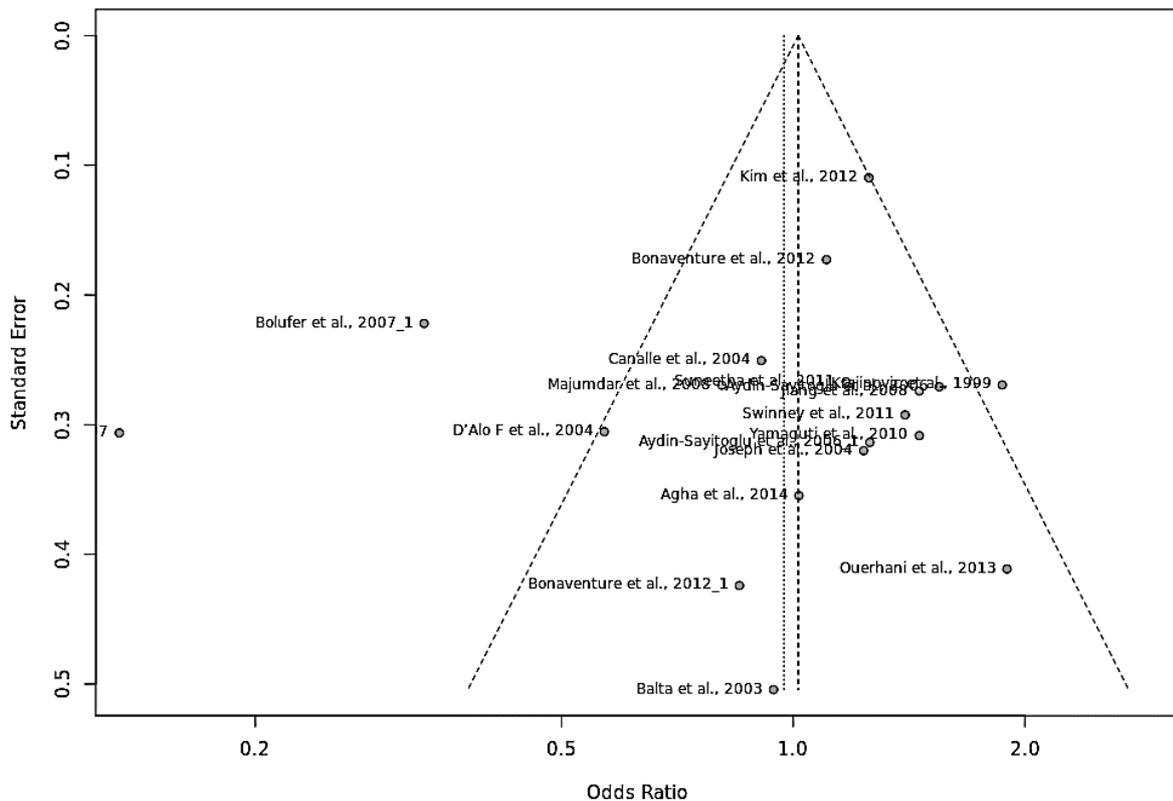


Figure 27. Graphique en entonnoir selon le modèle de comparaison codominant (CT vs. CC+TT).

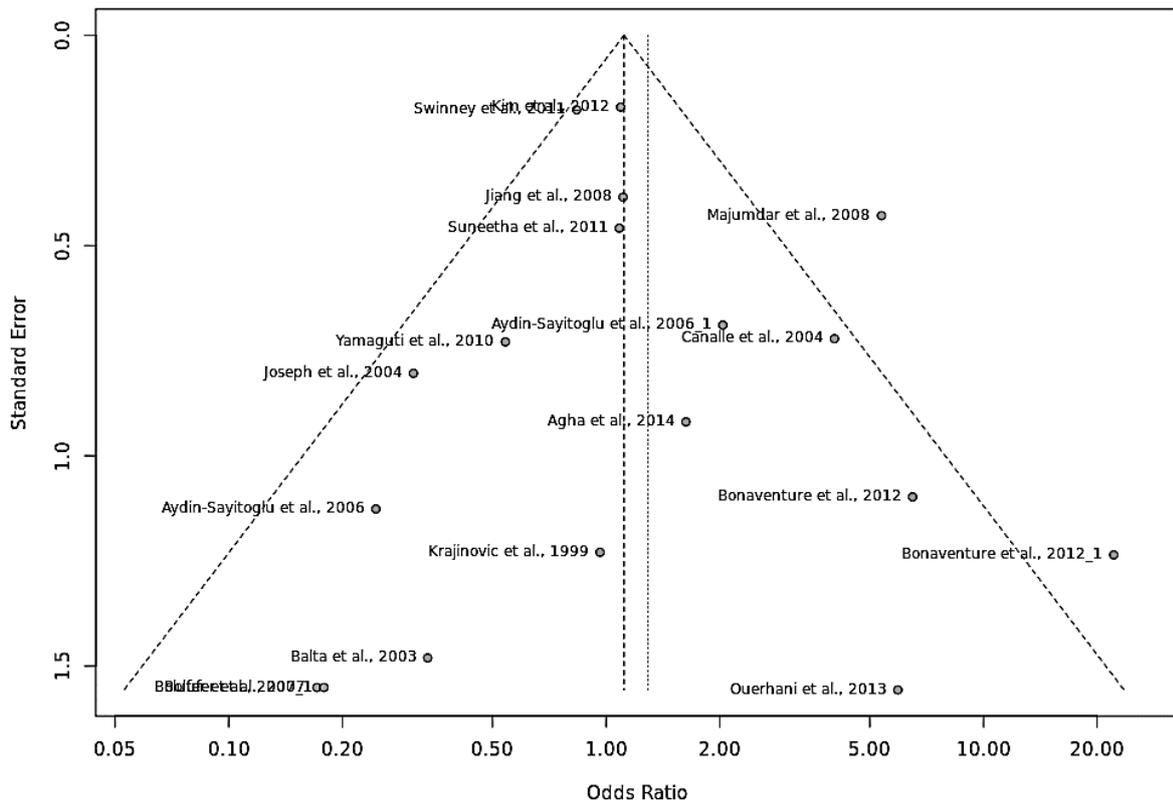


Figure 28. Graphique en entonnoir selon le modèle de comparaison CC vs. TT.

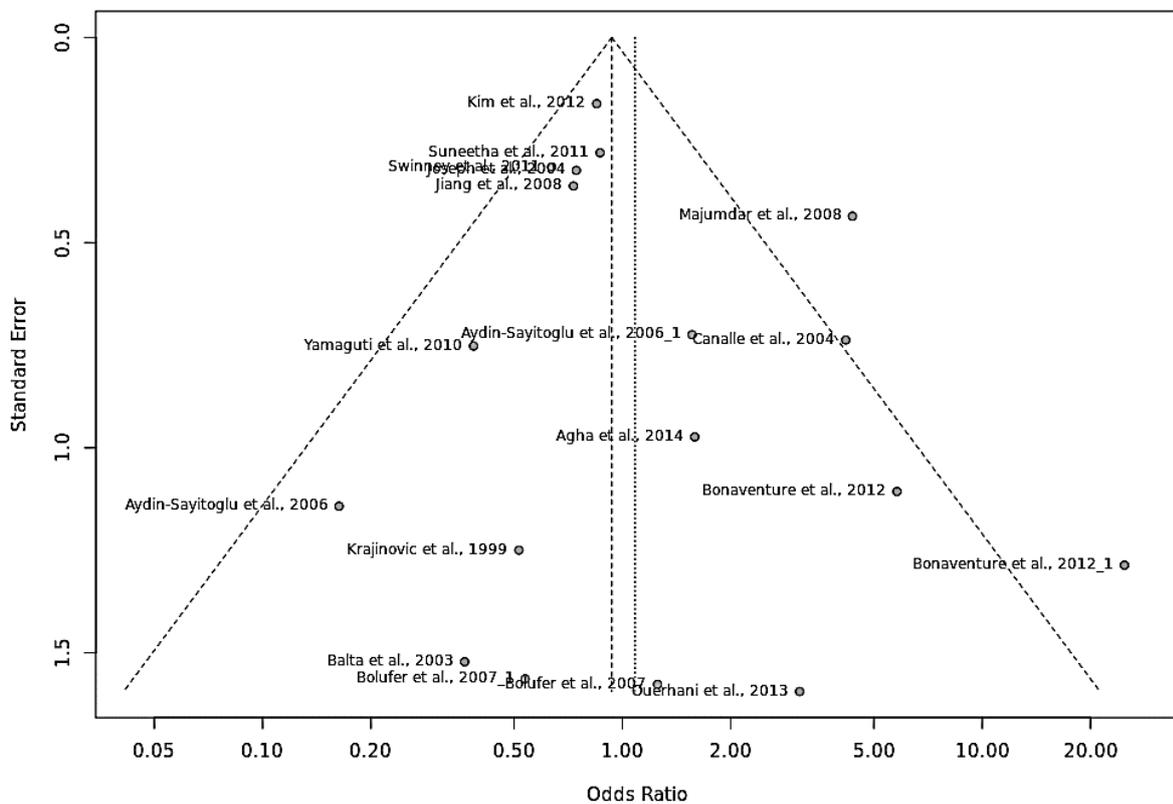


Figure 29. Graphique en entonnoir selon le modèle de comparaison CC vs. CT.

Afin de vérifier l'influence des publications potentiellement biaisées, nous avons réalisé une méta-analyse de type Leave-1-out et généré les graphiques en forêt correspondants. Il s'agit en fait de plusieurs métanalyses au nombre des études incluses, qui se font en excluant une étude à chaque analyse. Il est courant que les études produisent des tailles d'effet exagérées, ce qui peut fausser les résultats globaux. La méta-analyse à élimination directe est utile pour étudier l'influence de chaque étude sur l'estimation globale de la taille de l'effet et pour identifier les études influentes.

En plus des trois études citées précédemment, et dont nous avons signalé un probable biais de publication à l'issue de la réalisation des graphiques en entonnoir (Bolufer *et al.*, 2007 ; Majumdar *et al.*, 2008 ; Bonaventure *et al.*, 2012), et qui a été confirmé également par la méthode Leave-1-out, nous avons également trouvé un biais de publication dans deux autres études : Swinney *et al.*, 2011 et Suneetha *et al.*, 2011. Ces deux études, menées respectivement aux USA et en Inde, ont été réalisées sur les LAL et ont conclu à la présence d'une association statistiquement significative.

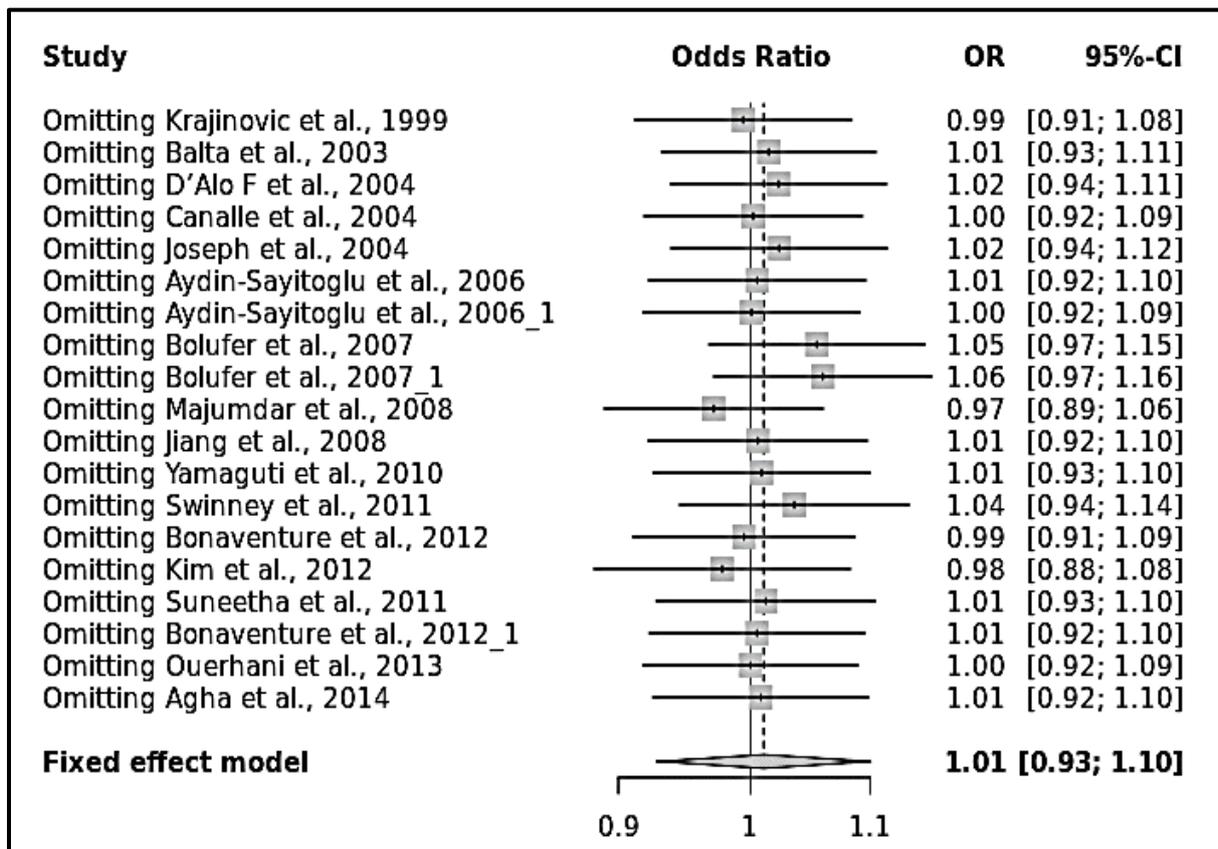


Figure 31. Graphique en forêt (Leave-1-out) selon le modèle de comparaison allélique (C vs. T).

