

République Algérienne Démocratique Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique

Université des Sciences et de la Technologie d'Oran « Mohamed Boudiaf »



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Génétique Moléculaire Appliquée

Spécialité : Génétique moléculaire et cellulaire **Option :** Biologie moléculaire

THESE

Présentée par

Mademoiselle DORGHAM Samia

En vue de l'obtention du

Diplôme de DOCTORAT

Thème

Etude de l'implication des polymorphismes des gènes *MTHFR*, *ABCB1* et *XRCC1* dans la survenue de la leucémie myéloïde chronique et exploration de la mutation *FLT3-ITD* dans la leucémie myéloïde aigüe dans la population Algérienne

Soutenue le 12 /04 /2015 devant la commission d'examen composée de:

<u>Qualité</u>	<u>Nom et Prénom</u>	<u>Grade</u>	<u>Etablissement d'origine</u>
Présidente	Mme SAIDI-MEHTAR Nadhira	Professeur	USTOMB(Oran)
Examinatrice	Mme MESLI Farida	Professeur	Université
Examinatrice	Mme ZEMANI-FODIL Faouzia	Maître de conf. A	d'OranUSTOMB(Oran)
Directrice de thèse	Mme ABERKANE Meriem Samia	Maître de conf. A	Université d'Oran
Co-Directeur de thèse	Mr BOUDJEMA Abdallah	Professeur	USTOMB(Oran)

Remerciements

Quelque que soit l'importance des remerciements adressés à ceux et à celles qui ont contribué directement ou indirectement à rendre possible ce travail, cela reste à mes yeux très insuffisant en égard à l'effort fourni. Cependant, c'est avec mon enthousiasme le plus vif et le plus sincère que je voudrais rendre hommage à tous ceux qui à leur manière m'ont aidé à mener à bien cette thèse.

Je voudrais alors exprimer ma profonde gratitude :

- A Mme MEHTAR Nadhira, professeur en biologie moléculaire à l'université des sciences et de la technologie d'Oran-Mohamed Boudiaf- (USTO-MB), qui m'a honoré en acceptant de juger ce travail et d'en présider le jury de soutenance. Que vous soyez assurée de mon entière reconnaissance.

- A Mme MESLI Farida, professeur à l'Université d'Oran et Mme ZEMANI-FODIL Faouzia, maître de conférences classe A à l'université des sciences et de la technologie d'Oran-Mohamed Boudiaf- (USTO-MB) que je remercie vivement d'avoir accepté de juger ce travail en tant qu'examinatrices. Je vous adresse mes sentiments les plus respectueux.

- A ma directrice de thèse, Mme ABERKANE Meriem Samia, maître de conférences classe A à l'université d'Oran que je remercie d'avoir cru en mes capacités ainsi que pour le temps et la patience qu'elle m'avait accordée tout au long de ces années. Je garderai dans mon cœur sa générosité, sa compréhension et son efficacité. Pour tout ce qu'elle m'avait donné, je la remercie très sincèrement.

- A mon co-directeur de thèse, Mr BOUDJEMAA Abdallah, professeur en biologie moléculaire à l'université des sciences et de la technologie d'Oran-Mohamed Boudiaf- (USTO-MB), à qui j'adresse mes remerciements les plus sincères pour avoir codirigé cette thèse et d'avoir partagé ses compétences.

- A Mr LOUHIBI Lotfi, à qui j'adresse mes plus vifs remerciements. Ses conseils, son enthousiasme et sa sympathie ont toujours été un très grand plaisir.

- A l'équipe d'hématologues ainsi que le personnel médical des services d'hématologie de : l'établissement hospitalier universitaire (EHU) d'Oran, centre hospitalier universitaire (CHU)

d'Oran, centre hospitalier universitaire (CHU) de Mascara, centre hospitalier universitaire (CHU) de Tlemcen, centre hospitalier universitaire (CHU) de Constantine. Je tiens à leur exprimer toute ma gratitude.

- Aux malades et leurs familles, qu'ils trouvent ici mes vifs remerciements et ma profonde compassion.

- A l'équipe du laboratoire de cytogénétique du département d'anthropologie et de biologie animale de l'université Autonome de Barcelone. Même si je n'ai pas eu la possibilité d'inclure dans cette présente thèse le travail effectué au sein de leur laboratoire, je tiens à leur adresser mes plus profonds et sincères remerciements, pour m'avoir accueillie chaleureusement dans leur laboratoire et pour m'avoir initiée et appris les techniques de cytogénétique.

- A mes parents que je ne saurai jamais remercier assez. Je ne peux que leur dire: merci de m'avoir supportée, encouragée et d'avoir fait de moi ce que je suis.

- Et enfin, à mes « compagnes de galère » qui sauront se reconnaître. Je tiens à les remercier pour cette amitié partagée.

*A mes parents, ma famille,
proches et amis.....*

Résumé

Les leucémies sont des proliférations malignes des cellules souches hématopoïétiques et elles sont réparties en différentes classes dont la leucémie myéloïde chronique (LMC) qui est un syndrome myéloprolifératif caractérisé par une translocation chromosomique t(9, 22). Certains polymorphismes génétiques ont été incriminés dans la susceptibilité génétique individuelle à développer cette pathologie, bien que les études qui s'y sont intéressées ne soient pas nombreuses.

Dans la première partie de notre étude, trois gènes ont été explorés dans cette même optique: *MTHFR* qui code pour une protéine clé du métabolisme des folates, *ABCBI* qui code pour une glycoprotéine régulant l'intrusion et l'extrusion des agents carcinogènes de la cellule et enfin *XRCCI* codant pour une protéine intervenant dans le système de réparation de l'ADN par excision de base. Par le biais d'une étude cas/ témoin englobant 148 témoins sains et 90 cas LMC, nous avons recherché des associations entre les polymorphismes de ces trois gènes et le risque de survenue de la LMC. Le génotypage a été réalisé par discrimination allélique TaqMan concernant les polymorphismes 677C>T et 1298A>C de *MTHFR* et 3435C>T de *ABCBI*, et par technique PCR-RFLP pour le polymorphisme 1196G>A de *XRCCI*. L'évaluation de l'association a été estimée en calculant l'odds ratio (OR) avec un intervalle de confiance de 95%. Des associations significatives ont été rapportées concernant l'allèle 677T du polymorphisme 677C>T et l'allèle 1298C du polymorphisme 1298C>A du gène *MTHFR* (respectivement, $p=1 \times 10^{-6}$; OR= 6,77 [4,22-10,86] et $p=9 \times 10^{-6}$; OR= 2,65 [1,71- 4,10]). De plus, une augmentation du risque de LMC a été relevée pour les haplotypes: 677T/1298A ($p=0,007$; 2,57 [1,26-5,24]), et 677T/1298C ($p=5 \times 10^{-6}$; OR =6,91[2,76-17,28]). Une association a été également retrouvée avec l'allèle 1196A du polymorphisme 1196G>A de *XRCCI* ($p=0,006$; OR=1,80 [1,17-2,76]). Par ailleurs, aucune différence significative n'a été observée entre les cas et les témoins pour le polymorphisme 3435C>T de *ABCBI*.

La seconde partie de cette étude, s'intéresse à la leucémie myéloïde aigue (LAM), qui représente un groupe hétérogène dans lesquelles des mutations sont responsables d'altérations de la croissance, de la différenciation et de la prolifération d'une cellule primitive. Parmi ces altérations, la duplication en tandem (ITD) du gène *FLT3* qui code pour un récepteur de tyrosine kinase qui est un marqueur indispensable pour la classification des LAM selon les critères de l'OMS et l'établissement du diagnostic. Cette mutation a été recherchée par PCR chez 50 cas de LAM dans le but de mettre au point en routine cette détection indispensable au pronostic des LAM au niveau d'une structure hospitalière. Seuls 5 cas présentaient cette duplication parmi les malades. Une étude de corrélation entre présence de la FLT3-ITD et pronostic de la maladie est dorénavant possible dans cette structure et permettra à l'avenir une meilleure prise en charge clinique des patients.

Mots clés: LMC, *MTHFR*, *ABCBI*, *XRCCI*, LAM, *FLT3*, polymorphisme, mutation, pronostic, Algérie.

Abstract

Leukemia is a malignant proliferation of hematopoietic stem cells it is divided into different classes including chronic myeloid leukemia (CML). It is a myeloproliferative disorder characterized by chromosomes translocation t(9, 22). Some of genetic polymorphisms have been implicated in the individual genetic susceptibility to CML, although studies have focused therein are not numerous.

In the first part of our study, three genes were investigated in the same optical : *MTHFR* which encodes a key protein in folat metabolism, *ABCB1* which encodes a glycoprotein regulating the intrusion and extrusion carcinogens cell and finally *XRCC1* that encodes a protein involved in base excision DNA repair system. Through a case / control study including 148 healthy controls and 90 CML cases, we researched associations between polymorphisms of these three genes and the risk of CML development. The Genotyping was performed by TaqMan allelic discrimination concerning polymorphisms 677C> T and 1298A> C of *MTHFR* gene and 3435C> T of *ABCB1* gene, and by PCR-RFLP for the polymorphism 1196G> A of *XRCC1* gene. The evaluation of the association was estimated by calculating the odds ratio (OR) with 95% confidence interval. Significant associations were reported about allele 677T of 677C> T polymorphism and 1298C allele of 1298C> A polymorphism of the *MTHFR* gene (respectively, $p = 1 \text{ E-}6$; OR = 6.77 [4.22 -10.86] and $p = 9 \text{ E-}6$; OR = 2.65 [1.71- 4.10]). In addition, an increased risk of CML was recorded for haplotypes: 677T / 1298A ($p = 0.007$; OR= 2 57 [1.26 -5.24]) and 677T / 1298C ($P = 5 \text{ E-}6$; OR = 6.91 [2.76 -17.28]). An association was also found with the 1196A allele of 1196G> A polymorphism of *XRCC1* ($p = 0.006$; OR = 1.80 [1.17 -2.76]). Furthermore, no significant differences were observed between cases and controls for 3435C> T polymorphism of *ABCB1*.

The second part of this study deals with acute myeloid leukemia (AML), which represents a heterogeneous group in which mutations are responsible of alterations in the growth, differentiation and proliferation of primitive cells. Among these changes, the tandem duplication (ITD) of the *FLT3* gene, encoding a tyrosine kinase receptor; that is an essential marker for the AML classification according to WHO criteria and diagnosis. This mutation was investigated by PCR in 50 cases of AML with the aim to develop as routine for this indispensable detection in AML prognosis at hospital structure. Only 5 cases had this duplication among cases. A correlation study between presence of the FLT3-ITD and prognosis of AML is now possible in this structure, which will allow better clinical management of patients.

Key words:CML, *MTHFR*, *ABCB1*, *XRCC1*, AML, *FLT3*, polymorphisms, mutation, pronostic, Algeria.

الملخص

سرطانات الدم تنجم عن انتشار خبيث للخلايا الجذعية المسؤولة عن إنتاج خلايا الدم وتم تقسيمها إلى فئات مختلفة من أهمها سرطان الدم النخاعي المزمن (LMC). هذا النوع هو عبارة عن متلازمة خلل التنسج النقوي الذي يتميز بتواجد ازفاء صبغي بين الكروموسومين 9 و 22. يمكن لتعدد أشكال النيوكليوتيدة أن تؤثر على القابلية الوراثية الفردية للإصابة بهذا المرض و لكن رغم ذلك لا يوجد العديد من الدراسات المهمة بذلك. تتكون هذه الدراسة من شقين. في الشق الأول تم دراسة ثلاثة جينات: الجين *MTHFR* الذي يشفر لبروتين رئيسي في عملية أيض حمض الفوليك، الجين *ABCB1* الذي يشفر لبروتين سكري المسؤول عن تنظيم التسلسل وقذف المواد المسرطنة من الخلية وأخيرا الجين *XRCC1* المشفر لبروتين مشاركة في إصلاح الحمض النووي.