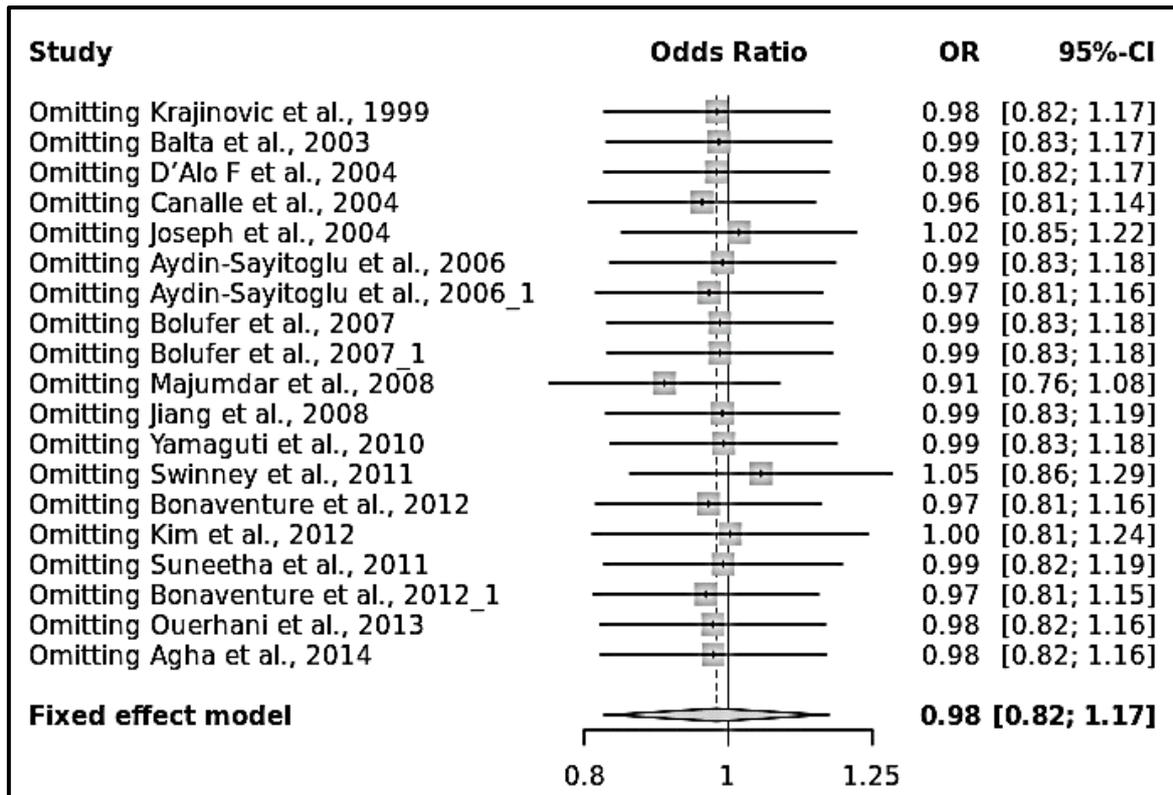


Figure 32. Graphique en forêt (Leave-1-out) selon le modèle de comparaison récessif (CC vs. CT+TT).

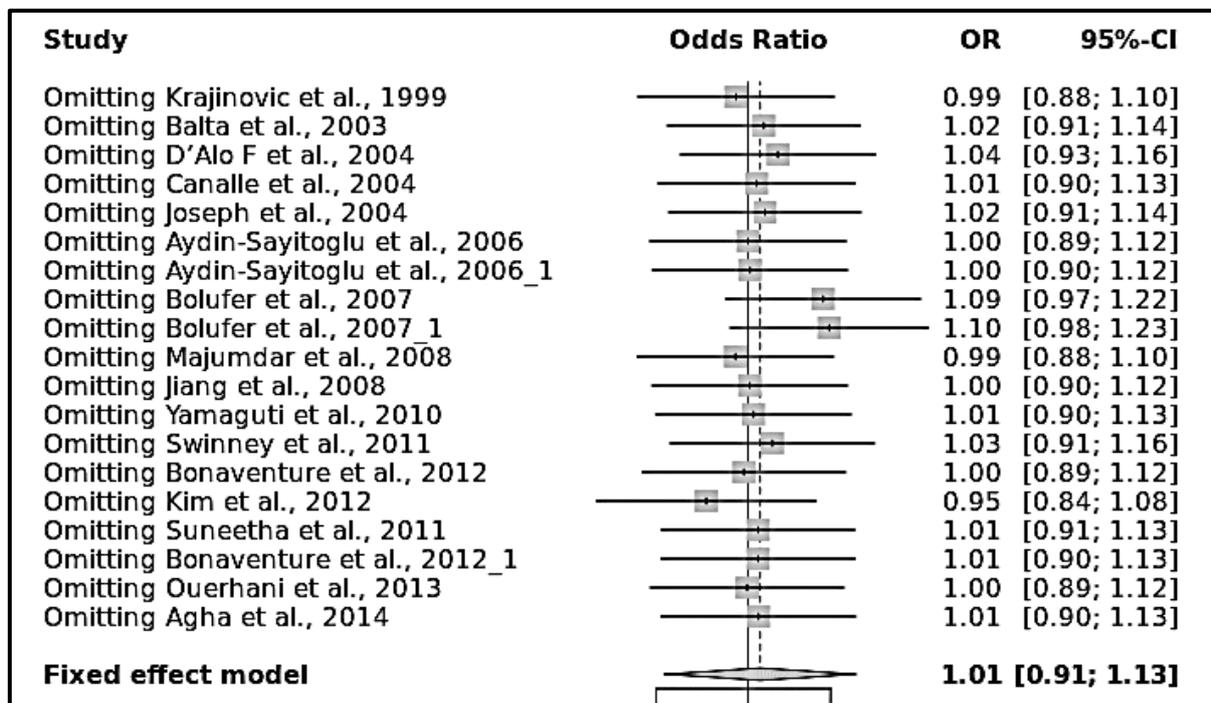


Figure 33. Graphique en forêt (Leave-1-out) selon le modèle de comparaison dominant (CC+CT vs. TT).

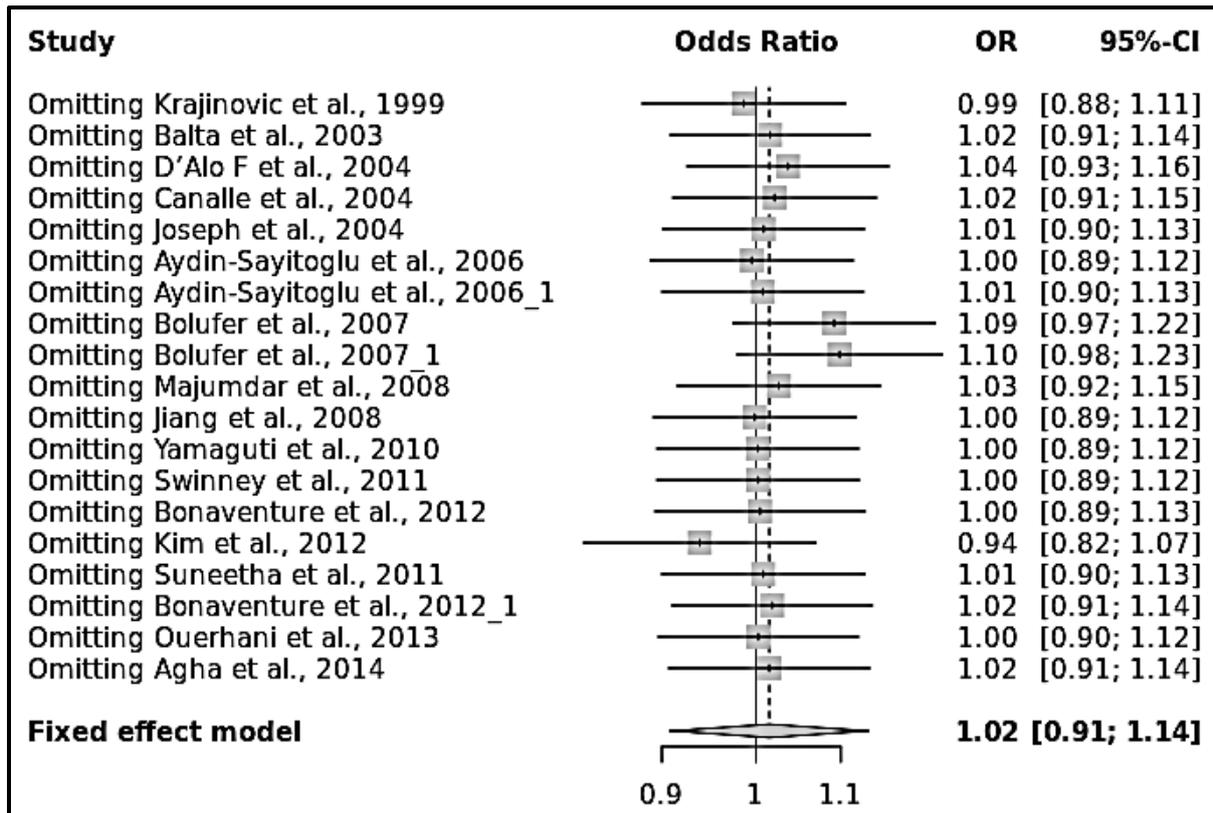


Figure 34. Graphique en forêt (Leave-1-out) selon le modèle de comparaison co-dominant (CT vs. CC+TT).

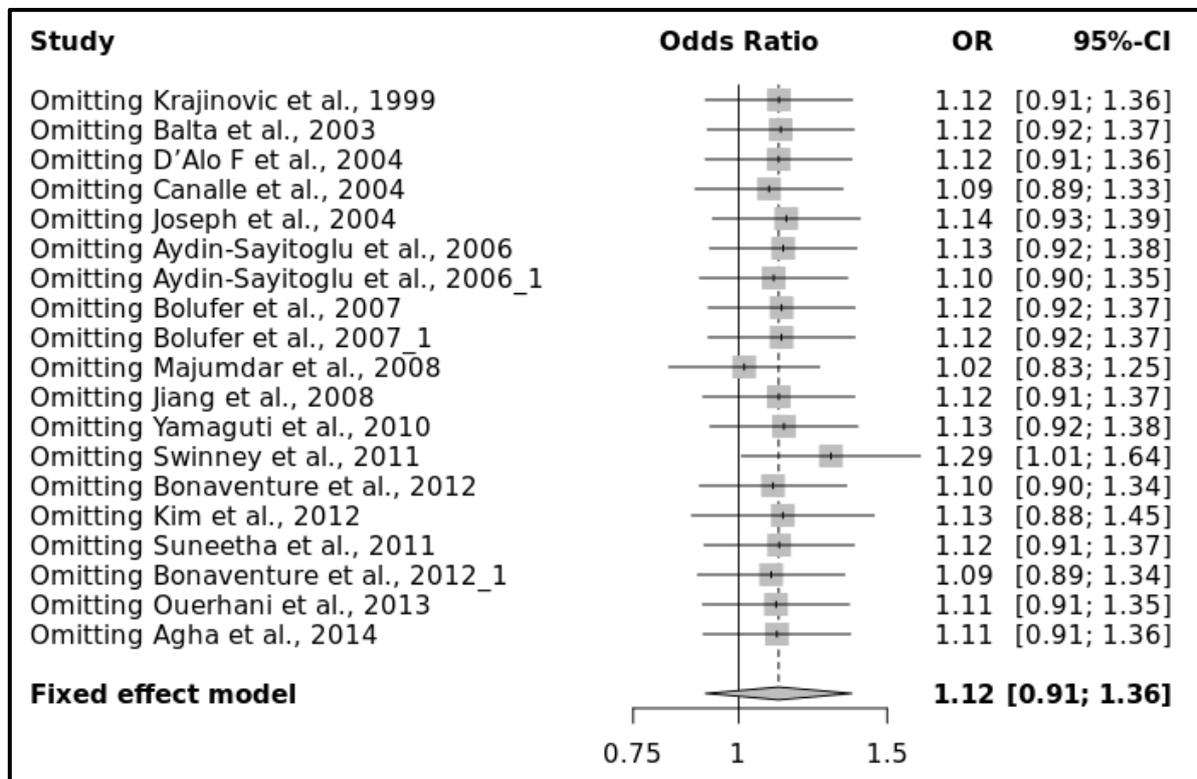


Figure 35. Graphique en forêt (Leave-1-out) selon le modèle de comparaison CC vs. TT.

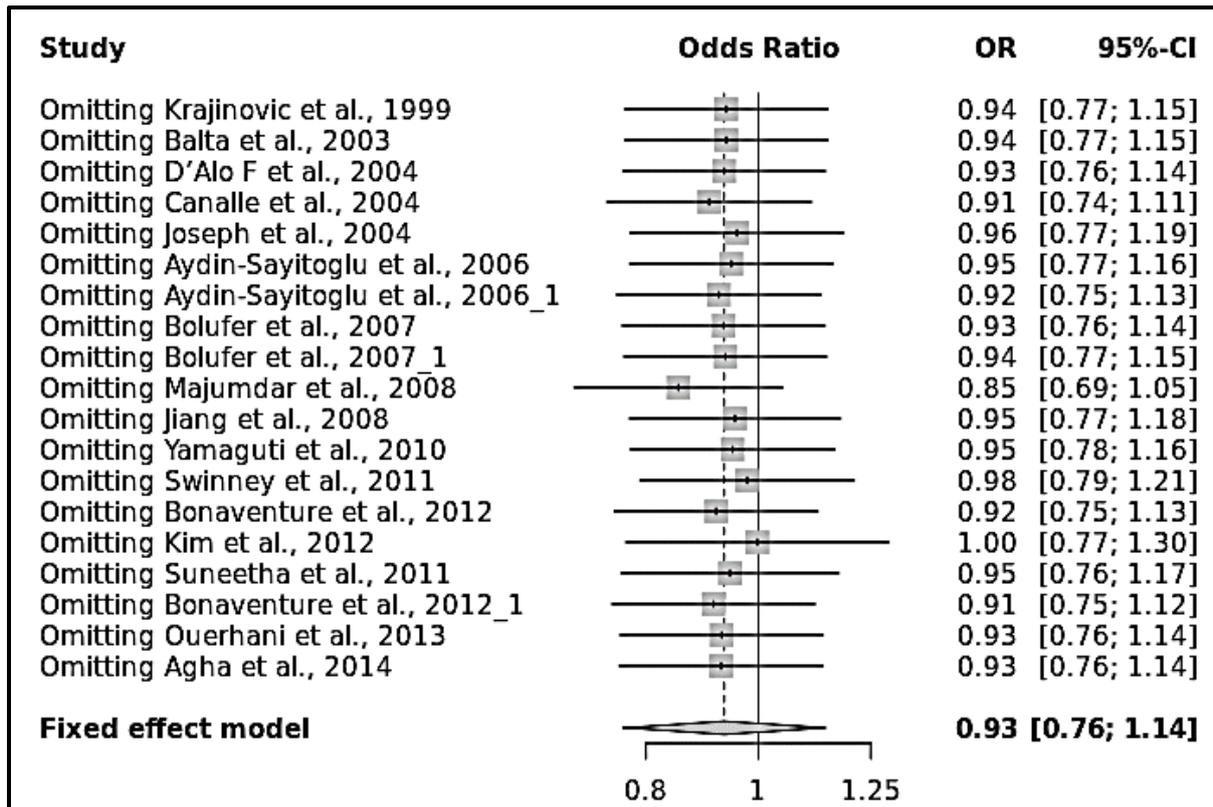


Figure 36. Graphique en forêt (Leave-1-out) selon le modèle de comparaison CC vs. CT.

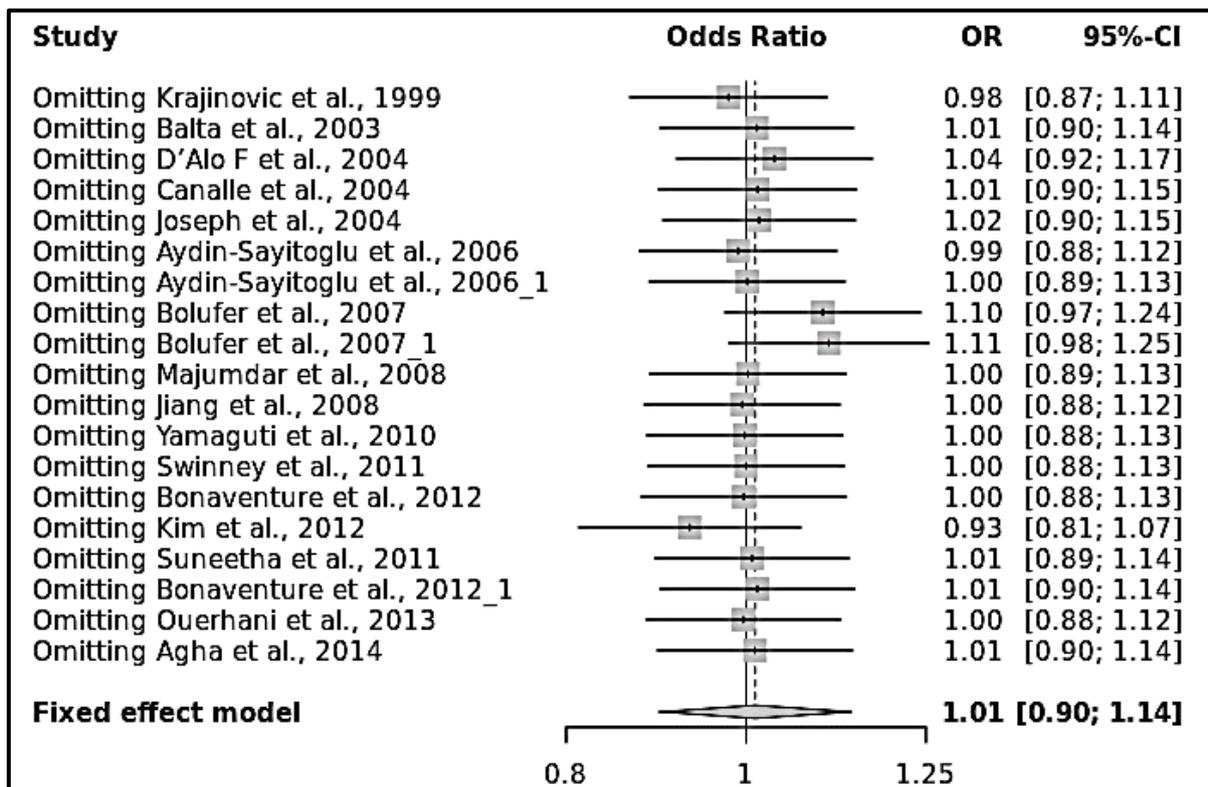


Figure 37. Graphique en forêt (Leave-1-out) selon le modèle de comparaison CT vs. TT.

Néanmoins, même en laissant à chaque fois une des études supposées biaisées, possédant le plus étroit des intervalles de confiance (Bolufer *et al.*, 2007 ; Majumdar *et al.*, 2008 ; Swinney *et al.*, 2011 ; Suneetha *et al.*, 2011 et Bonaventure *et al.*, 2012), cela ne modifie pas considérablement l'estimation de l'effet supposé délétère du polymorphisme étudié. D'ailleurs, sur les graphiques en forêt de la méta-analyse à exclure, et pour tous les modèles génétiques de comparaison, on note qu'il n'y a pas d'effet dramatique sur la taille globale de l'effet du variant allélique lorsqu'une étude individuelle est omise.

III. Discussion générale

Les hémopathies malignes, communément appelées « cancers du sang » regroupent un ensemble très hétérogène de pathologies cancéreuses des cellules sanguines et de leurs précurseurs. Les facteurs de risque bien établis accréditent l'idée d'une hétérogénéité étiologique à l'origine de cette diversité. Ceci n'exclut pas que plusieurs hémopathies malignes puissent partager des facteurs de risque, notamment environnementaux (Baldi *et al.*, 2008).

La part de facteurs génétiques dans le développement des cancers a été pressentie depuis très longtemps. Plusieurs études datant du 19^{ème} siècle ont rapporté l'existence de familles comportant de très nombreux cas de cancers qui apparaissent à un âge précoce sur plusieurs générations. L'existence de telles fratries a fait réfléchir des formes particulières de cancers à transmission héréditaire classique mendélienne. Parallèlement à ces observations, la preuve de l'existence d'agents mutagènes et carcinogènes entretenait la théorie mutationnelle du cancer, mise en exergue bien avant l'avènement de la génétique suite à certaines observations (par exemple, dès le 18^{ème} siècle, la fréquence des cancers du scrotum chez les ramoneurs a été associée à leur environnement professionnel), selon laquelle toute tumeur cancéreuse serait le résultat d'un processus multi-étape dont l'initiation est le résultat d'une exposition à une substance chimique potentiellement cancérigène (Solary, 2014).

Au courant de ces dernières années, des progrès considérables ont été accomplis dans la compréhension des mécanismes génétiques impliqués dans la transformation cancéreuse, aboutissant, à la découverte d'un certain nombre de gènes dits « prédisposant » à la survenue de tumeurs dans de nombreux cancers (sein, ovaire, colon, etc.) (Lambert *et al.*, 2019).

En ce qui concerne les hémopathies malignes, des agrégations familiales ont été décrites pour les différents types de leucémies, et en particulier dans les LLC et les lymphomes. Ces agrégations regroupent souvent plusieurs types d'hémopathies lymphoïdes. Des hémopathies malignes apparaissent également dans des maladies héréditaires comme l'ataxie télangiectasie, le syndrome de Bloom, l'anémie de Fanconi, le syndrome de Li et Fraumeni et la neurofibromatose de type 1. Néanmoins, ces facteurs familiaux sont à même d'expliquer une très faible proportion des cas de leucémies aiguës (Buffler *et al.*, 2005).

Aujourd'hui, les formes génétiques bien caractéristiques de cancers en général et de leucémies aiguës en particulier sont assez rares (estimées à moins de 5%). De ce fait, on s'intéresse de plus en plus à une nouvelle vision : la « susceptibilité génétique ». Elle fait référence à des polymorphismes (variations génétiques), le plus souvent de type SNP, portés un seul nucléotide, au niveau de gènes qui, à première vue, n'ont pas à être suspectés dans le processus de leucémogénèse. Ces variants alléliques ont été reconnus, pour la plupart, au niveau de protéines à activité enzymatique, car ils étaient capables d'affecter indubitablement l'activité de ces enzymes. Ce concept de susceptibilité génétique a amorcé la recherche de gènes que l'on pourrait qualifier de « mineurs » dans le sens où les allèles « supposés être délétères » ne donnent à eux seuls qu'une faible augmentation du risque de cancer, mais où ils pourraient agir en interaction avec des carcinogènes de l'environnement et avec d'autres gènes de susceptibilité (Hanahan et Weinberg, 2016 ; Miao *et al.*, 2020).