عن طريق دراسة حالة/شاهد التي شملت 90 مريض مصابين بسرطان الدم النخاعي المزمن و 148 شخص عادي ، سعينا لتقييم مدى تأثير تعدد أشكال النيوكليوتيدة للجينات الثلاث وخطر الإصابة بسرطان الدم النخاعي المزمن. تم تحديد النمط الجيني باستخدام تقنية بالنسبة لتعدد أشكال النيوكليوتيدة $677C>T$ و $1298A>C$ للجين *MTHFR* و $3435C>T$ للجين *ABCB1*، و تقنية PCR-RFLP ل $1196G>A$ للجين. تم تقييم العلاقة عن طريق حساب نسبة الأرجحية (OR) مع مجال الثقة 95%. أظهر التحليل الإحصائي وجود علاقات وثيقة بخصوص الأليلات $677T$ و $1298C$ للجين *MTHFR* (على التوالي:

$p=1 \text{ E-}6$; $OR= 6,77 [4,22-10,86]$ و $p=9 \text{ E-}6$; $OR= 2,65 [1,71- 4,10]$). بالإضافة لذلك، لوحظ زيادة خطر الإصابة ب LMC مع وجود النمط الفردي $1298A /677T$ ($p= 0.007$; $2,57 [1,26-5,24]$) و $1298C /677T$ ($p= 5 \text{ E-}6$; $OR =6,91 [2,76-17,28]$) .

تم العثور على وجود علاقة أيضا مع الأليل $1196 A$ للجين *XRCC1* ($p= 0,006$; $OR=1,80 [1,17-2,76]$) من جهة أخرى، لوحظ عدم وجود فرق ذات دلالة إحصائية بين الحالات والضوابط بالنسبة لتعدد أشكال النيوكليوتيدة $3435C>T$ للجين *ABCB1*.

يهتم الشق الثاني من هذه البحث بدراسة سرطان الدم النخاعي الحاد (LAM)، الذي يمثل مجموعة غير متجانسة بحيث يوجد الطفرات المسؤولة عن التغييرات في النمو، والتمايز وانتشار الخلايا البدائية. ومن بين هذه الطفرات ، الازدواجية جنباً للجنب (ITD) من الجين *FLT3* الذي يشفر مستقبلات التيروزين كيناز ؛ و التي تعتبر كعلامة أساسية لتصنيف LAM وفقاً لمعايير منظمة الصحة العالمية أو التشخيص. و قد تم البحث عن هذه الطفرة عن طريق تقنية PCR عند 50 حالة مصابة ب LAM و ذلك من أجل تطوير الكشف و جعله روتيني للتشخيص في المستشفى. يوجد 5 حالات فقط حاملين لهذه الازدواجية. ان دراسة العلاقة بين وجود *FLT3-ITD* والتشخيص لهذا المرض أصبح من الممكن اجراءه في المستشفى مما سيسمح لرعاية أفضل للمرضى في المستقبل.

الكلمات المفتاحية: LMC، *MTHFR*، *ABCB1*، *XRCC1*، *LAM*، *FLT3*، تعدد أشكال النيوكليوتيدة، طفرة، تشخيص، الجزائر.

Production scientifique

Ce travail de thèse a fait l'objet d'une publication et des communications suivantes :

Publication

DORGHAM S., ABERKANE MS., BOUGHRARA W., ANTAR SOLTAN B., MEHALHAL N., TOUHAMI H., SIDIMANSOUR N., MERAD BOUDIA N., LOUHIBI L., BOUDJEMA A. Association des polymorphismes du gène méthylène-tétrahydrofolate réductase avec la leucémie myéloïde chronique. Bulletin du cancer 2014, 101: 803-807.

Communications affichées

DORGHAM S., ABERKANE MS., BOUGHRARA W., BOUDJEMA A. Absence d'association entre le polymorphisme C3435T du gène MDR1 et le risque de survenue de la leucémie myéloïde chronique. 7èmes Assises de Génétique Humaine et Médicale – Bordeaux, 29-31 janvier 2014.

DORGHAM S., ABERKANE MS., BOUGHRARA W., BOUDJEMA A. Lack of association of MDR1 C3435T polymorphism with chronic myeloid leukemia. 5th Pan Arab Human Genetics Conference, Dubai (UAE), 17-19 November 2013.

DORGHAM S., ABERKANE MS., MOGHTIT FZ., LOUHIBI L., BOUDJEMA A. Association entre le polymorphisme R399Q du gène XRCC1 et le risque de survenue de la LMC. X^{es} journées internationales de cancérologie de Constantine (X^{es} JICC), 10-12 octobre 2014.

DORGHAM S., ABERKANE MS., MOGHTIT FZ., LOUHIBI L., BOUDJEMA. Association entre le polymorphisme R399Q du gène XRCC1 et le risque de survenue de la LMC. 2^{èmes} journées internationales d'oncologie médicale d'Oran, 07-09 novembre 2014.

Table des matières

Liste des figures	I
Liste des tableaux	II
Liste des annexes	III
Liste des abréviations	IV
Introduction	2
Revue Bibliographique	5
I Généralités	6
I.1 Le cancer.....	6
I.2 Les leucémies.....	7
I.2.1 L'hématopoïèse	7
I.2.2 La leucémogénese	9
II La leucémie myéloïde chronique	11
II.1 Définition de la leucémie myéloïde chronique (LMC).....	11
II.2 Biologie moléculaire de la LMC	12
II.2.1 Fonctions de la protéine Abl	12
II.2.2 Fonctions de la protéine Bcr	13
II.2.3 Anatomie moléculaire de la translocation Bcr-Abl	14
II.2 Diagnostic et traitement de la LMC	15
II.2.1 Diagnostic clinique	15
II.2.2 Diagnostic biologique	16
a-Hémogramme	16
b-Myélogramme	16
II.2.3 Diagnostic cytogénétique.....	17
a-Le caryotype	17
b-L' hybridation in situ fluorescente (FISH).....	17
II.2.4 Diagnostic de biologie moléculaire	18
II.2.5 Facteur pronostic.....	18
II.3 Traitement.....	19
II.5 Associations entre gènes et LMC	20
III La leucémie myéloïde aigue	22
III.1 Définition de la leucémie myéloïde aigue (LAM)	22
III.2 Le diagnostic de la LAM.....	22

III.2.1	Le diagnostic clinique et biologique des LAM	23
a-	Signes cliniques.....	23
b-	Éléments biologiques	23
III.2.2	Diagnostic cytogénétique et moléculaire.....	23
III.3	La classification des LAM	24
III.4	Pronostic des LAM.....	25
III.5	Traitement des LAM	26
IV	Les gènes explorés.....	28
IV.1	Le gène méthylène tétrahydrofolate réductase (<i>MTHFR</i>)	28
IV.1.1	Description du gène <i>MTHFR</i>	28
IV.1.2	Structure et fonction de la protéine MTHFR.....	28
IV.1.3	Les polymorphismes du gène <i>MTHFR</i>	30
a-	Le polymorphisme 677C>T (rs1801133, Ala222Val)	30
b-	Le polymorphisme 1298A>C (rs1801131, Glu429 Ala)	31
c-	Le polymorphisme 1793G>A (rs2274976, Arg 594Glu).....	31
IV.1.4	Répercussions biochimiques de l'altération de MTHFR	32
IV.1.5	Association <i>MTHFR</i> et pathologies	33
IV.2	Le gène ATP Binding Cassette B1 (<i>ABCB1</i>)	36
IV.2.1	Structure du gène <i>ABCB1</i>	36
IV.2.2	Structure et fonction de la protéine ABCB1	36
IV.2.3	Les polymorphismes du gène ABCB1	39
a-	Le polymorphisme 1236C>T (rs1128503, Gly412Gly)	39
b-	Le polymorphisme 2677G>T/A (rs2032582, Ser893Ala/Thr)	40
c-	Le polymorphisme 3435C>T (rs1045642, Ile1145Ile).....	40
IV.2.3	Effet de la protéine ABCB1 et son association avec certaines pathologies	41
IV.3	Le gène X-ray Repair Cross Complementing Group 1 (<i>XRCC1</i>).....	43
IV.3.1	Description du gène <i>XRCC1</i>	43
IV.3.2	Structure et fonction de la protéine XRCC1	43
IV.3.3	Système de réparation d'ADN par excision de base	46
IV.3.4	Les polymorphismes du gène <i>XRCC1</i>	47
a-	Le polymorphisme 580C>T (rs1799782, Arg194Try)	48
b-	Le polymorphisme 8396G>A (rs25489, Arg280His)	48
c-	Le polymorphisme 1196G>A (rs25487, Arg 399Glu).....	49

IV.3.4 Association des polymorphismes du gène <i>XRCCI</i> avec différentes pathologies cancéreuses	49
IV.4 Le gène Fms- Like tyrosine kinase 3 (<i>FLT3</i>)	51
IV.4.1 Description du gène <i>FLT3</i>	51
IV.4.2 Structure et fonction de la protéine FLT3	51
IV.4.3 Les mutations de <i>FLT3</i>	54
IV.4.4 L'impact pronostic de FLT3-ITD.....	54
Problématique et objectifs	56
Population d'étude et méthodes	59
I. Population d'étude	60
II. Méthodes utilisées	61
II.1 Extraction et dosage de l'ADN	61
II.2 Méthode de génotypage par discrimination allélique TaqMan.....	62
II.3 Méthode de génotypage par PCR/RFLP (polymerase chain reaction/ Restriction fragment length polymorphism)	63
II.3.1 Réaction de polymérisation en chaîne (PCR)	63
II.3.2 Etude du Polymorphisme de longueur de fragment de restriction(RFLP)	64
II.4 Analyses statistiques	64
III. Protocoles expérimentaux	65
III.1 Exploration des SNPs : 677C>T, 1298A>C du gène <i>MTHFR</i> et le SNP 3435C>T du gène <i>ABCBI</i>	65
III.2 Exploration du SNP 1196G>A du gène <i>XRCCI</i>	66
III.3 Exploration de la mutation ITD du gène <i>FLT3</i>	68
Résultats et discussion	70
I. Etude de la distribution des fréquences des polymorphismes 677C>T et 1298A>C du gène MTHFR chez les cas de LMC et les témoins	71
- Résultats.....	71
- Discussion.....	75
II. Etude de la distribution des fréquences du polymorphisme 3435C>T du gène ABCBI chez les cas de LMC et les témoins	80
- Résultats	80
- Discussion.....	81

III. Etude de la distribution des fréquences du polymorphisme 1196G>A du gène <i>XRCC1</i> chez les cas de LMC et les témoins	84
- Résultats de l'amplification de l'exon 10 du gène <i>XRCC1</i>	84
- Résultats de la digestion des ADN par l'enzyme de restriction MspI	84
- Résultats de la distribution des fréquences du polymorphisme 1196G>A du gène <i>XRCC1</i>	85
- Discussion.....	87
IV. Détection de la mutation FLT3/ITD chez des cas de LAM	89
Conclusion et perspectives	92
Annexes	95
Références Bibliographiques	105

Liste des figures

Figure 1: Shéma de l'hématopoïèse chez l'homme	8
Figure 2: Structure de la protéine Abl.....	12
Figure 3: Structure de la protéine Bcr.....	14
Figure 4: Localisation des points de cassures des gènes <i>Abl</i> et <i>Bcr</i> et la structure des ARNm chimériques dérivés des différentes cassures.....	15
Figure 5: Aspect du frottis sanguin	16
Figure 6: Caryotype médullaire d'un cas de LMC.....	17
Figure 7: Résultat de Fish pour <i>Bcr-Abl</i>	18
Figure 8: Les anomalies génétiques majeures de la LAM.....	24
Figure 9: Répercussions métaboliques de l'activité de la MTHFR.....	29
Figure 10: Structure du transporteur ABCB1	37
Figure 11: Fonction de la protéine ABCB1	38
Figure 12: Schéma du gène et de la protéine XRCC1 chez l'humain.....	44
Figure 13: Structures tridimensionnelles des domaines BRCT 1 et BRCT 2 de la protéine XRCC1	45
Figure 14: Réparation des cassures simple brin de l'ADN suivant les différentes étapes des voies BER et SSBR.....	47
Figure 15: Représentation des différents domaines de la protéine FLT3	52
Figure 16: Shéma des rubans et des surfaces de FLT3 qui montrent la disposition spatiale des différents éléments de la structure de la molécule	53
Figure 17: Fonction de la protéine FLT3	53
Figure 18: Principe du génotypage par discrimination allélique TaqMan.....	62
Figure 19: Exemple de résultat de génotypage par Taqman.....	63
Figure 20: Carte de restriction de l'enzyme de restriction MspI au niveau du 10 ^{ème} exon du gène <i>XRCC1</i>	67
Figure 21: Idiogrammes attendu après la digestion des ADN par MspI pour le génotypage du polymorphisme 1196G>A du gène <i>XRCC1</i>	68
Figure 22: Position de la mutation ITD du gène <i>FLT3</i>	69
Figure 23: Test d'amplification de l'exon 10 du gène <i>XRCC1</i> de quelques cas.....	84
Figure 24: Test de digestion de quelques ADN cas (C1 à C5).....	85
Figure 25: Résultats de l'amplification du gène <i>FLT3</i> chez quelques cas	89