Aujourd'hui, l'information scientifique et médicale concernant les études menées dans le but de préciser l'effet de ces polymorphismes, est abondante et facilement accessible, en raison des progrès des systèmes d'information et de l'évolution du nombre de travaux de recherche menés sur ces thématiques. En effet, les bases de données PubMed, Embase et Google Scholar regorgent de dizaines de milliers d'études construites selon le modèle cas-témoins, ou des méta-analyses, menées dans le but d'évaluer l'effet des polymorphismes génétiques, supposés délétères ou parfois même protecteurs, en rapport avec une pathologie donnée (Baldi *et al.*, 2008 ; Solary, 2014).

D'autre part, concernant les facteurs de risque environnementaux, ceux établis à l'heure actuelle opposent les hémopathies myéloïdes et lymphoïdes. Les expositions au benzène, aux radiations ionisantes à forte dose et aux chimiothérapies anticancéreuses (alkylants et inhibiteurs des topo-II-isomérases) sont des facteurs de risque avérés et particulièrement bien décrits dans les LAM tandis que les déficits immunitaires congénitaux ou acquis (SIDA, traitements immunosuppresseurs) et les infections virales (EBV, HTLV1) ou bactériennes (*Helicobacter pylori*) favorisent le risque d'hémopathie maligne lymphoïde (LAL et LLC) (Buffler *et al.*, 2005).

Dans ce sens, et à la lumière de ces connaissances, nous nous sommes intéressés à l'étude d'un variant allélique (T3801C) présent au niveau d'un des gènes (*CYP1A1*) de la phase I d'activation du processus de détoxification, et qui est impliqué, avec beaucoup d'autres, dans le métabolisme des xénobiotiques ; substances potentiellement cancérigènes. Ce polymorphisme a été décrit par de nombreux auteurs dans la littérature comme étant associé à un risque de développer une leucémie aiguë chez les individus qui en sont porteurs (Agha *et al.*, 2014). Sachant qu'il est admis à présent que les cancers ont une origine génétique et une origine environnementale, la part relative de l'environnement et des facteurs génétiques dans l'apparition des leucémies aiguës n'est pas simple à préciser. Une distinction trop marquée entre génétique et environnement semble pourtant particulièrement simpliste car certains polymorphismes génétiques pourraient expliquer partiellement la susceptibilité individuelle aux conséquences toxiques de certaines substances polluantes (Baldi *et al.*, 2008 ; Solary, 2014).

L'être humain, dans son environnement, est continuellement exposé à une grande diversité de particules chimiques (contaminants aériens, alimentation, médicaments, etc.). Ces molécules de petite taille sont le plus souvent trop hydrophobes et de ce fait doivent d'abord être métabolisées avant d'être éliminées par les voies biliaires et urinaires. Pour accroître l'hydrophilie des particules exogènes, les organismes ont développé des systèmes de détoxification diversifiés et performants. Trois phases sont communément essentielles à ce processus. La première d'entre elles (phase I) est sous le contrôle d'enzymes qui créent un groupement fonctionnel (-OH, -COOH, -NH₂, -SH) sur le xénobiotique. Le principal système enzymatique est représenté par les cytochromes P450 (CYP) mais d'autres enzymes peuvent également intervenir, notamment les flavines monooxygénases, les alcools déshydrogénases, les estérases, les monoamines-oxydases (Shields 1994).

Les CYP forment une superfamille d'hémoprotéines qui assurent la prise en charge de nombreuses molécules exogènes et endogènes. Elles sont exprimées dans quasiment tous les tissus. Néanmoins, les quantités des CYP peuvent fortement varier d'un individu à l'autre (Daly *et al.*, 1998). Elles sont modulées par des facteurs génétiques, physiopathologiques et environnementaux. Les différences individuelles dans les aptitudes de biotransformation d'une part et dans les capacités de protection ou de défenses de l'organisme d'autre part explique les différences de susceptibilité des individus aux agressions d'origine chimique ou physique (Golmohammadzadeh *et al.*, 2019).

Les polymorphismes du gène *CYP1A1* font partie de plusieurs facteurs de risque génétique dont l'implication a été suspectée dans de nombreux types de cancers, mais leur influence sur la leucémie aiguë reste assez controversée. L'implication du variant T3801C du gène *CYP1A1* dans la genèse des leucémies aiguës a été prospectée pour la première fois en 1999 par Krajinovic *et al.* Depuis, un nombre considérable d'étude a été réalisée sur cette thématique. La dernière en date, à notre connaissance, est celle menée sur une population égyptienne en 2014 par Agha *et al.*, 2014. Néanmoins, les résultats rapportés sont assez contradictoires (Krajinovic *et al.*, 1999 ; Balta *et al.*, 2003 ; D'Alo F *et al.*, 2004 ; Canalle *et al.*, 2004 ; Joseph *et al.*, 2004 ; Aydin-Sayitoglu *et al.*, 2006 ; Bolufer *et al.*, 2007 ; Majumdar *et al.*, 2008 ; Jiang *et al.*, 2008 ; Yamaguti *et al.*, 2010 ; Swinney *et al.*, 2011 ; Bonaventure *et al.*, 2012 ; Kim *et al.*, 2012 ; Suneetha *et al.*, 2011 ; Bonaventure *et al.*, 2012 ; Ouerhani *et al.*, 2013 ; Agha *et al.*, 2014).

Pour rappel, Le polymorphisme T3801C (aussi appelé T6235C, m1 ou *CYP1A1**2A), résulte d'un remplacement de la thymine par une cytosine au niveau de la région non codante 3' située en aval de l'exon 7 (Gaikovitch, 2003). Ce polymorphisme silencieux, car il ne provoque aucune substitution d'acide aminé. Néanmoins, il peut générer une protéine fortement inductible par les HAPs avec une activité enzymatique augmentée. Par conséquent, selon des études statistiques, il est très probable que le polymorphisme *CYP1A1**2A soit associé à une forte induction du gène en réponse à l'exposition à des produits chimiques environnementaux potentiellement cancérigènes (Gambier, 2006 ; Peng *et al.*, 2012 ; Bag *et al.*, 2015). L'isoforme correspondant aux variants *CYP1A1* *2A possède une plus grande activité enzymatique et/ou une plus grande inductibilité que l'allèle sauvage (normal ou non muté) et est associée à des niveaux élevés d'adduits à l'ADN, ainsi qu'à un plus grand risque de formation de carcinomes. Inversement, les individus porteurs de l'allèle sauvage disposent d'un plus faible potentiel d'activation des carcinogènes et semblent être protégés contre le cancer (Bag *et al.*, 2015).

Conclusion
et
Perspectives

Afin d'apporter notre contribution pour clarifier l'effet du polymorphisme T3801C (*rs4646903*) du gène *CYP1A1* (OMIM : 108330) comme facteur de risque impliqué dans la survenue des leucémies aiguës, nous avons réalisé une étude construite selon le modèle du type cas-témoins. Les résultats que nous avons obtenus suggèrent que ce polymorphisme ne joue aucun rôle dans le risque de développer une leucémie aiguë et que les porteurs de l'allèle récessif (individus avec génotype TC et CC), supposé délétère ne présentent aucun risque statistiquement significatif par rapport à ceux qui portent le génotype homozygote TT. Malheureusement, ces résultats ne sont que préliminaires et ne peuvent être pris comme étant représentatives du rôle de ce variant chez les habitants de l'Est algérien.

En complément à notre étude cas-témoins, et afin d'affiner encore notre prospection pour préciser davantage l'effet de ce polymorphisme, nous avons enchaîné par la réalisation d'une étude génétique de type méta-analyse visant à encore mieux préciser l'effet de ce polymorphisme dans la survenue des leucémies aiguës. Les résultats des tests d'association selon les différents modèles de comparaison, avec la méthode d'estimation à effet fixe ainsi que celle des effets aléatoires, ont mis évidence une absence d'association entre le polymorphisme génique et la pathologie étudiée. Néanmoins, deux observations importantes relevées après la réalisation de cette méta-analyse sont à mentionner :

- La première est que notre méta-analyse a conclu à l'absence d'association entre le variant T3801C du gène *CYP1A1* et le risque de survenue de leucémies aiguës et ce en dépit du fait que 13 des 19 études incluses dans cette méta-analyse ont rapporté une association positive avec ces hémopathies et ont conclu que l'allèle C présent en une seule copie chez les hétérozygotes TC et en deux copies chez les homozygotes CC, constitue bien un facteur de risque du dysfonctionnement étudié.
- La deuxième est que notre méta-analyse par sous-groupe ethnique a révélé un niveau d'association faible, néanmoins positif, suggérant que l'allèle C peut constituer un facteur de risque dans la genèse des leucémies aiguës chez les Asiatiques.

Les résultats obtenus dans notre travail de recherche ne sont que préliminaires et ne peuvent être pris comme étant définitifs. Pour préciser davantage l'impact ce polymorphisme, des recherches génétiques supplémentaires doivent être menées pour évaluer l'impact des relations gène-gène et gène-environnement, ce qui pourrait conduire à une meilleure compréhension des fondements de la susceptibilité génétique aux leucémies aiguës. Beaucoup de recherche reste à faire dans ce domaine, l'essentiel des travaux sur ces facteurs étant à l'heure actuelle limite aux seuls liens gènes-hémopathies.

À la lumière de ce travail de recherche, les résultats obtenus laissent entrevoir de nombreuses perspectives :

- Il est recommandé d'effectuer systématiquement une analyse cytogénétique dans tous les cas de leucémie aiguë nouvellement diagnostiqués. Une corrélation doit être faite avec divers paramètres biochimiques et hématologiques, l'immunophénotypage et la morphologie de la MO. Malheureusement, de nombreux patients algériens n'ont pas accès à cette analyse.
- Il est également recommandé de créer un registre national du cancer, afin de mener des études épidémiologiques utiles et d'établir un consensus national sur la prise en charge thérapeutique et mettre en œuvre de nouvelles stratégies de traitement, telles que les thérapies moléculaires ciblées.
- D'autres études doivent être menées pour explorer d'autres pistes de prédispositions génétiques présentes dans la population générale sous la forme de polymorphismes qui peuvent être à risque, et d'étudier surtout l'interaction de ces variants alléliques avec des facteurs environnementaux pour essayer de comprendre leurs contributions dans le processus de leucémogénèse.

Références bibliographiques

1. Achouria B. (2012). La cytogénétique et classification des hémopathies malignes. Université d'Oran - Algérie - Diplôme des études supérieures en génétique.
2. Adimy, M., Bernard, S., Clairambault, J., Crauste, F., Génieys, S., & Pujo-Menjouet, L. (2008). Modélisation de la dynamique de l'hématopoïèse normale et pathologique. *Hématologie*, 14(5), 339-350.
3. Agha, A., Shabaan, H., Abdel-Gawad, E., & El-Ghannam, D. (2014). Polymorphism of CYP1A1 gene and susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia in Egypt. *Leukemia & Lymphoma*, 55(3), 618-623.
4. Agúndez, J. A. (2004). Cytochrome P450 gene polymorphism and cancer. *Current drug metabolism*, 5(3), 211-224.
5. Androutsopoulos, V. P., Tsatsakis, A. M., & Spandidos, D. A. (2009). Cytochrome P450 CYP1A1: wider roles in cancer progression and prevention. *BMC cancer*, 9(1), 1-17.
6. Antony-Debré, I., Hamidi, S., Norol, F., Vainchenker, W., & Raslova, H. (2013). Cellules souches pluripotentes induites: de l'historique à l'application. *Hématologie*, 19(1), 20-32.
7. Aydin-Sayitoglu, M., Hatirnaz, O., Erensoy, N., & Ozbek, U. (2006). Role of CYP2D6, CYP1A1, CYP2E1, GSTT1, and GSTM1 genes in the susceptibility to acute leukemias. *American journal of hematology*, 81(3), 162-170.
8. Bag, A., Jyala, N. S., & Bag, N. (2015). Cytochrome P450 1A1 genetic polymorphisms as cancer biomarkers. *Indian journal of cancer*, 52(4), 479.
9. 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)).
10. Balta, G., Yuksek, N., Ozyurek, E., Ertem, U., Hicsonmez, G., Altay, C., & Gurgey, A. (2003). Characterization of MTHFR, GSTM1, GSTT1, GSTP1, and CYP1A1 genotypes in childhood acute leukemia. *American journal of hematology*, 73(3), 154-160.
11. Béné, M. C., & Lacombe, F. (2015). Place de la cytométrie en flux dans le diagnostic et le suivi des leucémies aiguës. *Revue francophone des laboratoires*, 2015(471), 35-41.
12. Benkhelil, R., Landrieu, V., & Mercier, A. (2018). *Cas cliniques en hématologie et immunologie*. De Boeck Supérieur.

13. Bennett, J. M., Catovsky, D., Daniel, M. T., Flandrin, G., Galton, D. A., Gralnick, H. R., & Sultan, C. (1976). Proposals for the classification of the acute leukaemias French-American-British (FAB) co-operative group. *British journal of haematology*, 33(4), 451-458.
14. Bernard, O. (2010). Mécanismes de la leucémogénèse. *Bulletin du cancer*, 97(11), 1381-1388.
15. Boissel, N. (2006). Thérapeutiques ciblées dans les leucémies aiguës. *Réanimation*, 15(4), 278-284.
16. 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.
17. 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.
18. Bonaventure, A., Goujon-Bellec, S., Rudant, J., Orsi, L., Leverger, G., Baruchel, A., ... & Clavel, J. (2012). Maternal smoking during pregnancy, genetic polymorphisms of metabolic enzymes, and childhood acute leukemia: the ESCALE study (SFCE). *Cancer Causes & Control*, 23(2), 329-345.
19. Boudokhane, I. M., El-Okki, M. E. H., Medjani, S., Semmame, O., Filali, T., Mimouni, A., ... & Satta, D. (2020). Search for a possible association between the genetic polymorphism CYP1A1 *MspI*, and lung cancer in an Algerian population. *Asian J. Microbiol. Biotechnol. Environ. Sci*, 22, 97-104.
20. Bounid, D., & Haouach, K. (2019). Acute Leukemias in Marrakech: Epidemiology and Cytological Profile. *Annals of Clinical and Laboratory Research*, 7(1), 0-0.
21. Bourrelly, S. (2014). *Modélisation et identification de facteurs environnementaux géographiques liés à des risques morbides: Application aux séquelles développées après le traitement d'une leucémie: Cohorte LEA* (Doctoral dissertation, Université Nice Sophia Antipolis).
22. Buffler, P. A., Kwan, M. L., Reynolds, P., & Urayama, K. Y. (2005). Environmental and genetic risk factors for childhood leukemia: appraising the evidence. *Cancer investigation*, 23(1), 60-75.
23. Canalle, R., Burim, R. V., Tone, L. G., & Takahashi, C. S. (2004). Genetic polymorphisms and susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia. *Environmental and molecular mutagenesis*, 43(2), 100-109.

24. Corchero, J., Pimprale, S., Kimura, S., & Gonzalez, F. J. (2001). Organization of the CYP1A cluster on human chromosome 15: implications for gene regulation. *Pharmacogenetics and Genomics*, *11*(1), 1-6.
25. D'Alo, F. R. A. N. C. E. S. C. O., Voso, M. T., Guidi, F., Massini, G., Scardocci, A., Sica, S., ... & Leone, G. (2004). Polymorphisms of CYP1A1 and glutathione S-transferase and susceptibility to adult acute myeloid leukemia. *haematologica*, *89*(6), 664-670.
26. Daly, A. K., Fairbrother, K. S., & Smart, J. (1998). Recent advances in understanding the molecular basis of polymorphisms in genes encoding cytochrome P450 enzymes. *Toxicology letters*, *102*, 143-147.
27. Dastugue, N. (2003). Place de la cytogénétique conventionnelle et moléculaire dans l'étude des leucémies aiguës. *Pathologie Biologie*, *51*(6), 337-345.
28. Drouet, F., & Lagrange, J. L. (2010). Dose de tolérance à l'irradiation des tissus sains: la moelle osseuse. *Cancer/Radiothérapie*, *14*(4-5), 392-404.
29. Duployez, N., & Preudhomme, C. (2015). Place de la biologie moléculaire pour le diagnostic et le suivi des leucémies aiguës. *Revue Francophone des Laboratoires*, *2015*(471), 51-64.
30. Eveillard, M., Victor, F., Robillard, N., Debord, C., Rialland, F., Thomas, C., ... & Béné, M. C. (2017). Leucémies aiguës Aspects biologiques. *Hématologie*, *23*, 2.
31. Fliedner, T. M., Graessle, D., Paulsen, C., & Reimers, K. (2002). Structure and function of bone marrow hemopoiesis: mechanisms of response to ionizing radiation exposure. *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals*, *17*(4), 405-426.
32. Gaikovitch, E. A. (2003). Genotyping of the polymorphic drug metabolizing enzymes cytochrome P450 2D6 and 1A1, and N-acetyltransferase 2 in a Russian sample.
33. Gambier, N. (2006). *Influence des interactions tabac-polymorphismes génétiques CYP1A1 et CYP2A6 sur le risque cardiovasculaire dans la cohorte STANISLAS* (Doctoral dissertation, Université Henri Poincaré-Nancy 1).
34. Gatta, G., Van Der Zwan, J. M., Casali, P. G., Siesling, S., Dei Tos, A. P., Kunkler, I., ... & RARECARE Working Group. (2011). Rare cancers are not so rare: the rare cancer burden in Europe. *European journal of cancer*, *47*(17), 2493-2511.
35. Gocho, Y., & Yang, J. J. (2019). Genetic defects in hematopoietic transcription factors and predisposition to acute lymphoblastic leukemia. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, *134*(10), 793-797.

36. Golmohammadzadeh, G., Mohammadpour, A., Ahangar, N., & Shokrzadeh, M. (2019). Polymorphisms in Phase I (CYP450) Genes CYP1A1 (rs4646421), CYP1B1 (rs1056836), CYP19A1 (rs749292) and CYP2C8 (rs1058930) and their relation to risk of breast cancer: a case-control study in Mazandaran Province in North of Iran. *Open access Macedonian journal of medical sciences*, 7(15), 2488.
37. Gratwohl, A., Passweg, J., Kühne, T., Tyndall, A., Holzgreve, W., Skoda, R., ... & Tichelli, A. (2002, June). Transplantation de cellules souches hématopoïétiques. In *Forum Médical Suisse* (Vol. 2, No. 25, pp. 597-606). EMH Media.
38. Greer, J. P., Arber, D. A., Glader, B., List, A. F., Means, R. T., Paraskevas, F., & Rodgers, G. M. (2013). *Wintrobe's clinical hematology*. Lippincott Williams & Wilkins.
39. Gupta, A., Pal, A., & Nelson, S. S. (2015). Immunophenotyping in Acute Leukemia: A Clinical Study. *International Journal of Scientific Study*, 3(5), 129-136.
40. Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2016). Biological hallmarks of cancer. *Holland-Frei Cancer Medicine*, 1-10.
41. Harioly Nirina, M. O. M., Rakotoarivelo, Z. L., Ntoezara, A., Rasolonjatovo, A. S., RakotoAlson, A. O., & Rasamindrakotroka, A. (2015). Épidémiologie et diagnostic des leucémies aiguës à l'hôpital Ravoahangy Andrianaivalona Antananarivo Madagascar. *Journal Africain du Cancer/African Journal of Cancer*, 7(4), 186-189.
42. Hasserjian, R. P. (2013). Acute myeloid leukemia: advances in diagnosis and classification. *International journal of laboratory hematology*, 35(3), 358-366.
43. Inwoley, K. A., Sawadogo, D., Mizero, L., Salou, M., Karim, N., & Sangare, A. (2004). Biologie Clinique. *Bull Soc Pathol Exot*, 97(5), 319-322.
44. Jaffe, E. S. (Ed.). (2001). *Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues* (Vol. 3). Iarc.
45. Jiang, L., Zhao, Q., Zhai, Y. J., He, H. R., Yang, L. H., Gao, F., ... & Ma, X. C. (2015). Genetic polymorphisms of CYP1A1 and risk of leukemia: a meta-analysis. *OncoTargets and therapy*, 8, 2883.
46. Jagannathan-Bogdan, M., & Zon, L. I. (2013). Hematopoiesis. *Development*, 140(12), 2463-2467.
47. Jmili, N. B., Aziz, A. B. A., Nagara, M., Mahjoub, T., Ghannem, H., & Mondher, K. (2005). Profil épidémiologique et cytologique des leucémies aiguës: À propos de 193 cas colligés au centre Tunisien. *Revue Française des Laboratoires*, 2005(369), 23-28.

48. Joseph, T., Kusumakumary, P., Chacko, P., Abraham, A., & Radhakrishna Pillai, M. (2004). Genetic polymorphism of CYP1A1, CYP2D6, GSTM1 and GSTT1 and susceptibility to acute lymphoblastic leukaemia in Indian children. *Pediatric blood & cancer*, 43(5), 560-567.
49. Kaushansky, K. (2006). Lineage-specific hematopoietic growth factors. *New England Journal of Medicine*, 354(19), 2034-2045.
50. Kelly, L. M., & Gilliland, D. G. (2002). Genetics of myeloid leukemias. *Annual review of genomics and human genetics*, 3(1), 179-198.
51. Kessal, F. A. T. M. A., Agournaz, S., Ouzid, S., Allouda, M., Dali, N., & Ait, H. (2018). Leucémies aiguës Aspects biologiques. *Hématologie*, 24, 62.
52. Kim, H. N., Kim, N. Y., Yu, L., Tran, H. T. T., Kim, Y. K., Lee, I. K., ... & Kim, H. J. (2012). Association of GSTT1 polymorphism with acute myeloid leukemia risk is dependent on smoking status. *Leukemia & lymphoma*, 53(4), 681-687.
53. Kohler, J. A., Moon, R. J., Wright, S., Willows, E., & Davies, J. H. (2011). Increased adiposity and altered adipocyte function in female survivors of childhood acute lymphoblastic leukaemia treated without cranial radiation. *Hormone Research in Paediatrics*, 75(6), 433-440.
54. Krajcinovic, M., Labuda, D., Richer, C., Karimi, S., & Sinnett, D. (1999). Susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia: influence of CYP1A1, CYP2D6, GSTM1, and GSTT1 genetic polymorphisms. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 93(5), 1496-1501.
55. Lambert, S. A., Abraham, G., & Inouye, M. (2019). Towards clinical utility of polygenic risk scores. *Human molecular genetics*, 28(R2), R133-R142.
56. Landi, A., Bourdeleau, P., Eisinger, E., & Lehucher-Michel, M. P. (2006). Expositions aux facteurs professionnels et environnementaux des leucémies aiguës de l'adulte: résultats d'une étude descriptive. *Archives des Maladies Professionnelles et de l'Environnement*, 67(2), 312.
57. Lane, S. W., Scadden, D. T., & Gilliland, D. G. (2009). The leukemic stem cell niche: current concepts and therapeutic opportunities. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 114(6), 1150-1157.
58. Lu, J., Zhao, Q., Zhai, Y. J., He, H. R., Yang, L. H., Gao, F., ... & Ma, X. C. (2015). Genetic polymorphisms of CYP1A1 and risk of leukemia: a meta-analysis. *OncoTargets and therapy*, 8, 2883.