Liste des tableaux

Tableau I: Classification FAB et OMS des leucémies aigues myéloïdes	25
Tableau II: Séquences des amorces et des Amorces TaqMan utilisées pour l'analyse des SNPs: <i>MTHFR</i> 677C>T, <i>MTHFR</i> 1298A>C et <i>ABCB1</i> 3435C>T.....	66
Tableau III: Séquences des amorces utilisées pour l'amplification de l'exon 10 du gène <i>XRCC1</i>	67
Tableau IV: Séquences des amorces utilisées pour l'amplification des exons 14 et 15 flaquant la mutation ITD du gène <i>FLT3</i>	69
Tableau V: Distribution des fréquences alléliques et génotypiques du SNP 677C>T du gène <i>MTHFR</i> chez les témoins et les patients LMC.....	72
Tableau VI: Distribution des fréquences alléliques et génotypiques du SNP 1298A>C du gène <i>MTHFR</i> chez les témoins et les patients LMC.	73
Tableau VII: Analyse haplotypique des polymorphismes 677C>T et 1298A>C du gène <i>MTHFR</i>	74
Tableau VIII: Distribution des fréquences alléliques et génotypiques du SNP 3435C>T du gène <i>ABCB1</i> chez les témoins et les patients LMC.	80
Tableau IX: Distribution des fréquences alléliques et génotypiques du SNP 1196G>A du gène <i>XRCC1</i> chez les témoins et les patients LMC.	86

Liste des annexes

Annexe 1: Fiche patient LMC	96
Annexe 2: Fiche patient LAM	98
Annexe 3: Consentement de prélèvement	101
Annexe 4: Article.....	103

Liste des abréviations

%: Pourcentage
°C: Celsius
µl : Microlitre
µM: Micromolaire
A: Adénine
ABCB1:ATP Binding Cassette B1
ADN: Acide DésoxyriboNucléotide
Aptx :Aprataxine
Ara-c: Cytosine Arabinoside
ARNm: ARN messenger
ARNt: ARN de transfert
Bcl 2:B-Cell CLL/Lymphoma2
BER:Base Excision Repair
BET: Bromure d'Éthidium
BFU-Meg: Colony Forming Unit Megacaryoblast
BFU-E:Burst-Forming Unit Erythroid
BPDE: Pyrène–Diol Epoxide
BRCA1:Breast Cancer 1
CBF: Core Binding Factor
CEP: Cellulesendothéliales précurseur
CEBPA: Enhancer Binding Protein alpha
CFU-E: Colony Forming Unit Erythroid
CFU-M: Colony Forming Unit Megacaryoblast
CK 2:Caséine Kinase 2
CLP: Cellule lymphoïdes précurseurs
CMP: Cellule myéloïde précurseurs
CHO:Chinese Hamster Ovary
CSH: Cellules Souches Hématopoïétiques
CYP450: CYtochromes P450
DHFR:Dihydrofolate réductase
dNTP: DésoxyNucléotides TriPhosphates
DO: Densité Optique
DS: Déviation Standard
dTMP: DésoxyThymidine MonoPhosphate
dUMP: DésoxyUridine MonoPhosphate
E:Extracellulaire
EDTA: Ethylène Diamine Tétra Acétique
FAB: French- American-British
FAD: Flavine Adénine Dinucléotide
FEN1: Flap Endonuclease 1
FLK-2: fetal liver kinase 2
FLT: FMS- like tyrosine kinase
FLT3: Fms- like tyrosine kinase

FISH: fluorescente hybridation in situ
GAP: GTPases-activating protein
GWAS: Genome Wide Association Study
GST: Glutathion-S- Transferases
HSCs: Cellule Hématopoïétique Souche
IM: Imatinib Mesylate
JM: Juxta-Membranaire
kb: KiloBase
kda: KiloDalton
LAM: Leucémie Myéloïde Aigue
LB: Lymphocyte B
LMC: Leucémie Myéloïde Chronique
LGMC: Laboratoire de Génétique Moléculaire et Cellulaire
LT: Lymphocyte T
M: Molaire
MDR1: Multi Drug Resistance
MDS: Myelodysplasiques Syndrom
MgCl₂: Chlorure de Magnésium
ml: Millilitre
MLL: Mixed-Lineage Leukemia
MTHFR: MéthylèneTétraHydroFolate Reductase
n: Nombre
NADPH: Nicotine adénine dinucleotide phosphate
NaOH: Hydroxyde de sodium
NaCl : Chlorure de sodium
NFS: Numération Formule Sanguine
ng: NanoGramme
NK: Natural killer
NLS: Nuclear Localisation Signal
NQO1: Dehydrogenase Quinone 1
NPM1: Nucleophosmin 1
OMS: Organisation Mondiale de la santé
OS: Globale Survie
OR: Odds Ratio
p: Signification statistique
PARP1: Poly ADP ribose Polymérase 1
pb: Paires de Base
PCR: Polymerase Chain Reaction
PCR/RFLP: Polymérase Chain Reaction / Restriction Fragment Length Polymorphism
PDCD5: Programmed cell death protein 5
PNK: Polynucléotide Kinase
Ph: Philadelphie
Pol β: Polymérase Bêta
Pgp: P-glycoprotéine
PCNA: Proliferating Cell Nuclear Antigen
RER: Replication error
Rho-GEF: Guanine nucleotide Exchange Factor
RI: Rayons Ionisants
SAH: S-adénosylHomocystéine
SAM: S-AdénosylMéthionine

SSBR: Single-Strand Break Repair

STK-1: Human Stem Cell Kinase 1

RTK III: Récepteur de Tyrosine Kinase de classe III

Taq: Thermus Aquaticus

TKD: Tyrosine Kinase Domaines

TM: Transmembranaire

TS: Thymidylate Synthase

U: Unité

USTO-MB : Université des Sciences et de la Technologie d'Oran-Mohamed BOUDIAF-

UV: Ultra violet

V: Volts

WT1: Wilms Tumor 1

X²: Khi2

XRCC1: X-ray repair cross-complementing 1

-Nomenclature :

- Les gènes sont indiqués en italique
- Les protéines produites par ces gènes sont indiquées en lettres droites

Introduction

La leucémie est une prolifération maligne des cellules de la moelle osseuse qui représentent les composants majeurs du sang. Elle est scindée en différents types, en fonction de l'origine des cellules tumorales: lymphoïde ou myéloïde et du stade de leur maturité: chronique ou aigue (**Burke and Startzell, 2008**). Ce présent travail s'intéresse principalement aux leucémies de type myéloïdes.

La première description d'un cas de leucémie dans les documents médicaux date de 1827, quand le médecin Français Alfred-Armand-Louis-Marie Velpeau a décrit le cas d'un fleuriste de 63 ans ayant développé une maladie caractérisée par une fièvre, une faiblesse, des calculs rénaux, et une hypertrophie substantielle du foie et de la rate. Ensuite, en 1845, J.H Bennett a utilisé le terme « leucocythemia » pour décrire une condition pathologique caractérisée par une splénomégalie et des changements de la couleur et de la consistance du sang. Plus tard, en 1856 le pathologiste Allemand Rudolf pionnier de la photomicroscopie, a utilisé le terme descriptif « leucémie » du grec *leukos* (blanc) et *haima* (sang), pour décrire l'excès anormal des globules blancs chez les patients présentant cette pathologie. C'est en 1869 que le terme myéloïde a été inventé du grec *myelos* (moelle) par Neumann. Enfin, le terme leucémie aigue a été introduit par Wilhem Ebstein en 1889, pour différencier la progression leucémique rapide et fatale, de la leucémie chronique (**Ebstein, 1889**).

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est un désordre myéloprolifératif clonal, caractérisé par une capacité proliférative accrue, un prolongement de survie de la cellule hématopoïétique souche (HSCs), une réduction de l'apoptose et une altération des propriétés d'adhésion cellulaire; elle évolue en trois phases: chronique, dont la plupart des patients ne présentent que peu ou pas de symptômes, cette phase évolue définitivement en une phase aigue qui est généralement précédée par une phase d'accélération (**Melo et al., 2003**).

La LMC représente 7% à 15% des leucémies de l'adultes; son incidence annuelle est estimée à 1 à 2 cas pour 100 000 personnes (**Jemal et al., 2006**). En Algérie, la LMC est en progression avec un nombre moyen de 109 nouveaux cas par année; son incidence globale est de 0,34/ 100 000 habitants. L'âge moyen de son apparition est de 44 ans avec des extrêmes allant de 15 à 76 ans, et une légère prédominance masculine (**Djouadi-Lahlou, 2009**).

L'étiologie de la LMC n'est pas bien élucidée. Au niveau moléculaire, la LMC a été corrélée avec un marqueur chromosomique appelé chromosome « Philadelphie », qui est le résultat d'une translocation réciproque entre les chromosomes 9 et 22, engendrant une

protéine à activité tyrosine kinase constitutivement active (**Melo et al., 2003**). Même si ce marqueur chromosomique est considéré comme l'événement causal de la parution de la LMC, certaines études laissent croire qu'il existerait des événements moléculaires ou cellulaires qui pourraient mener à cette voie de leucémogénèse et à sa progression. En effet, Biernaux et ses collègues avaient rapporté dans leur étude la présence intrigante du transcrite de la protéine chimère *Bcr-Abl* chez des sujet sains (**Biernaux et al., 1995**); ces données ont été à la suite confirmées par une étude menée par Bose et ses collègues. Cela laissait supposer que la translocation *Bcr-Abl* était essentielle dans la leucémogénèse de la LMC mais qu'elle restait insuffisante (**Bose et al., 1998**). De nombreuses études ont recherché de possibles associations entre la LMC et des variants de différents gènes impliqués dans différents mécanismes de leucémogénèse. Et même si des associations avec certains de ces polymorphismes ont été mises en évidence, aucun de ces variant n'est considéré à ce jour comme étant un facteur génétique favorisant la survenue de la LMC et/ou son évolution.

Par ailleurs, les leucémies myéloïdes aiguës (LAM) constituent un groupe hétérogène d'hémopathies myélo-prolifératives malignes, caractérisées par un blocage de la différenciation, une prolifération cellulaire et une survie accrue de progéniteurs hématopoïétiques immatures. Ces leucémies se caractérisent fondamentalement par l'augmentation du taux de ces cellules immatures (blastes) au niveau de la moelle osseuse, dont l'expansion clonale donne lieu à différents types de LAM (**Stone et al., 2004**).

Les LAM représentent la malignité myéloïde la plus fréquente, avec un âge moyen de diagnostic allant de 65 à 70 ans. Leur incidence annuelle dans les pays développés est de 3/100 000 habitants (**Deschler and Lubbert, 2006**). En Algérie, l'incidence des LAM est de 0,5/100 000 habitants, et celle-ci est en augmentation constante (**Benakli, 2009**). Les LAM représentent la malignité myéloïde la plus fréquente de par leurs caractéristiques cliniques et biologiques (**Reikvam et al., 2012**). Des études ont démontré que 55% des patients adultes atteints de LAM présentent un caryotype anormal. En effet, on a dénombré à ce jour environ 200 aberrations chromosomiques structurelles et numériques différentes, dont certaines ont été identifiées comme étant des remaniement chromosomiques récurrents dans les LAM (**Mrozek et al., 2004**). Actuellement, les recherches dans ce domaine ont abouti à des connaissances importantes et à la compréhension des mécanismes moléculaires à l'origine de ces hémopathies. Ainsi, l'identification de plusieurs mutations somatiques des gènes impliqués dans la régulation de l'hématopoïèse a pu être effectuée. La recherche de ces anomalies s'est banalisée ces dernières années en pratique clinique, permettant à la fois de

stratifier les patients en fonction du risque de LAM, mais également de développer des thérapeutiques ciblées afin d'améliorer le pronostic de ces maladies (**Dohner, 2010**).

Ce présent travail a comme objectif, en premier lieu et principalement, une étude cas/témoins à la recherche d'éventuelles associations entre des polymorphismes de gènes impliqués dans: le cycle du folate, le métabolisme des xénobiotiques et le système de réparation de l'ADN, avec la survenue de la LMC sur un échantillon de la population Algérienne.

Le second objectif plus modeste, consiste en la détection d'une mutation de type duplication en tandem (*Internal Tandem Duplication*) du gène *FLT3* (*FMS- like tyrosine kinase*), qui code pour un récepteur à activité tyrosine kinase dans un échantillon de patients Algériens atteints de LAM, et ceci dans l'optique de mettre en place ce protocole de recherche de manière routinière au niveau du service de cytogénétique et de biologie moléculaire de l'EHU d'Oran; ceci permettra la recherche du pronostic défavorable qu'implique cette mutation et l'établissement d'une corrélation avec la réponse individuelle des malades à la chimiothérapie de la LAM.

Revue
Bibliographique

I

Généralités

I.1 Le cancer

Le cancer est le résultat d'une transformation maligne en plusieurs étapes d'une seule cellule normale en une cellule néoplasique. Cette transformation est due à une altération d'origine génétique ou épigénétique de l'ADN cellulaire, favorisée par un terrain héréditaire prédisposant et/ou des facteurs environnementaux très variés. Les cellules cancéreuses peuvent être diverses et hétérogènes ayant comme caractéristique commune de proliférer en dépit des contrôles cellulaires normaux. De plus, les cellules néoplasiques ont la capacité d'envahir des parties adjacentes de l'organisme, puis essaimer dans d'autres organes (**Iwasaki and Suda, 2009**).

Le développement d'un cancer est le résultat d'une combinaison entre, d'une part, l'activation de voies favorisant la prolifération cellulaire et, d'autre part, l'inhibition des signaux intervenant dans l'apoptose. Plusieurs gènes, souvent perdus ou mutés, intervenant dans ces deux voies ont été identifiés. Cependant, d'autres mutations ont également été répertoriées au niveau de certains gènes impliqués dans la réparation de l'ADN, le contrôle du cycle cellulaire, l'angiogenèse et la production des télomérases. A l'exception, des cancers familiaux rares principalement provoqués par la prolifération d'une lignée germinale, siège d'une mutation spécifique. Les cancers sporadiques sont causés par des mutations survenant à la suite d'une exposition génotoxique à des agents externes ou internes tels que les carcinogènes du tabac, les facteurs alimentaires, des agents infectieux aboutissant à la formation d'adduits d'ADN (**Hanahan and Weinberg, 2000**).

Ces dernières décennies, beaucoup d'études se sont concentrées sur l'identification des gènes impliqués dans la métabolisation et l'excrétion des composant potentiellement toxiques et leurs rôles dans l'étiologie du cancer, et plus particulièrement sur le rôle des différences fonctionnelles des polymorphismes de ces gènes dans le risque de survenue du cancer (**Brennan, 2002**).

I.2 Les leucémies

Les leucémies, appelées également cancer du sang ou cancer liquide, sont caractérisées par la prolifération maligne des cellules de la moelle osseuse, qui prennent progressivement la place des cellules normales et inhibent leurs fonctions. Chaque type de leucémie progresse différemment même si les conséquences finales restent les mêmes. Cette transformation est généralement due à la dérégulation de l'homéostasie hématopoïétique.

I.2.1 L'hématopoïèse

L'hématopoïèse est définie comme étant un ensemble de mécanismes biologiques qui concourent à la production et à la régénération continue des cellules sanguines, très différenciées, et indispensables à la vie des organismes complexes multicellulaires.

Les cellules sanguines ont généralement une courte durée de vie (quelques heures pour les polynucléaires, quelques jours pour les plaquettes et quelques semaines pour les hématies).

Ce processus a comme origine une cellule souche hématopoïétique, qui se différencie en deux voies: myéloïde et lymphoïde. L'hématopoïèse assure donc une production importante de cellules sanguines, de l'ordre de 10¹³ cellules sanguines/jour, processus sous contrôle afin de maintenir constant ce nombre malgré les variations de consommation importantes liées aux processus pathologiques (hémorragies, infections...). Chez l'homme, l'hématopoïèse fœtale a lieu au niveau de tissu conjonctif embryonnaire jusqu'au 2^e mois, et devient médullaire à partir du 4^{ème} mois. Après la naissance, l'hématopoïèse a lieu exclusivement dans la moelle osseuse (**Orkin and Zon, 2008**).

Ce processus physiologique régulé commence à partir de cellules souches hématopoïétiques (CSH) possédant la capacité d'autorenouvellement et de multipotence leur permettant de générer toutes les lignées du système hématopoïétique. Au cours de cette différenciation pyramidale, les CSH perdent d'abord leur capacité d'autorenouvellement, et s'engagent vers des cellules multipotentes, capables de donner des progéniteurs lymphoïdes ou myéloïdes, qui acquièrent leur potentiel de différenciation de lignée myéloïde ou lymphoïde, et finalement s'engagent, pour aboutir à la production des cellules fonctionnelles matures terminales (**Dingli et al., 2007**).

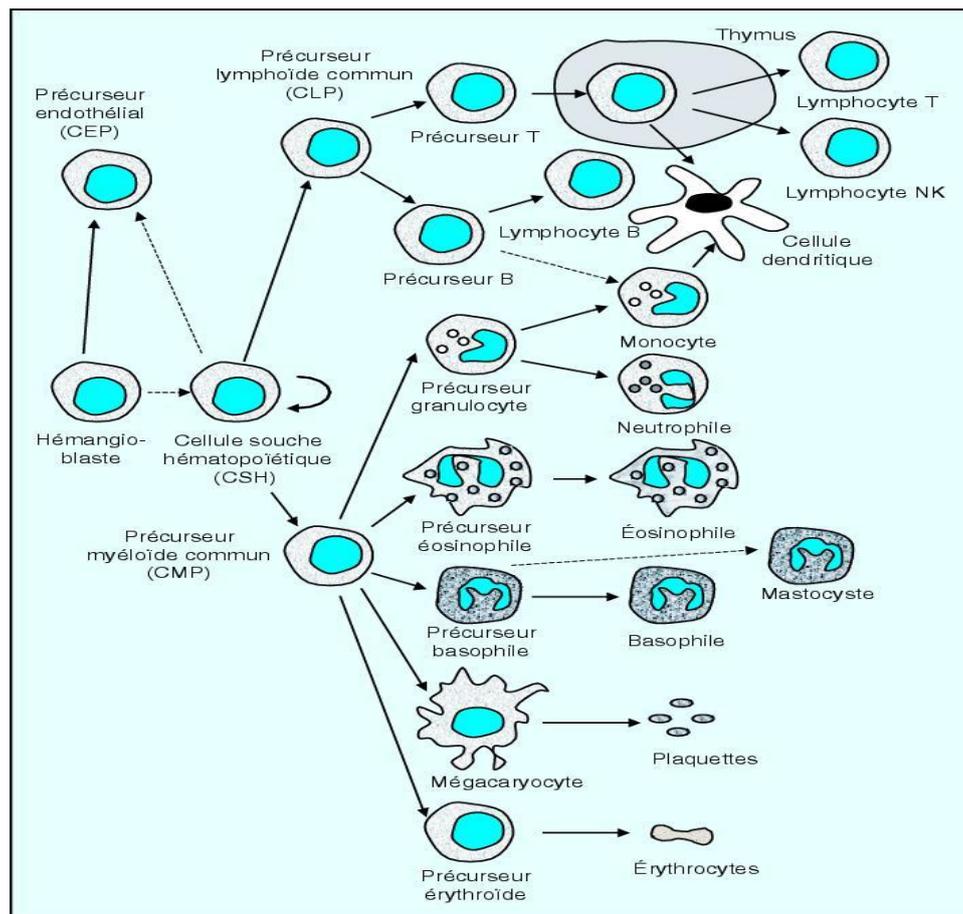


Figure 1: Schéma de l'hématopoïèse chez l'homme

Les cellules souches hématopoïétiques (CSH) donnent naissance aux différentes lignées sanguines. La première étape de différenciation permet l'engagement dans les voies myéloïde et lymphoïde par la génération de précurseurs communs lymphoïdes (CLP) et myéloïdes (CMP). Le premier est à l'origine des précurseurs de lymphocytes B, des précurseurs thymiques capables de générer des lymphocytes T matures, des lymphocytes NK et des cellules dendritiques lymphoïdes. Le précurseur myéloïde est à l'origine des mégacaryocytes, produisant des plaquettes, des précurseurs érythrocytaires, des précurseurs des monocytes, des cellules dendritiques myéloïdes et des polynucléaires basophiles, neutrophiles et éosinophiles. L'un des précurseurs possibles de la CSH serait l'hémangioblaste, capable de générer à la fois des CSH et des précurseurs de cellules endothéliales (CEP) (Cavazzana-Calvo et al., 2004).

L'hématopoïèse comporte 4 compartiments (**Figure 1**):

- Les cellules souches pluripotentes: cellules très primitives ayant un haut pouvoir de prolifération, capables d'autorenouvellement et de différenciation vers toutes les lignées hématopoïétiques.
- Les progéniteurs: cellules capables de proliférer sans s'autorenouveler et de se différencier. Ces cellules sont déjà engagées vers une seule lignée cellulaire: BFU-E (Burst-Forming Unit Erythroid) et CFU-E (Colony Forming Unit Erythroid) pour la

lignée érythroblastique, BFU-Meg et CFU-Meg pour la lignée mégacaryoblastique, CFU-M pour la lignée granulo-monocytaire, progéniteurs B et T pour les lymphocytes B et T.

- Les précurseurs: cellules morphologiquement identifiables, correspondant à des cellules en cours de maturation avant leur passage dans la circulation sanguine.
- Les cellules matures: cellules fonctionnelles qui circulent dans le sang et maintiennent l'homéostasie.

I.2.2 La leucémogénese

La leucémie est un syndrome monoclonal qui dérive d'une cellule de moelle osseuse. Comme les autres cancers, la leucémie montre souvent une progression dans son origine naturelle, d'une cellule ayant subi une perte de capacité de différenciation normale à une perte progressive d'une maturation normale et le développement d'un phénotype malin, indifférencié. La leucémogénese est un ensemble de processus hématopoïétiques aberrants prenant origine dans les cellules souches leucémiques (CSL) rares, ou de progéniteurs engagés, ayant accumulé des mutations, des changements épigénétiques et/ou une expression sélective de gènes. Ces altérations permettent à la cellule de maintenir ou de réacquérir la capacité d'auto-renouvellement et de prolifération clonale indéfinie (**Irons and Stillman, 1996**).

La leucémogénese se développe en parallèle de l'hématopoïèse normale, en conservant des caractéristiques comparables à cette dernière. Cependant, le type de leucémie aiguë est ainsi déterminé par l'origine de la lignée cellulaire dont provient le clone et par le degré de différenciation atteint au moment de la transformation maligne.

Parallèlement, la diminution de l'hématopoïèse résiduelle définit l'insuffisance médullaire et les cytopénies périphériques conséquentes. Actuellement, les processus de leucémogénese mis en jeu restent incertains mais l'implication d'une cellule souche leucémique présentant une capacité d'autorenouvellement ou d'un progéniteur ayant acquis cette capacité par l'accumulation de mutations génétiques, restent des modèles de référence (**Dick, 2008**).

La leucémie est cliniquement et pathologiquement scindée en deux: leucémie aigue et chronique. Elle est aussi scindée en fonction de l'origine des cellules tumorales: cellules lymphoïdes et cellules myéloïdes.

- La leucémie aigüe: caractérisée par une prolifération accrue et anarchique des cellules immatures du sang non fonctionnelles, ayant une histologie anormale. Un traitement rapide est requis immédiatement pour éviter la diffusion de ces cellules aux organes.
- La leucémie chronique: les cellules cancéreuses de ce type de leucémie sont plus matures, bien que toujours anormales et passant dans le sang, l'évolution se fait sur des mois voire sur des années (**Burke and Startzell, 2008**).

La leucémie myéloïde chronique

II.1 Définition de la leucémie myéloïde chronique (LMC)

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est un syndrome myéloprolifératif, défini par une prolifération clonale de cellules anormales de la lignée granuleuse issue d'un précurseur pluripotent, résultant ainsi en une augmentation de la population des polynucléaires neutrophiles, accompagnée d'un maintien modéré de la différenciation **(Fialkow et al., 1977)**.