59. 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 cytogenetique hematologique (GFCH). In *Annales de Biologie Clinique* (Vol. 74, No. 5, pp. 535-546).
60. Mahfoudhi, E. (2016). *Rôle de deux supresseurs de tumeurs TET2 et P53 dans un contexte hématopoïétique* (Doctoral dissertation, Université Paris-Saclay).
61. Majumdar, S., Mondal, B. C., Ghosh, M., Dey, S., Mukhopadhyay, A., Chandra, S., & Dasgupta, U. B. (2008). Association of cytochrome P450, glutathione S-transferase and N-acetyl transferase 2 gene polymorphisms with incidence of acute myeloid leukemia. *European Journal of Cancer Prevention*, 125-132.
62. 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.
63. Martinaud, C., Desterke, C., & Le Bousse-Kerdilès, M. C. (2017). Physiopathologie des néoplasies myéloprolifératives; quand le microenvironnement s'enflamme!. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2017(492), 41-50.
64. Mauzon, M. (2011). *Les cellules souches hématopoïétiques: définition, origines et principales utilisations thérapeutiques* (Doctoral dissertation, Thèse de sciences biologie cellulaire).
65. Maynadié, M., & Troussard, X. (2015). Épidémiologie des leucémies aiguës. *Revue francophone des laboratoires*, 2015(471), 29-33.
66. McKenzie, S. B. (2005). Advances in understanding the biology and genetics of acute myelocytic leukemia. *American Society for Clinical Laboratory Science*, 18(1), 28-37.
67. Miao, L. F., Ye, X. H., & He, X. F. (2020). Individual and combined effects of GSTM1, GSTT1, and GSTP1 polymorphisms on breast cancer risk: A meta-analysis and re-analysis of systematic meta-analyses. *PloS one*, 15(3), e0216147.
68. Miguet, L., Pacaud, K., Felden, C., Hugel, B., Martinez, M. C., Freyssinet, J. M., ... & Mauvieux, L. (2006). Proteomic analysis of malignant lymphocyte membrane microparticles using double ionization coverage optimization. *Proteomics*, 6(1), 153-171.
69. Mugneret, F., & Charrin, C. (2002). Cytogénétique conventionnelle et moléculaire des leucémies aiguës. *Revue française des laboratoires*, 2002(344), 31-40.

70. Nelson, D. R., Koymans, L., Kamataki, T., Stegeman, J. J., Feyereisen, R., Waxman, D. J., ... & Nebert, D. W. (1996). P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature. *Pharmacogenetics*, 6(1), 1-42.
71. Ortiz De Montellano, P. R., (2004). Human Cytochrome P450 Enzymes : Cytochrome P450 Structure, Mechanism and Biochemistry. 3^{ième} édition. *Springer-Verlag, New York*. 689p. ISBN: 0-3064-8324-6.
72. Ouerhani, S., Cherif, N., Bahri, I., Safra, I., Menif, S., & Abbes, S. (2013). Genetic polymorphisms of NQO1, CYP1A1 and TPMT and susceptibility to acute lymphoblastic leukemia in a Tunisian population. *Molecular biology reports*, 40(2), 1307-1314.
73. Palis, J. (2014). Primitive and definitive erythropoiesis in mammals. *Frontiers in physiology*, 5, 3.
74. Peng, M. L., Tsai, Y. Y., Chiang, C. C., Huang, Y. C., Chou, M. C., Yeh, K. T., ... & Cheng, Y. W. (2012). CYP1A1 protein activity is associated with allelic variation in pterygium tissues and cells. *Molecular Vision*, 18, 1937.
75. Preudhomme, C. (2002). Biologie moléculaire et leucémies aiguës. *Revue Française des Laboratoires*, 2002(344), 41-46.
76. Provan D., Gibben J. (2005). *Molecular Hematology*, Second edition, Blackwell Publishing. ISBN: 1-4051-1255-7.
77. Pui, C. H., & Evans, W. E. (2006). Treatment of acute lymphoblastic leukemia. *New England Journal of Medicine*, 354(2), 166-178.
78. 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.
79. Rieger, M. A., & Schroeder, T. (2012). Hematopoiesis. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 4(12), a008250.
80. Rowley, J. D. (2000). Molecular genetics in acute leukemia. *Leukemia*, 14(3), 513-517.
81. Salah, N. B., El Borgi, W., Chelbi, A., Lakhal, F. B., Gouider, E., Skhiri, H. A., & Hafsia, R. (2014). Diagnostic de lignée dans les leucémies aiguës: confrontation entre cytologie et immunophénotypage. *Pathologie Biologie*, 62(6), 345-347.
82. 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.
83. Sébahoun, G. (2005). *Hématologie clinique et biologique*. Wolters Kluwer France.

84. Shah, P. P., Saurabh, K., Pant, M. C., Mathur, N., & Parmar, D. (2009). Evidence for increased cytochrome P450 1A1 expression in blood lymphocytes of lung cancer patients. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 670(1-2), 74-78.
85. Shields, P. G. (1994). Pharmacogenetics: detecting sensitive populations. *Environmental Health Perspectives*, 102(suppl 11), 81-87.
86. Shelby, L. B., & Vaske, J. J. (2008). Understanding meta-analysis: A review of the methodological literature. *Leisure Sciences*, 30(2), 96-110.
87. Sherwood, L. (2015). *Physiologie humaine*. De Boeck Supérieur.
88. Shimizu, Y., Nakatsuru, Y., Ichinose, M., Takahashi, Y., Kume, H., Mimura, J., ... & Ishikawa, T. (2000). Benzo [a] pyrene carcinogenicity is lost in mice lacking the aryl hydrocarbon receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(2), 779-782.
89. Shizuru, J. A., Negrin, R. S., & Weissman, I. L. (2005). Hematopoietic stem and progenitor cells: clinical and preclinical regeneration of the hematolymphoid system. *Annu. Rev. Med.*, 56, 509-538.
90. Solary, É. (2014). Une approche réductionniste du cancer. *médecine/sciences*, 30(6-7), 683-687.
91. Suneetha, K. J., Nancy, K. N., Rajalekshmy, K. R., Rama, R., Sagar, T. G., & Rajkumar, T. (2011). Role of glutathione-s-transferase and CYP1A1FNx012A polymorphisms in the therapy outcome of south Indian acute lymphoblastic leukemia patients. *Indian Journal of Medical and Paediatric Oncology*, 32(01), 25-29.
92. Swinney, R. M., Beuten, J., Collier, A. B., Chen, T. T. L., Winick, N. J., Pollock, B. H., & Tomlinson, G. E. (2011). Polymorphisms in CYP1A1 and ethnic-specific susceptibility to acute lymphoblastic leukemia in children. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 20(7), 1537-1542.
93. Takahashi, S. (2011). Current findings for recurring mutations in acute myeloid leukemia. *Journal of hematology & oncology*, 4(1), 1-11.
94. Thomas, X. (2002). Nouvelles approches thérapeutiques des leucémies aiguës de l'adulte. *Revue Francaise des Laboratoires*, 2002(344), 55-65.
95. Thomas, X., & Thiebaut, A. (2004). Greffe allogénique dans les leucémies aiguës de l'adulte: analyse au long cours. *Hématologie*, 10(3), 211-224.

96. 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.
97. Tortora, G. J., & Derrickson, B. (2017). *Manuel d'anatomie et de physiologie humaines*. De Boeck supérieur.
98. Vakharia, D. D., Liu, N., Pause, R., Fasco, M., Bessette, E., Zhang, Q. Y., & Kaminsky, L. S. (2001). Polycyclic aromatic hydrocarbon/metal mixtures: effect on PAH induction of CYP1A1 in human HEPG2 cells. *Drug Metabolism and Disposition*, 29(7), 999-1006.
99. Valensi, F. (2002). Classification des leucémies aiguës: nouvelles propositions de l'oms (Organisation Mondiale de la Santé). *Revue Française des Laboratoires*, 2002(344), 19-24.
100. Vardiman, J. W., Thiele, J., Arber, D. A., Brunning, R. D., Borowitz, M. J., Porwit, A., ... & Bloomfield, C. D. (2009). The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 114(5), 937-951.
101. 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.
102. Williams, J. A., Martin, F. L., Muir, G. H., Hewer, A., Grover, P. L., & Phillips, D. H. (2000). Metabolic activation of carcinogens and expression of various cytochromes P450 in human prostate tissue. *Carcinogenesis*, 21(9), 1683-1689.
103. Wintrobe, M. M. (2008). *Wintrobe's clinical hematology* (Vol. 1). Lippincott Williams & Wilkins.
104. Wu, M., Kwon, H. Y., Rattis, F., Blum, J., Zhao, C., Ashkenazi, R., ... & Reya, T. (2007). Imaging hematopoietic precursor division in real time. *Cell stem cell*, 1(5), 541-554.
105. Yamaguti, G. G., Lourenço, G. J., Silveira, V. S., Tone, L. G., Lopes, L. F., & Lima, C. S. (2010). Increased risk for acute Lymphoblastic Leukemia in children with cytochrome P450 A1 (cyp1a1)-and Nad (p) h: quinone Oxidoreductase 1 (nqo1)-inherited gene variants. *Acta haematologica*, 124(3), 182-184.

106. Zanger, U. M., & Schwab, M. (2013). Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacology & therapeutics*, 138(1), 103-141.
107. Zuckerman, T., Ganzel, C., Tallman, M. S., & Rowe, J. M. (2012). How I treat hematologic emergencies in adults with acute leukemia. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 120(10), 1993-2002.

Annexes

Annexes I : classification des leucémies aiguës

Tableau I. Classification FAB des leucémies aiguës (Valensi, 2002).

Type de leucémie	Sous-type	Caractéristiques
Leucémie Aigue Myéloblastique	LAM 0	Les blastes ne sont pas classables sur les seuls critères morphologiques et la MPO est négative. Seul, le phénotype permet de classer les blastes dans cette catégorie en montrant, en l'absence de marqueurs lymphoïdes, la présence de marqueurs myéloïdes.
	LAM 1	Blastose médullaire de type myéloblastique avec moins de 10% de la maturation granuleuse.
	LAM 2	Blastose médullaire de type myéloblastique avec plus de 10% de maturation granuleuse présentant ou non des signes de dysgranulopoïèse.
	LAM 3	Leucémie aiguë promyélocytaire. - Forme classique : les blastes sont de taille variable avec un noyau réniforme. Le cytoplasme est basophile et comporte soit de nombreuses granulations azurophiles, soit de volumineuses granulations foncées soit de nombreux corps d'Auer en fagots. - Forme variante : les blastes sont peu ou agranulaires à noyau en bissac ; quelques blastes à corps d'Auer ou à grosses granulations sont présents en nombre variable.
	LAM 4	Elle se définit par la présence conjointe de blastes appartenant à la lignée granuleuse et à la lignée monocytaire (> 20% de blastes). Il existe comme dans la LAM2 une maturation granuleuse de plus de 10% de morphologie normale ou dysplasique. LAM4 éosino : se caractérise par une maturation granuleuse constituée par des éosinophiles anormaux ; elle est corrélée à l'existence d'une anomalie cytogénétique caractéristique.
	LAM 5	Plus de 90% des blastes appartiennent à la lignée monocytaire. Ce sont soit des éléments peu différenciés dans LAM5a (monoblastes) soit des éléments plus différenciés dans le LAM5b (promonocytes, monocytes).
	LAM 6	Erythroleucémie : Elle se définit par une hyperplasie érythroblastique dépassant 50% et la présence d'au moins 30% de blastes myéloïdes parmi les cellules granuleuses.
LAM 7	La moelle est souvent hypocellulaire avec des signes de myélofibrose. Les blastes sont parfois identifiables par leur morphologie rappelant la lignée mégacaryocytaire mais souvent, ils présentent un aspect indifférencié ou lymphoïde. Le phénotype est indispensable pour affirmer cette catégorie.	
Leucémie Aigue Lymphoblastique	LAL L1	Forme la plus fréquente chez l'enfant, elle représente 80 à 85% des LAL. Elle est définie par la présence de blastes de petite taille avec un rapport nucléocytoplasmique élevé et une chromatine finement dispersée. Les nucléoles sont peu ou pas visibles.
	LAL L2	Elle correspond à 15 à 20% des LAL de l'enfant et est majoritaire chez l'adulte. Elle est définie par la présence de blastes de taille hétérogène à cytoplasme abondant, à noyau le plus souvent irrégulier et comportant un ou plusieurs volumineux nucléoles.
	LAL L3	La morphologie est identique à celle du lymphome de Burkitt. Les blastes sont de taille moyenne, constituant une population homogène au cytoplasme abondant très basophile, parfois vacuolisé. Un ou plusieurs volumineux nucléoles sont présents.

Tableau II. Classification OMS des leucémies aiguës (Vardiman 2010).