La LMC représente environ 15% à 20 % de tous les cas de leucémies et son évolution se résume en trois phases progressives; la phase stable ou chronique est le stade le plus précoce de la maladie favorable pour toute prise en charge thérapeutique au cours de laquelle environ 50% des patients ne présentent que peu ou pas de symptômes. La phase chronique peut durer de plusieurs mois à quelques années mais elle évolue définitivement vers une phase aigüe qui est généralement précédée par la phase accélérée. A ces deux niveaux de progression de la maladie, les cellules deviennent indifférenciées et ressemblent aux myéloblastes trouvés chez les patients atteints de leucémie aiguë; une prise en charge immédiate est nécessaire car l'espérance de vie après apparition des signes de l'acutisation est inférieure à 6 mois. Les mécanismes moléculaires impliqués dans la progression sont mal connus; ils font sans doute intervenir une augmentation d'activité oncogénique et une instabilité génétique accrue **(Calabretta and Perrotti, 2004;Radich, 2007)**.

La LMC est caractérisée par une translocation chromosomique réciproque entre les chromosomes 9 et 22. Cette anomalie est constamment présente dans les cellules des patients atteints de LMC chez 95% des cas **(Faderl et al., 1999)**.

II.2 Biologie moléculaire de la LMC

Bcr-Abl est une oncoprotéine chimérique générée par la translocation réciproque entre les chromosomes 9 et 22; elle est impliquée dans la pathogenèse des leucémies humaines à Ph positif (**Nimmanapalli and Bhalla, 2002**). L'Abl kinase native est située essentiellement dans le noyau avec une régulation précise de l'activité kinase, tandis que la protéine de fusion Bcr-Abl est située dans le cytoplasme, soit une tyrosine-kinase constitutivement active (**Vigneri and Wang, 2001**).

Semblable à d'autres kinases, Bcr-Abl fonctionne par liaison à l'ATP et le transfert du phosphate de l'ATP aux résidus de tyrosine, activant de multiples voies de transduction du signal. Ces événements provoquent une prolifération cellulaire excessive, empêchent l'apoptose et diminuent l'adhérence cellulaire. Il a été démontré que l'activité tyrosine kinase accrue de Bcr-Abl est essentielle dans la survenue de la LMC (**Savage and Antman, 2002**).

II.2.1 Fonctions de la protéine Abl

Le gène *Abl* code une protéine tyrosine kinase de 145 kda, sans fonction de récepteur. Elle est exprimée de façon ubiquitaire et contrairement à la protéine Bcr-Abl, qui est principalement localisée dans le cytoplasme, la protéine Abl est retrouvée tant dans le noyau que dans le cytoplasme. La région N-terminale comporte un domaine d'interaction SH2, un domaine d'interaction SH3, ainsi que le domaine catalytique SH1 qui présente l'activité tyrosine kinase. Un domaine central riche en prolines (PxxP) permet des interactions avec des protéines possédant des domaines SH3. La région C-terminale présente un domaine de liaison à l'ADN (DNABD), trois signaux de localisation nucléaire (NLS : Nuclear Localisation Signal) et un site de liaison à l'actine (**Figure 2**) (**Laneuville, 1995**).

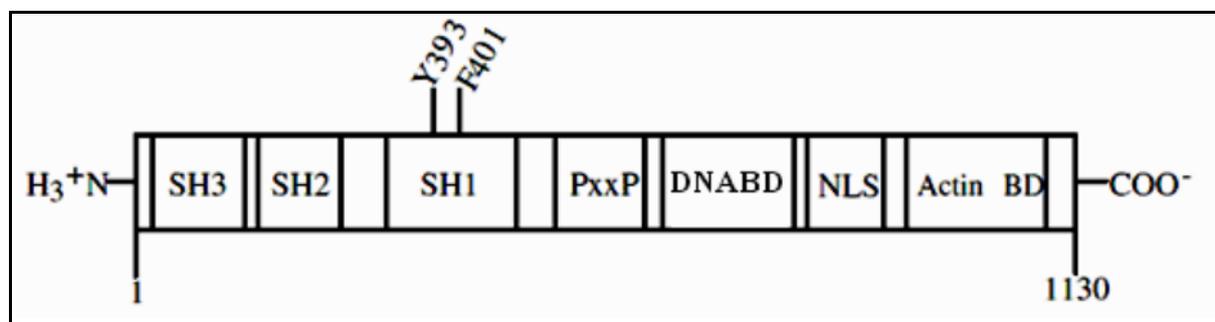


Figure 2: Structure de la protéine Abl (**Deininger et al., 2000**).

Dans son état normal, Abl se trouve être dans un état fermé (inactif) qui est la résultante d'interactions propres à la kinase (autoinhibition). Cet état inactif, peut être compromis, en faveur d'un état actif, et ce, par l'intervention d'autres protéines, dont d'autres kinases, qui s'associeront à l'Abl, et viseront à la rouvrir, modifiant ainsi sa conformation, de sorte que son substrat et l'ATP puissent avoir un accès au site de phosphorylation (**Calabretta et al, 2004**).

L'autoinhibition d'Abl est assurée principalement par l'action d'un groupe myristate qui est rattaché au domaine N terminal de la kinase (le domaine SH3). Ce myristate trouve également un point d'ancrage réversible, au niveau d'une poche hydrophobe du lobe C du domaine kinase formant ainsi un verrou. Ce verrou a pour conséquence de fermer la kinase, en induisant un clamp entre les domaines SH et les deux lobes du domaine kinase; les domaines SH2 et SH3 se retrouvant alors respectivement très proches des lobes C et N du domaine kinase. Le clamp ainsi créé, prévient la phosphorylation du segment d'activation en le séquestrant, de sorte que la tyrosine 412 de ce segment ne soit pas accessible aux kinases.

Ce segment d'activation lorsqu'il est non phosphorylé sur Y412 empêche l'accrochage du substrat d'Abl et de l'ATP au niveau du domaine catalytique, grace à une conformation non adaptée, non reconnue par les deux substrats. Le maintien de l'état inactif de la kinase, est un aspect primordial de la régulation, puisque si celle-ci se trouvait être active de façon constitutive, cela entraînerait de graves complications, telle la LMC (**Deininger et al., 2000**). La protéine Abl est impliquée dans la régulation du cycle cellulaire, la réponse au stress génotoxique et la transmission de l'information passant par les intégrines. En plus, La protéine Abl peut induire l'apoptose en stabilisant la protéine p73 et/ou la protéine p53 (**von Bubnoff et al., 2002**).

II.2.2 Fonctions de la protéine Bcr

Le gène *Bcr* code pour deux protéines de 160 et de 130 kda, provenant de la traduction de deux ARNm de 6,7 et de 4,5 kb. La protéine BCR a une expression ubiquitaire avec des quantités élevées au niveau des cellules hématopoïétiques et du cerveau. Elle est essentiellement cytoplasmique mais, dans certaines phases du cycle, elle est aussi détectable dans le noyau où elle pourrait se lier à l'ADN. Les fonctions biologiques normales de la protéine Bcr sont encore mal connues (**Deininger et al., 2000**).

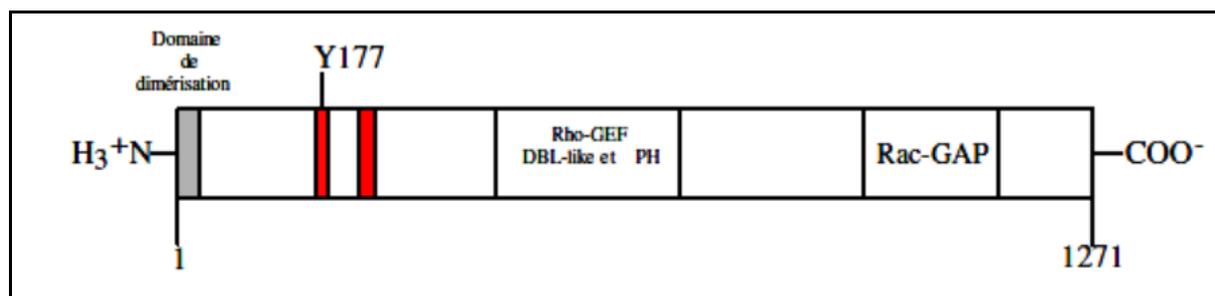


Figure 3: Structure de la protéine Bcr (Deininger et al., 2000).

La région N-terminale présente un domaine sérine/thréonine kinase et un domaine d'oligomérisation. Le domaine d'oligomérisation est responsable de l'homotétramérisation de la molécule et est indispensable à l'activité transformante de la molécule. On retrouve dans la région centrale un domaine composé de séquences DBL-like et homologues à la pleckstrine qui stimulent l'échange GTP-GDP par les Rho-GEF (Guanine nucleotide Exchange Factor) (Figure 3) (Wetzler et al., 1995).

La région C-terminale présente des séquences homologues aux domaines catalytiques des protéines GAP (GTPases-activating protein) agissant sur Rac et régulant la polymérisation de l'actine ainsi que l'activité NADPH oxydase des macrophages et granulocytes neutrophiles. La protéine Bcr peut être phosphorylée sur plusieurs résidus tyrosyl notamment, dans la région N-terminal, sur le résidu Tyr 177 qui lui permet d'interagir avec différentes protéines adaptatrices via leur domaine SH2 (McWhirter et al., 1993).

II.2.3 Anatomie moléculaire de la translocation *Bcr-Abl*

Le chromosome Philadelphie qui caractérise la LMC est le résultat de la translocation réciproque équilibrée entre les bras longs des chromosomes 9 et 22: t(9;22). Les réarrangements les plus fréquemment retrouvés au cours de la LMC sont les produits de fusion du gène *Abl* rompu entre les exons 1 et 2 et du gène *Bcr* rompu dans une région où les points de cassure sont variables, appelée M-Bcr (Major Bcr). Cette région correspondant aux exons 12 et 16 du gène *Bcr*, est subdivisée en cinq bandes, de b1 à b5 qui correspondent aux cinq exons impliqués (exon 12 correspond à b1, exon 13 à b2,..... et exon 16 à b5) (Figure 4).

La cassure au niveau de cette région se produit préférentiellement entre les exons b2 et b3 ou b3 et b4, formant ainsi les produits de fusion b2a2 et b3a2, dont résultent des ARN

messagers codant tous deux pour une protéine chimérique de 210 kD avec deux variants différant de 25 acides aminés selon que l'exon b3 est incorporé ou non dans le gène hybride (Melo, 1997). Cette protéine hybride P210 appelée galement oncoprotéine P210 ou P210^{Bcr-Abl}, comprend les trois domaines SH1, SH2, SH3 et tous les autres domaines d'Abl. Du côté Bcr, le motif de dimérisation est la partie la plus importante, elle conduit à la dimérisation de la protéine Bcr-Abl et à son autoactivation par transphosphorylation. De plus, la perte de la partie N-terminale d'Abl supprime son auto-inhibition. Ces deux modifications protéiques expliquent l'activation permanente de la tyrosine Kinase de Bcr-Abl qui entraînent l'activation, directe ou indirecte, et le recrutement des plusieurs voies de signalisation (Maru, 2001).

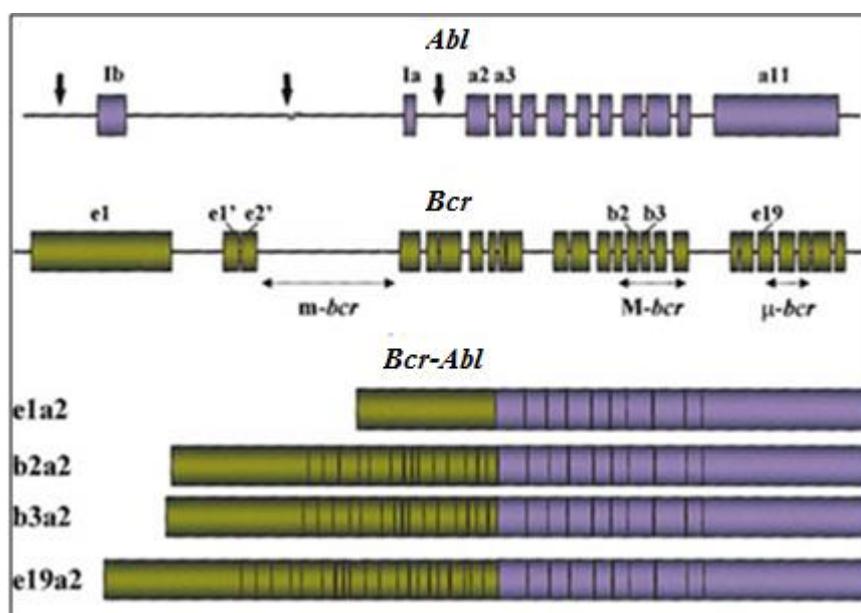


Figure 4: Localisation des points de cassures des gènes *Abl* et *Bcr* et la structure des ARNm chimériques dérivés des différentes cassures (Deininger et al., 2000).

II.2 Diagnostic de la LMC

II.2.1 Diagnostic clinique

Cet examen consiste à évaluer les symptômes cliniques et à mesurer très précisément l'importance de la splénomégalie à des fins diagnostiques et pronostiques. Les symptômes prédominants sont la perte de poids, l'asthénie et l'anorexie.

Cependant, 40% des patients peuvent rester asymptomatiques pendant une période prolongée. A l'examen clinique, la splénomégalie est le signe le plus fréquemment retrouvé chez 50% des patients (Sawyers, 1999).

II.2.2 Diagnostic biologique

a- Hémogramme

L'hémogramme ou Numération-Formule Sanguine (NFS) est l'examen biologique de référence qui permet à lui seul d'évoquer une LMC.

Ce dernier apparaît à travers une hyperleucocytose importante se situant au-dessus de 50 000 et souvent supérieure à 100 000/mm³. Celle-ci est faite de cellules polyclonales neutrophiles (30-50%) et d'une forte myélémie > 20%, pouvant atteindre 40 à 60% de métamyélocytes, de myélocytes, de quelques promyélocytes et plus rarement de quelques myéloblastes.

D'autres éléments pouvant par ailleurs caractériser l'hémogramme, comme des anémies modérées, des thrombocytoses modérées ou la présence normale de plaquettes se situe entre 400 et 700 000/mm³ (Figure 5-a)(Savage et al., 1997).

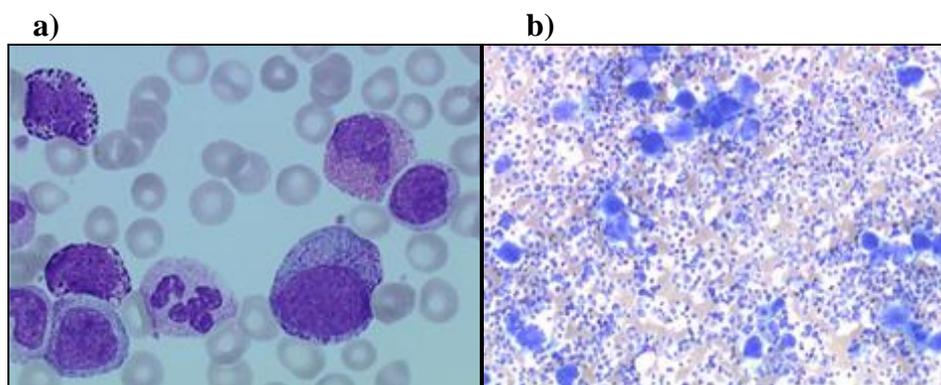


Figure 5: Aspect du frottis sanguin (a) et de l'étalement médullaire, (b) montrant une hyperplasie granuleuse pour une LMC en phase chronique (<http://hematocell.univ-angers.fr/>).

b- Myélogramme

Cet examen est indispensable, non pas au diagnostic, mais il permet de définir le pourcentage de blastes, afin de déterminer le stade de la LMC et de réaliser le caryotype initial. Il met en évidence une richesse cellulaire augmentée, avec 80% d'éléments de la

lignée granuleuse avec tous les stades de maturation représentés; en phase chronique, les blastes sont inférieurs à 5% (**Figure 5-b**)(Savage et al., 1997).

II.2.3 Diagnostic cytogénétique

Celui-ci consiste en la recherche du chromosome Philadelphie (Ph), présent chez 95% des patients au niveau de la moelle osseuse. Dans les autres 5%, on pense qu'il s'agit d'un Ph masqué par translocation complexe ou d'autres anomalies. Deux techniques sont utilisées pour ce diagnostic:

a- Le caryotype

Celui-ci est réalisé sur le produit d'une aspiration de moelle osseuse. Cependant, il est possible de l'effectuer sur une prise de sang en cas de myélémie importante. C'est l'examen de référence pour mettre en évidence le chromosome Ph(**Figure 6**). De plus, la quantification du nombre de métaphases « Ph positives » est un critère majeur de la réponse au traitement. Le caryotype permet aussi de détecter les anomalies cytogénétiques additionnelles, témoin d'une évolution clonale (trisomies 8, 17, 19,21).

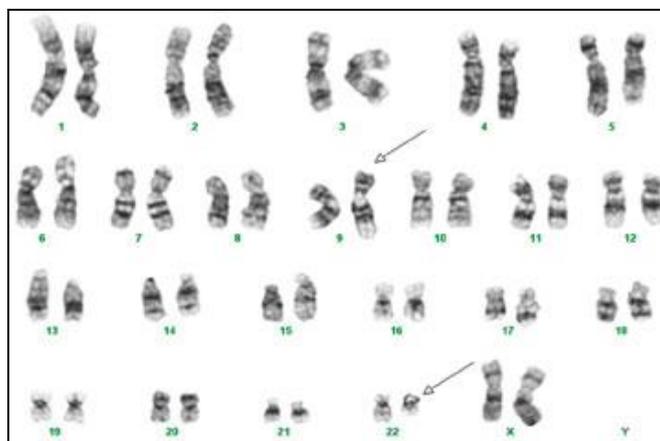


Figure 6: Caryotype médullaire d'un cas de LMC

La figure montre un chromosome 22 raccourcis correspondant au chromosome Philadelphie et un chromosome 9 plus long.

b- L' hybridation in situ fluorescente (FISH)

La FISH est un examen non obligatoire qui permet de détecter les chromosomes masqués non mis en évidence par le caryotype conventionnel. Elle est plus rapide et plus

sensible mais elle ne permet pas de mettre en évidence d'autres anomalies cytogénétiques additionnelles (**Figure 7**)(Jain et al., 2012).

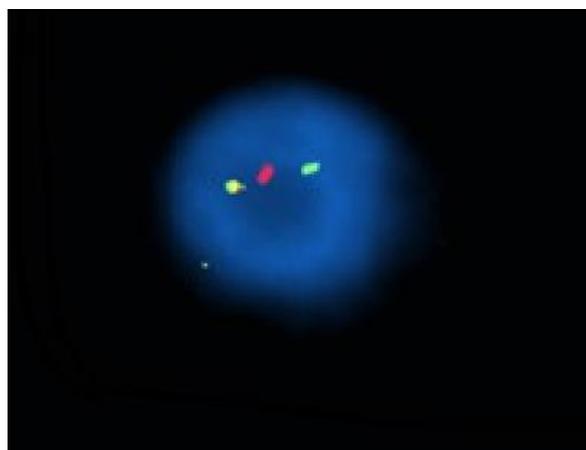


Figure 7:Résultat de Fish pour *Bcr-Abl*

Une cellule Ph positive apparaît sous forme d'un signal de fusion jaune ; celui-ci représente la fusion du signal vert de la sonde correspondant à la partie du gène *Bcr* sur le chromosome 22 avec le signal rouge de la sonde correspondant à la partie du gène *Abl* sur le chromosome 9. (*Genetics Home Reference Fluorescent in situ hybridization*, <http://ghr.nlm.nih.gov/glossary=fluorescent>, Marsh 2006)

II.2.4 Diagnostic de biologie moléculaire

Les techniques de biologie moléculaire permettent de mettre en évidence le transcrite Bcr-Abl dans le sang et dans la moelle osseuse, confirmant ainsi la fusion *Bcr-Abl* en cas d'absence de détection du chromosome Philadelphie en cytogénétique. La technique utilisée est la RT-PCR (Real Time Polymerase Chain Reaction) qui permet de quantifier le transcrite en se basant sur la mesure en temps réel du signal fluorescent, dont l'intensité est proportionnelle à la quantité d'ADN générée par l'amplification. Cette technique très sensible, permet de suivre l'évolution de la maladie résiduelle lors de la rémission cytogénétique (**Hehlmann et al., 2007**).

II.2.5 Facteur pronostic

Cet indice, bien qu'il ait été défini à partir de résultats cliniques obtenus sous Hydroxyuree ou sous Busulfan en 1988 par Sokal et son équipe(**Sokal et al., 1988**), est toujours utilisé, comme reflet de la masse tumorale et du potentiel évolutif de la maladie. Il doit être effectué au diagnostic et avant tout traitement. Il permet de définir 3 groupes

pronostiques en prenant compte de 4 facteurs: l'âge, la taille de la rate, le pourcentage de blastes sanguins au diagnostic et le taux de plaquettes.

Cet indice permet de séparer la population des malades en trois groupes dont la médiane de survie est significativement différente:

- Un groupe à faible risque (score < 0,8) et une survie médiane de 60 mois;
- Un groupe à risque intermédiaire (score entre 0,8 et 1,2) et une survie médiane de 44 mois ;
- Un groupe à haut risque (score > 1,2) et une médiane de survie de 32 mois.

II.3 Traitement de la LMC

Le traitement de la leucémie myéloïde chronique à la phase chronique repose actuellement sur l'utilisation des inhibiteurs de tyrosine kinase. L'imatinib mesylate (IM) fut le premier inhibiteur de tyrosine kinase; il est utilisé depuis 1998. Les directives du traitement des patients atteints de la LMC ont connu un changement important dû à l'efficacité et l'innocuité de l'imatinib mesylate. Ce médicament a montré son activité dans toutes les phases de la LMC mais la réponse la plus substantielle et stable a été rapportée chez les patients nouvellement diagnostiqués en phase chronique(**Savage et al., 2002**).

On estime que 20% à 30% des patients ayant une LMC en phase chronique au diagnostic nécessiteront des thérapeutiques alternatives comportant en particulier des inhibiteurs de tyrosine kinase de seconde génération comme le « Dasatinib » (**Haslam, 2005**) ou le « Nilotinib »(**Kantarjian et al., 2006**). En particulier, un traitement par inhibiteur de tyrosine kinase de seconde génération devra se discuter en l'absence de réponse cytogénétique complète à 12 mois.

La survenue d'une résistance à un traitement par inhibiteur de tyrosine kinase, ou une résistance primaire motivent la recherche d'une mutation du domaine kinase de Bcr-Abl. Certaines mutations responsables d'une résistance à l'IM peuvent se révéler sensibles à d'autres inhibiteurs de tyrosine kinase, alors que d'autres ne sont sensibles à aucun des inhibiteurs de tyrosine kinase actuellement utilisés en thérapeutique. Par ailleurs, certaines mutations sont sensibles spécifiquement à certains inhibiteurs de tyrosine kinase et pas à d'autres. Les patients présentant une leucémie myéloïde chronique accélérée ou à la phase blastique ont une durée de réponse aux inhibiteurs de tyrosine kinase de l'ordre de quelques

mois. Chez ces patients, une greffe allogénique de cellules souches hématopoïétiques doit être envisagée compte tenu du mauvais pronostic à court terme. En dehors de cette perspective thérapeutique, d'autres possibilités thérapeutiques comme un traitement par homoharringtonine, des inhibiteurs de tyrosine kinase ou de sérine-thréonine kinase (inhibiteurs d'Aurora kinase) en cours de développement peuvent être envisagés(Saab, 2010).

II.5 Associations entre gènes et LMC

La LMC est la première pathologie ayant été associée à un remaniement chromosomique, à l'origine de l'activation constitutionnelle de la protéine à activité tyrosine kinase Bcr-Abl. Cette protéine représente le marqueur moléculaire de la LMC, et fait l'objet de ses traitements ciblés.

Même si l'aspect clinique et biologique de la LMC est bien connu, il est encore nécessaire de définir quels sont les évènements cellulaires ou moléculaires qui mènent à la translocation des gènes *Bcr-Abl* ou ceux qui initient la leucémogénese de cette pathologie. Des études ont rapporté la détection intrigante de la fusion de Bcr-Abl à un degré minime dans le sang de personnes saines (Biernaux et al., 1995; Bose et al., 1998). Cela suggère que seulement une fraction mineure de la translocation Ph progresse en LMC, ou que la fusion des gènes *Bcr-Abl* est essentielle mais pas suffisante pour développer une leucémogénese sans l'intervention d'évènements cellulaires ou moléculaires.

C'est ainsi que des études diverses ont alors été menées sur la LMC dans le but de rechercher un facteur génétique potentiellement prédisposant au développement de cette dernière, et plusieurs d'entre elles ont réussi à démontrer une association entre des altérations génétiques dans les cellules précurseurs hématopoïétiques et le risque de survenue de la LMC (Meggyesi et al., 2012).