Type de leucémie	Sous-type	
Leucémie Aigüe Myéloblastique	LAM avec anomalies cytogénétiques récurrentes	LAM avec t (8;21) (q22; q22)
		LAM avec t (15;17) (q22;q12) et ses variants.
		LAM avec éosinophiles médullaires anormaux et anomalies sur le chromosome 16 : inv(16) (p13q22) ou t (16;16) (p13;q22)
		LAM avec anomalie chromosomique 11q23
	LAM avec dysplasie multi lignées	Faisant suite à un syndrome myélodysplasique ou un syndrome myéloprolifératif/dysplasique
		Sans antécédent de myélodysplasie
	LAM post chimiothérapie	Liée aux agents alkylants
		Liée aux inhibiteurs de topoisomérase type II (quelques unes pouvant être lymphoïdes)
		Liées à d'autres composants
	LAM sans catégorisation particulière	LAM avec différenciation minimale
		LAM sans maturation
		LAM avec maturation
		LA myélomonocytaire
		LA monoblastique ou monocytaire
		LA érythroïde
LA mégacaryoblastique		
LAM à composante basophile		
LA avec myélofibrose		
Leucémie Aigüe Lymphoblastique	Leucémie aiguë lymphoblastique à précurseurs B / lymphome lymphoblastique B	
	Leucémie aiguë lymphoblastique à précurseurs T / lymphome lymphoblastique T	

Annexe I : consentement pour utilisation de données biologiques.

Melles BADECHE Sara et SADOUNI Yousra

Étudiant(e)(s) Master 2 Physiologie Cellulaire et Physio-Pathologie

Département de Biochimie - Biologie Cellulaire et Moléculaire - Faculté SNV

Université frères Mentouri - Constantine I

Je soussignée : née le/...../..... à

Certifie avoir reçu de **M^{elles} BADECHE Sara et SADOUNI Yousra** une information exhaustive et compréhensible concernant les causes possibles de mon problème de santé. J'ai eu la possibilité de poser toutes les questions que je souhaitais.

J'ai compris qu'une analyse génétique m'est proposée à partir d'un prélèvement sanguin duquel mon ADN sera extrait. Cette analyse a pour but de déterminer si mon génome présente une anomalie ou une variation en rapport avec mon problème de santé. J'ai bien compris les implications possibles de cette étude et je pourrais obtenir, si je le souhaitais, toute information complémentaire.

Les résultats de ces analyses me seront transmis si je le désire. Ils resteront confidentiels et ne pourront être communiqués qu'avec mon autorisation exclusive.

Je peux à tout moment décider de ne pas poursuivre cette démarche. Les données génétiques et le matériel biologique me concernant pourront être détruits à ma demande.

J'accepte que mes échantillons biologiques soient conservés et utilisés à des fins de recherche médicale et/ou biologique sans restriction sous couvert d'anonymat.

Fait à le/...../.....

Signature de l'intéressé

Signature du chercheur

- Consentement établi selon la déclaration d'Helsinki : Principes éthiques applicables aux recherches médicales sur des sujets humains. 1964.
- En accord avec les recommandations du conseil national de l'éthique des sciences de la santé Algérien.

Fiche de renseignement

Patient N° :

Nom : Prénom : Sexe :

Âge : Poids et taille :

Adresse : Profession :

Type de leucémie :

Date du diagnostic et motif d'hospitalisation :

Traitement : Durée du traitement :

État du patient :

Rémission complète :

Poursuite évolutive :

Rechute, date de rechute :

Si autre cancer :

Diagnostiqué le :

Siège:

Si patient décédé :

Date :

Cause du décès (en clair) :

Présence de cancers dans la famille:

Leucémie :

Autre cancer :

Type de cancer :

Présence de maladie génétique dans la famille :

Impliquant des anomalies cytogénétiques :

Ne présentant pas d'anomalie cytogénétiques :

Type de maladie génétique :

SYMPTOMATOLOGIE CLINIQUE			
Signes d'insuffisance médullaire	Signes anémiques	Pâleur	
		Asthénie	
		Tachycardie	
		Dyspnée d'effort	
	Signes infectieux	Fièvres (en rapport avec la neutropénie)	
		Foyers infectieux	Bucco-pharyngées
			Génitaux
			Anaux
			Autres
	Fièvre leucémique		
	Signes hémorragiques	Purpura ecchymotique	
		Purpura pétéchial	
Hémorragies des muqueuses			
Hémorragies viscérales			
Signes tumoraux	Adénopathie	Adénopathies superficielles	
		Adénopathies médiastinales	
		Adénopathies retro-peritoniales	
	Douleurs	Douleurs osseuses	
		Douleurs ostéo-articulaires	
	Splénomégalie	Splénomégalie modérée	
		Splénomégalie importante	
	Hépatomégalie	hépatomégalie modérée (stade 1, 2,3)	
		hépatomégalie importante (stade 4,5)	
	Hypertrophie ganglionnaire diffuse		
	Hypertrophie amygdalienne		
	Hypertrophie des glandes salivaires		
Méningites			
Atteinte des testicules			

Autres remarques :

ANALYSES BIOLOGIQUES

Examen	Type cellulaire	Valeurs normales	observation
Hémogramme	Polynucléaires neutrophiles	2 à 7,5 x 10 ⁹ /l (45-70%)	
	Polynucléaires éosinophiles	0,04 à 0,5 x 10 ⁹ /l (1-3%)	
	Polynucléaires basophiles	0,01 à 0,1 x 10 ⁹ /l (0-0,8%)	
	Lymphocyte	1,5 à 4 x 10 ⁹ /l (20-40%)	
	Monocyte	0,2 à 1 x 10 ⁹ /l (2-10%)	
	Plaquettes	200000 à 500000 /ml	
	MYELEMIE		
	BLASTOSE		
	Type de myélémie		
	Type de blastose		
Medullogramme	Myéloblastes	0,1 à 3,5 %	
	Promyélocytes	0,5 à 5 %	
	Myélocytes Neutrophiles	5 à 20 %	
	Myélocytes éosinophiles	0,1 à 3 %	
	Myélocytes basophiles	0 à 0,05 %	
	Métamyélocytes	10 à 30 %	
	Polynucléaires neutrophiles	7 à 25 %	
	Polynucléaires éosinophiles	0,2 à 3 %	
	Polynucléaires basophiles	0 à 0,5 %	
	Proérythroblastes	0,5 à 3 %	
	Erythroblastes basophiles	10 à 30 %	
	Érythroblastes polychromatophiles	10 à 30 %	
	Erythroblastes acidophiles	10 à 30 %	
	Lymphocytes	5 à 30 %	
	Plasmocytes	0,1 à 3,5 %	
	Monocytes	0 à 3 %	
	Mégacaryocytes	++	
	Conclusion		
Cytologie	Lignée proliférative		
	Rapport nucléo-cytoplasmique		
	Chromatine	Fine	
		Condensé (en motte)	
	Nucléole	Nombre	
		Aspect	
	Contour nucléaire	Régulier	
		Irrégulier	
	Basophilie cytoplasmique	Modérée	
		Importante	
	Vacuole cytoplasmique	Présente	
		Absentes	
		Nombre	
	Granulations lymphocytaires		
	Granulations azurophile		
	Coloration PAS		
	Bâtonnet d'AUER		
	Peroxydase		
	Noir de soudan		
	Ombre de Gumprecht		
Analyses biochimiques	Uricémie	0,2-0,4 g/l	
	Hémoglobine	13-17 g/l	
	Phosphatase alcaline leucocytaire	40-150 UI/ml	

	Vitamine B 12	160-900 mg/l	
	gammaglobuline		
	LDH	240 UI/l	
	Glycémie	0,6-0,9 g/l	
	Bilirubine	<10 mg/l	
	Créatinine	5-10 mg/l	
	Albumine	36-45 g/l	
	Protéine sérique	61-76 g/l	
	CPK	< 70 UI/l	
	Na ⁺ / K ⁺	3,15-3,47 mg/l / 0,15-0,21 mg/l	
	Acide urique	40-60 mg/l	
	TGO/TGP	< 40UI /ml /< 45UI /ml.	
	Analyse hématologique	Vitesse de sédimentation	5-15 mm/h
Hématocrite		0,38 – 0,50 (38 à 50 %)	
WBC		4000-10000 mm ³	
RBC		4-5,5 million /ml	
MCV		85-95 μ ³	
MCH		28-32 pg	
MCHC		32-43 %	
Microcytose/macrocytose			
Normochromie/hypochromie			
Bilans Pré-thérapeutique	Système ABO		
	Rhésus		
	Bilan cardiaque		
	Bilan hépatique		
	Uricémie		
	T. Quick (Tx Prothrombine)	> 65 ± 5 %	
	T. Céphaline	/	

Compte rendu clinique et biologique :

Cytologie :

Cytogénétique :

Conclusion générale :



PRISMA 2020 Checklist

Section and Topic	Item #	Checklist item	Location where item is reported
TITLE			
Title	1	Identify the report as a systematic review.	
ABSTRACT			
Abstract	2	See the PRISMA 2020 for Abstracts checklist.	
INTRODUCTION			
Rationale	3	Describe the rationale for the review in the context of existing knowledge.	
Objectives	4	Provide an explicit statement of the objective(s) or question(s) the review addresses.	
METHODS			
Eligibility criteria	5	Specify the inclusion and exclusion criteria for the review and how studies were grouped for the syntheses.	
Information sources	6	Specify all databases, registers, websites, organisations, reference lists and other sources searched or consulted to identify studies. Specify the date when each source was last searched or consulted.	
Search strategy	7	Present the full search strategies for all databases, registers and websites, including any filters and limits used.	
Selection process	8	Specify the methods used to decide whether a study met the inclusion criteria of the review, including how many reviewers screened each record and each report retrieved, whether they worked independently, and if applicable, details of automation tools used in the process.	
Data collection process	9	Specify the methods used to collect data from reports, including how many reviewers collected data from each report, whether they worked independently, any processes for obtaining or confirming data from study investigators, and if applicable, details of automation tools used in the process.	
Data items	10a	List and define all outcomes for which data were sought. Specify whether all results that were compatible with each outcome domain in each study were sought (e.g. for all measures, time points, analyses), and if not, the methods used to decide which results to collect.	
	10b	List and define all other variables for which data were sought (e.g. participant and intervention characteristics, funding sources). Describe any assumptions made about any missing or unclear information.	
Study risk of bias assessment	11	Specify the methods used to assess risk of bias in the included studies, including details of the tool(s) used, how many reviewers assessed each study and whether they worked independently, and if applicable, details of automation tools used in the process.	
Effect measures	12	Specify for each outcome the effect measure(s) (e.g. risk ratio, mean difference) used in the synthesis or presentation of results.	
Synthesis methods	13a	Describe the processes used to decide which studies were eligible for each synthesis (e.g. tabulating the study intervention characteristics and comparing against the planned groups for each synthesis (item #5)).	
	13b	Describe any methods required to prepare the data for presentation or synthesis, such as handling of missing summary statistics, or data conversions.	
	13c	Describe any methods used to tabulate or visually display results of individual studies and syntheses.	
	13d	Describe any methods used to synthesize results and provide a rationale for the choice(s). If meta-analysis was performed, describe the model(s), method(s) to identify the presence and extent of statistical heterogeneity, and software package(s) used.	
	13e	Describe any methods used to explore possible causes of heterogeneity among study results (e.g. subgroup analysis, meta-regression).	
	13f	Describe any sensitivity analyses conducted to assess robustness of the synthesized results.	
Reporting bias assessment	14	Describe any methods used to assess risk of bias due to missing results in a synthesis (arising from reporting biases).	
Certainty assessment	15	Describe any methods used to assess certainty (or confidence) in the body of evidence for an outcome.	