Différents gènes ont été rapportés comme pouvant intervenir dans la susceptibilité à la survenue de la LMC. Parmi ceux-ci, les gènes codant pour les enzymes impliquées dans la biotransformation et la métabolisation des xénobiotiques tels que les gènes de la famille des cytochromes P450 (*CYP450*) et ceux codant pour les glutathion-S- transférases (*GSTs*). En effet, certaines études ont rapporté une association entre la LMC et les deux gènes *CYP1A1* et *CYP3A5*(Sailaja et al., 2010; Taspinar et al., 2008). Par ailleurs, les gènes *GSTP1*, *GSTT1* et *GSTM1* ont également été relatés comme ayant un impact sur la survenue de la LMC (Al-

Achkar et al., 2014; Bhat et al., 2012; Hishida et al., 2005; Lordelo et al., 2012; Taspinar et al., 2008; Zintzaras, 2009).

Des associations ont également été retrouvées avec les gènes codant pour des protéines ayant différentes fonctions tels que: le gène FMs- like tyrosine kinase (*FLT3*)(**Schnittger et al., 2006**), NAD(P)H Dehydrogenase Quinone 1(*NQO1*)(**Hishida et al., 2005**), *p53*(codon72) (**Bergamaschi et al., 2004**), Programmed cell death protein 5(*PDCD5*)(**Ma et al., 2005**), cytokine (TGF-beta; IFN-gamma,IL4) gènes (**Amirzargar et al., 2005**), et le gène B-Cell CLL/Lymphoma2(*Bcl 2*)(**Kim et al., 2009**). Cependant, les polymorphismes du gène *MTHFR* sont les plus rapportés dans les études d'association avec le risque d'émergence de la LMC; mais d'autres recherches ont contredit cette possible association et le mystère reste entier quant à l'implication de ce gène dans la survenue de cette pathologie.

In fine, même si de nombreux travaux à ce jour ont mis en évidence de potentielles implications de ces différents gènes dans le risque d'apparition de la LMC, aucun d'entre eux n'est encore défini et établi comme étant un facteur de risque évident. Des confirmations restent donc nécessaires quant à ces associations; de plus, il est biologiquement plausible aussi que certains gènes associés préalablement dans d'autres cancers soient également impliqués dans la susceptibilité à la LMC.

III

La leucémie Myéloïde aigue

III.1 Définition de la leucémie myéloïde aigue (LAM)

La leucémie aiguë myéloïde ou myéloblastique (LAM) est une des hémopathies malignes les plus fréquentes survenant principalement chez l'adulte, et dont l'incidence augmente avec l'âge. La LAM comprend plusieurs types se distinguant par leurs caractéristiques cliniques biologiques, cytogénétiques et moléculaires.

Les signes et symptômes de la LAM sont variés et non spécifiques, mais ils sont généralement directement attribuables à l'infiltration leucémique de la moelle osseuse, avec une cytopénie résultante (**Lowenberg et al., 1999**).

Les leucémies aiguës myéloïdes peuvent actuellement être définies comme un ensemble de proliférations malignes aboutissant à l'accumulation dans la moelle, le sang et éventuellement d'autres organes, de précurseurs des cellules sanguines (blastes) de nature myéloïde avec blocage à un stade précoce de leur différenciation.

III.2 Le diagnostic de la LAM

La LAM est caractérisée par des degrés variables de signes clinico-biologiques reflétant l'infiltration tumorale et l'insuffisance de production des éléments sanguins. C'est la production de cellules malignes conjointement à la diminution, voir la disparition, des éléments matures de la moelle osseuse qui sont responsables de la grande variété de ces symptômes systémiques (**Passweg et al., 2008**).

III.2.1 Le diagnostic clinique et biologique des LAM

Le diagnostic spécifique des leucémies aiguës et la classification des risques sont établis par l'association de critères morphologiques, cytochimiques et l'immuno-phénotypage (Passweg et al., 2008).

a- Signes cliniques

Ces signes se traduisent comme suit:

- Manifestation tumorale: hypertrophie des organes hématopoiétiques (splénomégalie, adénopathie ou hépatomégalie), lésions cutanées notamment dans le derme, hypertrophie gingivale, atteinte osseuse peu fréquente, syndrome de leucostase à hyperleucocytose majeure et plus rarement des tumeurs extra médullaires.
- Insuffisance médullaire: syndrome anémique syndrome infectieux, syndrome hémorragique et les douleurs osseuses plus fréquentes chez les sujets de jeune âge.

b- Eléments biologiques

Ces éléments consistent en diverses analyses dont:

- Analyse cytologique: réalisation d'un myélogramme et analyse d'un frottis sanguin.
- Etude cytochimique: réalisée après coloration des frottis au May-Grunwald-Giemsa.
- Etude histologique: biopsie ostéo- médullaire.
- Etude immunologique: consiste en la recherche de certains marqueurs exprimés à la surface des cellules leucémiques par immuno-phénotypage utilisant un panel d'anticorps ciblant des antigènes myéloïdes.

III.2.2 Diagnostic cytogénétique et moléculaire

Les anomalies cytogénétiques des LAM sont généralement retrouvées au sein des caryotypes altérés. Les caryotypes complexes sont définis par trois anomalies ou plus (11% de l'ensemble des LAM): les translocations impliquant le gène MLL (*Mixed-Lineage Leukemia*) en 11q23, t(15;17), t(6;9), les inv(3), t(3;3), et les anomalies du CBF (*Core Binding Factor*). De plus, 23% des LAM sont caractérisées par des anomalies cytogénétiques variées non récurrentes, principalement des gains ou des pertes chromosomiques -5, 5(del q), dont les gènes cibles ne sont pas connus.

Au niveau moléculaire, les mutations somatiques acquises ont été identifiées dans plusieurs gènes impliqués dans les LAM à caryotype normal : le gène du *nucléphosmin 1* (*NPM1*), le gène Fms- like tyrosine kinase (*FLT3*), le gène Enhancer Binding Protein alpha (*CEBPA*), le gène *MLL*, l'oncogène viral neuroblastoma RAS (*NRAS*), le gène de Wilms Tumor 1 (*WT1*) et le runt-related transcription factor 1 (*RUNX1*).

Les mutations touchant ces gènes prennent toute leur importance dans le groupe des LAM à caryotype normal, qui, sous une même appellation, regroupent en termes de pronostic des entités très différentes les unes des autres (Döhner and Döhner, 2008)(Figure 8).

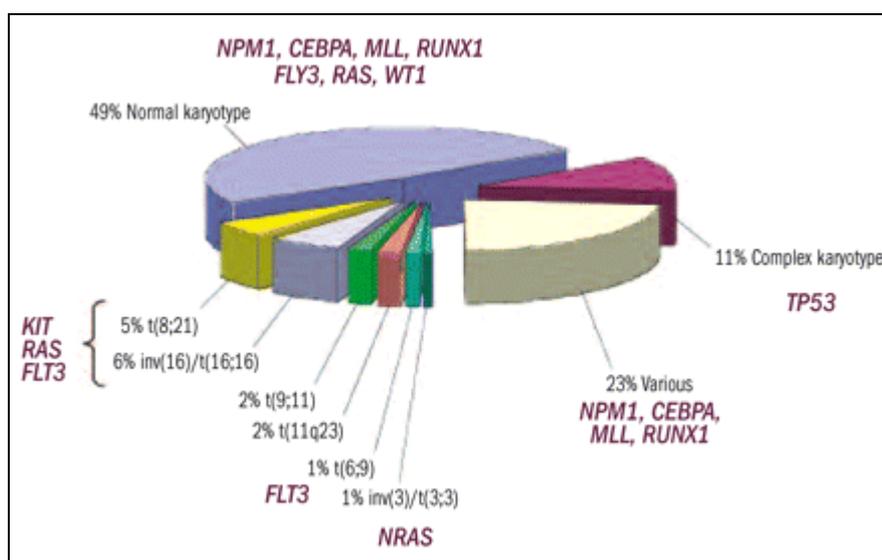


Figure 8: Les anomalies génétiques majeures de la LAM (Döhner and Döhner, 2008).

III.3 La classification des LAM

Les LAM ont longtemps été classées uniquement sur leurs aspects morphologiques définis par la classification du FAB (*French- American-British*) (Bennett et al., 1976) toujours utile en routine clinique. Toutefois, la caractérisation d'anomalies cytogénétiques et plus récemment moléculaires (mutations) récurrentes, d'importance pronostique majeure, a amené l'OMS (Organisation Mondiale de la santé) à proposer une nouvelle classification (OMS 2008) (Vardiman et al., 2002) intégrant ces paramètres (Tableau I).

Tableau I: Classification FAB et OMS des leucémies aiguës myéloïdes (Bennett et al., 1976 ; Vardiman et al., 2002).

Classification FAB	Classification OMS
M0: différenciation minimale	LAM avec translocations cytogénétiques récurrentes
M1: différenciation myéloïde sans maturation	<ul style="list-style-type: none"> • LAM avec t(8;21) • LAM promyélocytaire avec t(15;17) • LAM avec inv (16) et éosinophilies pathologiques • LAM avec anomalies 11q23 (MLL)
M2: différenciation myéloïde avec maturation	
M3: leucémie promyélocytaire	
M4: leucémie myélomonocytaire	
M4E0: leucémie myélomonocytaire avec éosinophilies pathologiques	LAM avec dysplasie multilinéaire <ul style="list-style-type: none"> • Avec antécédents de Syndrome myélodysplasique (SMD) • Sans antécédents de SMD
M5: leucémie monocytaire avec ou sans maturation	
M6: érythroleucémie	
M7: leucémie mégacaryoblastique	LAM avec dysplasie liée aux traitements (cytotoxique) <ul style="list-style-type: none"> • LAM sans autre catégorisation • Différenciation myéloïde sans maturation • Différenciation myéloïde avec maturation • Leucémie méylomonocytaire • Leucémie monocytaire • Erythroleucémie • Leucémie mégacaryoblastique • Leucémie à basophiles • Panmyélose aigue avec fibrose

III.4 Pronostic des LAM

Plusieurs facteurs ont été définis pour les LAM dont la cytogénétique, l'âge, le fait que la leucémie soit secondaire à une autre hémopathie ou à un traitement cytotoxique pour une autre tumeur, ainsi que la masse tumorale (taux de blastes) (Passweg et al., 2008). La majorité des cas de LAM sont des patients âgés de plus de 60 ans et il semblerait que l'augmentation de l'incidence des LAM soit exponentielle avec l'âge (Benakli, 2009). La pathologie du sujet âgé est différente et plus grave que celle du sujet jeune. Ce phénomène est lié à l'accroissement de l'instabilité génétique liée à l'âge. Les anomalies chromosomiques

récurrentes permettent de classer les LAM en trois sous groupes de pronostic: favorable, intermédiaire et défavorable (**Mrozek et al., 2004**).

III.5 Traitement des LAM

Le but du traitement des LAM est d'obtenir une rémission complète, c'est-à-dire la disparition de tous les signes cliniques et biologiques puis de maintenir cette rémission par des traitements dits « d'induction », de « consolidation » puis « d'entretien ». Dans un premier temps, la chimiothérapie d'induction repose classiquement sur l'association d'une anthracycline (daunorubicine ou idarubicine) et de la cytosine arabinoside (ara-C). Le traitement de consolidation consiste en plusieurs cycles de chimiothérapie intensive, durant six mois environ, (**Gilliland and Tallman, 2002**) et peut être suivi si nécessaire et possible d'une greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH).

Dans ce dernier cas, il peut s'agir d'une greffe effectuée à partir d'un donneur (allogreffe) ou grâce à des cellules souches du patient lui même qui sont recueillies à la fin du traitement de consolidation (autogreffe). L'allogreffe de CSH est le meilleur traitement pour les malades à haut risque de rechute ou en seconde rémission complète, mais elle reste limitée par la disponibilité d'un donneur compatible et par l'âge du patient.

L'allogreffe est souvent préférée à l'autogreffe, car elle diminue le taux de rechute de 50% à 25%. Dans le cas particulier des LAM M3, l'utilisation des agents différenciateurs (acide tout-trans-rétinoïque) et de trioxyde d'arsonium permet souvent d'éviter la greffe (**Sanz, 2006**).

Malgré ces traitements, le risque de rechutes est élevé dans la plupart des cas et semble dû à la persistance de cellules souches malignes très résistantes aux traitements qui reconstituent la leucémogénèse (**Renner, 2008**).