PRISMA 2020 Checklist

Section and Topic	Item #	Checklist item	Location where item is reported
RESULTS			
Study selection	16a	Describe the results of the search and selection process, from the number of records identified in the search to the number of studies included in the review, ideally using a flow diagram.	
	16b	Cite studies that might appear to meet the inclusion criteria, but which were excluded, and explain why they were excluded.	
Study characteristics	17	Cite each included study and present its characteristics.	
Risk of bias in studies	18	Present assessments of risk of bias for each included study.	
Results of individual studies	19	For all outcomes, present, for each study: (a) summary statistics for each group (where appropriate) and (b) an effect estimate and its precision (e.g. confidence/credible interval), ideally using structured tables or plots.	
Results of syntheses	20a	For each synthesis, briefly summarise the characteristics and risk of bias among contributing studies.	
	20b	Present results of all statistical syntheses conducted. If meta-analysis was done, present for each the summary estimate and its precision (e.g. confidence/credible interval) and measures of statistical heterogeneity. If comparing groups, describe the direction of the effect.	
	20c	Present results of all investigations of possible causes of heterogeneity among study results.	
	20d	Present results of all sensitivity analyses conducted to assess the robustness of the synthesized results.	
Reporting biases	21	Present assessments of risk of bias due to missing results (arising from reporting biases) for each synthesis assessed.	
Certainty of evidence	22	Present assessments of certainty (or confidence) in the body of evidence for each outcome assessed.	
DISCUSSION			
Discussion	23a	Provide a general interpretation of the results in the context of other evidence.	
	23b	Discuss any limitations of the evidence included in the review.	
	23c	Discuss any limitations of the review processes used.	
	23d	Discuss implications of the results for practice, policy, and future research.	
OTHER INFORMATION			
Registration and protocol	24a	Provide registration information for the review, including register name and registration number, or state that the review was not registered.	
	24b	Indicate where the review protocol can be accessed, or state that a protocol was not prepared.	
	24c	Describe and explain any amendments to information provided at registration or in the protocol.	
Support	25	Describe sources of financial or non-financial support for the review, and the role of the funders or sponsors in the review.	
Competing interests	26	Declare any competing interests of review authors.	
Availability of data, code and other materials	27	Report which of the following are publicly available and where they can be found: template data collection forms; data extracted from included studies; data used for all analyses; analytic code; any other materials used in the review.	

From: Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ* 2021;372:n71. doi: 10.1136/bmj.n71

For more information, visit: <http://www.prisma-statement.org/>

Résumés

Genetic study of genes susceptibility to the onset of acute leukemia: molecular study and meta-analysis of the involvement of the T3801C polymorphism of the *CYP1A1* gene

Abstract:

Acute Leukemias (AL) are malignant hemopathies characterized by an intramedullary clonal proliferation and anarchic of abnormal hematopoietic stem cells whose process maturation is blocked at the blast stage. This results in an accumulation of these blasts in the marrow, in the blood, and possibly in other organs. This results in a deficit of cell production mature, hence anemia, neutropenia and thrombocytopenia, and their clinical consequences. They form a heterogeneous group of diseases differing in their clinical presentation, origin cells and by the molecular mechanisms involved in their pathogenesis. We distinguish according to the affected line Acute Myeloid Leukemia (AML) and Acute Lymphoid Leukemia (ALL). Acute leukemias remain relatively rare diseases encountered especially in the elderly. For AML and especially in children for ALL. Diagnosis and prognosis are based on examination morphology of blood and bone marrow blasts, immuno-phenotype and cytogenetic study and molecular. The research work carried out in recent years on acute leukemia, particularly in molecular genetics, have made it possible in recent years to make significant progress in the understanding of leukemogenesis, made it possible to identify prognostic markers resistance to treatment, relapse and survival, and thus contributed to improving the evaluation risk and therapeutic stratification.

Our study has two parts: the first consists of prospecting the involvement of polymorphism T3801C (rs4646903) of the *CYP1A1* gene (OMIM: 108330) as a risk factor in the occurrence of acute leukemia in the region of Constantine by carrying out a molecular case-control study. The second part, complementary to the first, consists in carrying out a genetic study (meta-analysis) summarizing all the case-control studies published previously on this subject, and aiming to better specify the effect of the same polymorphism of interest in the process of leukemogenesis.

The molecular case-control study involved 11 patients with acute leukemia (8 AML and 3 ALL) and 84 healthy controls. After DNA extraction, genotyping of the T3801C polymorphism of the gene *CYP1A1* by PCR-RFLP, monitoring of the comparison of genotypic and allelic frequencies between patients and controls, we found no statistically significant difference between the two cohorts. Similarly, the results of our meta-analysis revealed a lack of association between the gene polymorphism and the pathology studied.

Our results suggest that this T3801C polymorphism of the *CYP1A1* gene plays no role in the risk of developing acute leukemia and that carriers of the recessive allele (individuals with genotype TC and CC), assumed to be deleterious, do not present any statistically significant risk compared to those carrying the homozygous wild type (TT) genotype. The results obtained are only preliminary and cannot be taken as definitive.

To further clarify the impact of this polymorphism, further genetic research needs to be done. be conducted to assess the impact of gene-gene and gene-environment relationships that could lead to a better understanding of the basis of genetic susceptibility to acute leukemia.

Keywords: acute leukemias, genetic susceptibility, *CYP1A1* gene.

دراسة وراثية لقابلية الجينات لظهور ابيضاض الدم الحاد: دراسة جزيئية وتحليل تلوي لتورط تعدد الأشكال T3801C للجين *CYP1A1*

الملخص:

اللوكيميا الحادة (AL) هي اعتلالات دموية خبيثة تتميز بتكاثر نسيلي، داخل نخاع، وفوضوي للخلايا الجذعية المكونة للدم غير الطبيعية التي يتم حظر عملية نضجها في مرحلة الانفجار. وهذا يؤدي إلى تراكم هذه الانفجارات في نخاع، وفي الدم، وربما في الدم. ينتج عن هذا نقص في إنتاج الخلايا الناضجة، ومن ثم فقر الدم، قلة العدلات ونقص الصفائح وعواقبها السريرية. وهي تشكل مجموعة غير متجانسة من الأمراض تختلف في عرضها السريري، وأصلها الخلوي وفي الآليات الجزيئية المشاركة في عملية التسبب في المرض. ابيضاض الدم النخاعي الحاد (AML) وسرطان الدم الليمفاوي الحاد (ALL) يتم تمييزهما وفقًا للسلالة المصابة. لا تزال اللوكيميا الحادة من الأمراض النادرة نسبيًا المصادفة خاصة عند كبار السن من AML وخاصة عند الأطفال بالنسبة لـ ALL يعتمد التشخيص والتشخيص على الفحص المورفولوجي لورم الدم ونخاع العظام والنمط الظاهري المناعي والدراسة الخلوية والجزيئية. في السنوات الأخيرة على سرطان الدم الحاد، وخاصة في علم الوراثة الجزيئي، جعل من الممكن في السنوات الأخيرة إحراز تقدم كبير في فهم تكوّن اللوكيميا، وجعل من الممكن تحديد العلامات الإنذارية لمقاومة العلاج والانتكاس والبقاء، وبالتالي ساهم في تحسين تقييم المخاطر والطبقات العلاجية.

تتكون دراستنا من جزأين: الأول يتكون من التنقيب، من خلال إجراء دراسة جزيئية من نوع الحالة، ومشاركة تعدد الأشكال (T3801C (rs4646903 من الجين (OMIM: 108330) *CYP1A1*) كعامل خطر في حدوث سرطان الدم الحاد في منطقة قسنطينة. الجزء الثاني، المكمل للجزء الأول، يتكون من إجراء دراسة وراثية لنوع التحليل التلوي تلخص جميع دراسات الحالة والضوابط المنشورة سابقًا حول هذا الموضوع، وتهدف إلى تحديد تأثير نفس تعدد الأشكال موضع الاهتمام في عملية تكوّن الدم: تضمنت دراسة الحالات الجزيئية 11 مريضًا مصابًا بابيضاض الدم الحاد (8 AML و 3 LAL) و 84 عنصر تحكم سليم. بعد استخراج الحمض النووي، والتنميط الجيني لتعدد الأشكال T3801C للجين *CYP1A1* بواسطة PCR-RFLP، متبوعًا بمقارنة ترددات النمط الجيني والأليلي بين المرضى والضوابط، لم نجد فرقًا ذا دلالة إحصائية بين المجموعتين. وبالمثل، فإن نتائج التحليل التلوي الخاص بنا سلطت الضوء على عدم وجود ارتباط بين تعدد الأشكال الجيني وعلم الأمراض المدروس.

تشير نتائجنا إلى أن تعدد الأشكال T3801C للجين *CYP1A1* لا يلعب أي دور في خطر الإصابة بسرطان الدم الحاد وأن حاملي الأليل المتنحي (الأفراد الذين لديهم النمط الوراثي TC و CC)، المفترض أنهم ضارون، لا يمثلون أي مخاطر إحصائية كبيرة مقارنة بأولئك الذين تحمل النمط الجيني من النوع البري متماثل (TT).

النتائج التي تم الحصول عليها أولية فقط ولا يمكن اعتبارها نهائية فهم أفضل لأساس القابلية الجينية للإصابة بسرطان الدم الحاد.

الكلمات المفتاحية: ابيضاض الدم الحاد، القابلية الوراثية، جين *CYP1A1*.

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par : BADECHE Sara et SADOUNI Yousra

**Étude génétique des gènes de susceptibilité à la survenue des leucémies aiguës :
étude moléculaire et méta-analyse de l'implication du polymorphisme
T3801C du gène *CYP1A1***

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Physiologie Cellulaire et Physio-Pathologie

Les Leucémies Aiguës (LA) sont des hémopathies malignes caractérisées par une prolifération clonale, intramédullaire, et anarchique de cellules souches hématopoïétiques anormales dont le processus de maturation est bloqué au stade de blastes. Il en résulte une accumulation de ces blastes dans la moelle, dans le sang, et éventuellement dans d'autres organes. Il en résulte un déficit de production de cellules matures, d'où l'anémie, la neutropénie et la thrombopénie, et leurs conséquences cliniques. Elles forment un groupe hétérogène de maladies différant par leur présentation clinique, leur origine cellulaire et par les mécanismes moléculaires impliqués dans leur pathogenèse. On distingue en fonction de la lignée atteinte les Leucémies Aiguës Myéloïdes (LAM) et les Leucémies Aiguës Lymphoïdes (LAL). Les leucémies aiguës restent des maladies relativement rares rencontrées surtout chez le sujet âgé pour les LAM et surtout chez l'enfant pour les LAL. Le diagnostic et le pronostic reposent sur l'examen morphologique des blastes du sang et de la moelle osseuse, l'immuno-phénotype et l'étude cytogénétique et moléculaire. Les travaux de recherche effectués ces dernières années sur les leucémies aiguës, notamment en génétique moléculaire, ont permis ces dernières années de faire d'importants progrès dans la compréhension de la leucémogénèse, permettait d'identifier des marqueurs pronostiques de résistance aux traitements, de rechute et de survie, et ainsi contribué à améliorer l'évaluation du risque et la stratification thérapeutique.

Notre étude comporte deux volets : le premier consiste à prospecter, par la réalisation d'une étude moléculaire de type cas-témoins, l'implication du polymorphisme T3801C (*rs4646903*) du gène *CYP1A1* (OMIM : 108330) comme facteur de risque dans la survenue des leucémies aiguës dans la région de Constantine. Le deuxième volet, complémentaire au premier, consiste à réaliser une étude génétique de type méta-analyse résumant toutes les études cas-témoins publiées antérieurement sur ce sujet, et visant à mieux préciser l'effet du même polymorphisme d'intérêt dans le processus de leucémogénèse. L'étude moléculaire cas-témoin a porté sur 11 patients atteints d'une leucémie aiguë (8 LAM et 3 LAL) et 84 témoins sains. Après extraction de l'ADN, le génotypage du polymorphisme T3801C du gène *CYP1A1* par PCR-RFLP, suivi de la comparaison des fréquences génotypiques et alléliques entre patients et témoins, nous n'avons trouvé aucune différence statistiquement significative entre les deux cohortes. De même, les résultats de notre méta-analyse ont mis en évidence une absence d'association entre le polymorphisme génique et la pathologie étudiée.

Nos résultats suggèrent que ce polymorphisme T3801C du gène *CYP1A1* ne joue aucun rôle dans le risque de développer une leucémie aiguë et que les porteurs de l'allèle récessif (individus avec génotype TC et CC), supposé délétère, ne présentent aucun risque statistiquement significatif par rapport à ceux qui portent le génotype homozygote sauvage (TT).

Les résultats obtenus ne sont que préliminaires et ne peuvent être pris comme étant définitifs. Pour préciser davantage l'impact ce polymorphisme, des recherches génétiques supplémentaires doivent être menées pour évaluer l'impact des relations gène-gène et gène-environnement qui pourraient conduire à une meilleure compréhension des fondements de la susceptibilité génétique aux leucémies aiguës.

Mots-clés : leucémies aiguës, susceptibilité génétique, gène *CYP1A1*.

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

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

Examinateur 1 : ROUABAH Leila (PROF - Université frères Mentouri - Constantine 1).

Examinateur 2 : DAHMANI Dahbia Ines (MC-A - Université frères Mentouri - Constantine 1).