Il existe d'autres traitements thérapeutiques ciblés tels que les inhibiteurs de la tyrosine kinase appelés (INK) particulièrement les inhibiteurs de FLT3 qui ont fait l'objet d'importantes études au cours de ces dernières années. Il s'agit notamment de lestaurtinib, midostaurine, tandutinib, sunitinib, sorafenib et le AC220 (**Zarrinkar et al., 2009**).

Pour avoir un effet cytotoxique significatif contre les cellules leucémiques, un inhibiteur doit inhiber en permanence l'activité tyrosine kinase de FLT3 à moins de 10% de

son activité de base. Par conséquent, l'inhibiteur idéal de FLT3 doit avoir une bonne biodisponibilité orale et une demi-vie mesurée en heures (**Levis and Small, 2005**).

Au cours de certains traitements, les cellules ont le potentiel de développer plusieurs mécanismes de résistance, elles peuvent acquérir des mutations au niveau du gène FLT3 qui empêchent la liaison de l'inhibiteur (**Heidel et al., 2006**). La surexpression de FLT3 peut réduire l'efficacité de FLT3 INK pour inhiber la cible. Les cellules peuvent devenir FLT3 indépendantes en activant des voies de signalisation compensatoires (**Piloto et al., 2007**).

Le traitement par des anticorps dirigés contre FLT3 a été récemment proposé comme moyen potentiel d'éviter certains des inconvénients des inhibiteurs du FLT3, comme l'activité hors cible non spécifique et la résistance acquise (**Knapper, 2007**).

IV

Les gènes explorés

IV.1 Le gène méthylènetétrahydrofolate réductase (*MTHFR*)

IV.1.1 Description du gène *MTHFR*

Le gène *MTHFR* est localisé au niveau du bras court du chromosome 1 (1P36.3). Le cDNA de ce gène fait approximativement 2,2 Kb de longueur et est constitué de 13 exons disposés selon leur taille de 103 pb jusqu'à 432 pb. La taille des introns est de 250 pb jusqu'à 1,5 Kb avec une exception d'un intron de 4,2 Kb. Le promoteur du gène ne contient pas de TATA box, mais contient des îlots CpG, une région CAAT et des sites de liaison pour les différents facteurs de transcription tels que le multiple potentiel SP1, AP1 et AP2.

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

IV.1.2 Structure et fonction de la protéine *MTHFR*

Le gène *MTHFR* code pour une flavoprotéine dimère, qui est une enzyme cytosolique ubiquitaire, isolée initialement à partir du foie porcin. Le produit du gène *MTHFR* est majoritairement une protéine de 77 Kda. Cependant, des études sur western blot ont montré qu'il existait

un second isoforme d'approximativement 70Kda. Les tailles différentes des transcrits résultent des sites alternés du commencement de la transcription (**Frosst et al., 1995**). Cependant, l'expression de la protéine *MTHFR* de 77 Kda est la plus abondante, et contient deux domaines: un domaine catalytique N terminal de 40kda qui contient un site de fixation de la flavine adénine dinucleotide (FAD), nicotine adénine dinucleotide phosphate

(NADPH) et CH₂-THF, et un domaine régulateur C terminal de 37kda, qui possède un site de fixation de la S-Adénosylméthionine (SAM), un inhibiteur allostérique important de la MTHFR (Goyette et al., 1994).

A la jonction de ces deux domaines se trouve une région hydrophobe avec une séquence d'AA: Lys-Arg- Arg-Glu-Glu, représentant le site de clivage par la trypsine. La digestion de la MTHFR par la trypsine n'a pas d'effet sur sa fonction catalytique mais la rend plutôt insensible à sa régulation par la S-adénosylméthionine. La SAM a un rôle inhibiteur de la MTHFR, alors que la S-adénosylhomocystéine (SAH) est un régulateur de l'activité de la MTHFR (Goyette et al., 1998).

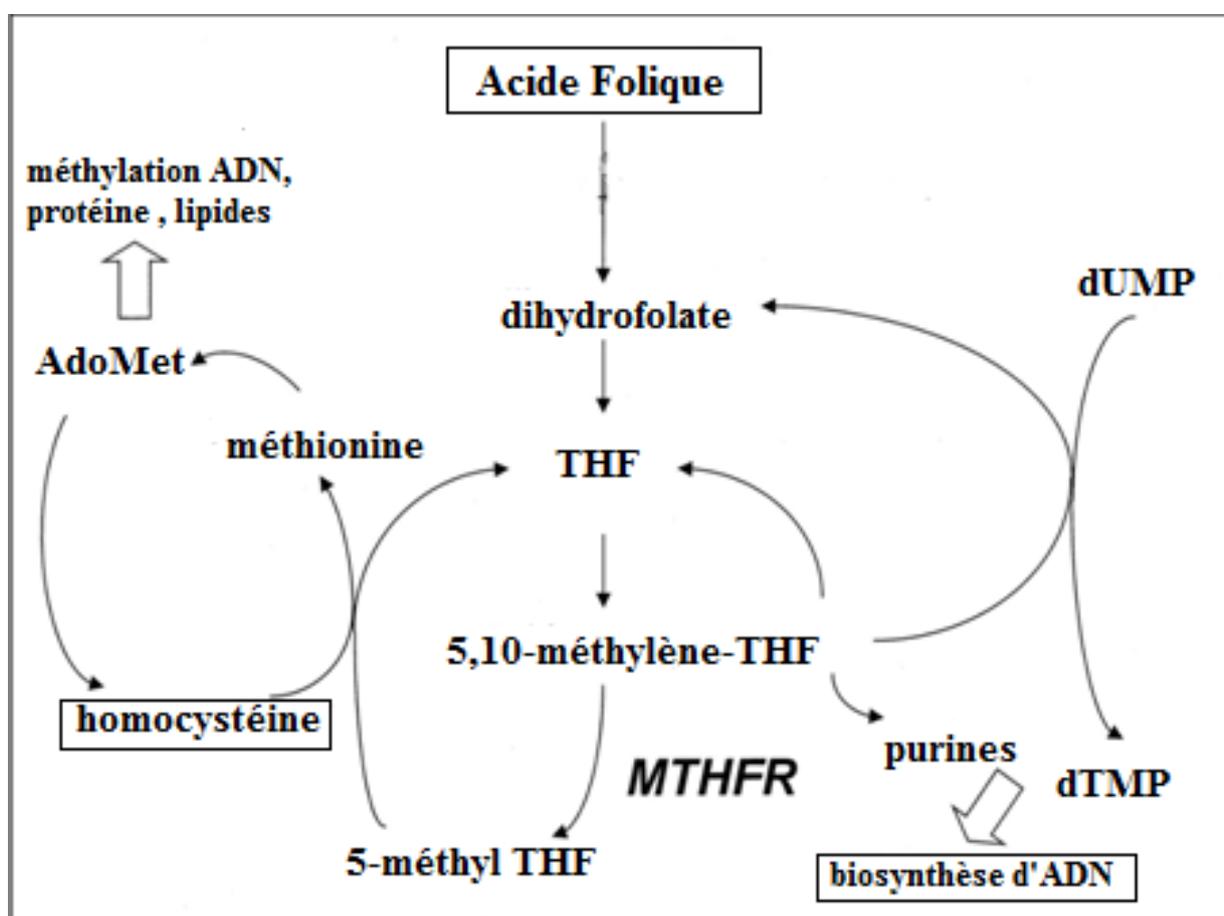


Figure 9: Répercussions métaboliques de l'activité de la MTHFR(Wiemels et al., 2001).

L'enzyme MTHFR catalyse la réduction irréversible du 5,10-méthylènetetrahydrofolate (CH₂THF) en 5-méthylènetetrahydrofolate (CH₃THF), avec la flavine adénine dinucléotide (FAD) comme cofacteur. Le CH₃THF qui est formé au niveau

hépatique après absorption de l'acide folique et qui est la forme circulante majeure des folates, sert alors de substrat pour la reméthylation de l'homocystéine en méthionine grâce à la méthionine synthase dont la vitamine B12 est le cofacteur. La méthionine est un acide aminé soufré qui permet la biosynthèse de novo de la S-adénosyl-méthionine (SAM) qui est le principal donneur de radicaux méthyl chez l'homme. Le CH₂THF est quant à lui utilisé pour la méthylation du dUMP (désoxyuridylylate monophosphate) en dTMP (thymidylate monophosphate) via la thymidylate synthase, et donc participe à la synthèse des pyrimidines (ADN). D'autre part, le cycle des folates contribue à la synthèse des purines (ADN et ARN), à partir du 10-formyl-tétrahydrofolate 10-formyl-THF) qui va fournir des carbones à l'adénosine et à la guanine (**Wiemels et al., 2001**) (**Figure 9**).

IV.1.3 Les polymorphismes du gène *MTHFR*

Les données concernant le gène *MTHFR* rapportent principalement deux polymorphismes, le 677C>T (rs1801133) et le 1298A>C (rs1801131). Ils représentent les polymorphismes les plus communs et les mieux décrits du gène *MTHFR*. Par ailleurs, un autre SNP a été également rapporté, le G1793A (rs2274976). Ce dernier est moins commun, et il n'existe aucune certitude concernant son impact fonctionnel sur la protéine (**Robien and Ulrich, 2003**).

a- Le polymorphisme 677C>T (rs1801133, Ala222Val)

Le polymorphisme 677C>T survient au niveau de l'exon 4 et il résulte en une substitution de l'acide aminé Alanine par l'acide aminé Valine au niveau du codon 677. Le polymorphisme se situe à la base du site de fixation au cofacteur *Flavin-Adénine-Dinucléotide* (FAD) du gène *MTHFR* (**Guenther et al., 1999**). En comparaison au génotype homozygote de l'allèle sauvage du polymorphisme 677C>T, les individus ayant un génotype 677TT ne présentent que 30% de l'activité enzymatique de MTHFR in vitro, tandis que les individus hétérozygotes 677CT présentent une activité enzymatique de MTHFR s'élevant à 60% (**Semenza et al., 2003**). L'allèle 677T a été associé à un taux élevé d'homocystéine dans le plasma (**Ryan and Weir, 2001**), ce qui augmenterait le risque des maladies cardiovasculaires et le risque des malformations congénitales, particulièrement celles du tube neural (**Frosst et al., 1995**). Le variant 677T est assez commun chez la population Européenne, nord Américaine, et plusieurs populations Asiatiques, avec une fréquence

d'homozygotie supérieure à 30% (**Botto and Yang, 2000**). La fréquence la plus importante de ce variant a été rapportée chez les populations du bassin méditerranéen et du nord de l'Amérique, mais elle est relativement moins importante chez les Africains sub-Sahariens et les noirs Américains (**Pepe et al., 1998; Stevenson et al., 1997**).

b- Le polymorphisme 1298A>C (rs1801131, Glu429 Ala)

Le second polymorphisme, 1298A>C au niveau de l'exon 7, engendre la substitution de l'acide aminé Glutamate en acide aminé Alanine au niveau du codon 429. Ce polymorphisme siège au niveau du domaine régulateur S-adénosyl-méthionine de cette enzyme. La fixation de la S-adénosylméthionine (SAM) résulte dans le changement de conformation de l'enzyme MTHFR qui, à son tour inhibe son activité enzymatique (**Weisberg et al., 1998**). Des lymphocytes d'individus de génotype 1298CC ont montré une activité enzymatique de MTHFR évaluée à 60% par rapport au type sauvage (**van der Put et al., 1998**). Cependant, ce polymorphisme ne semble pas atténuer suffisamment la fonction enzymatique au point d'altérer la reméthylation de l'homocysteine. Il a été rapporté que le génotype homozygote 1298CC ne conférerait pas de thermolabilité à l'enzyme MTHFR. (**Meisel et al., 2001; Szczeklik et al., 2001**). Cependant, le génotype hétérozygote 1298AC associé au génotype hétérozygote du polymorphisme 677C>T, augmenterait le risque de survenue de l'hyperhomocystéinémie et la diminution du taux plasmatique de folate (**Weisberg et al., 2001**). L'allèle 1298C est présent à une fréquence similaire (approximativement 9 à 10% d'homozygotie) à celle de l'allèle 677T chez la population Caucasienne (**Schwahn and Rozen, 2001**).

c- Le polymorphisme 1793G>A (rs2274976, Arg 594Glu)

Dans une étude englobant 507 individus représentant diverses ethnies, sélectionnés aléatoirement dans des milieux cliniques au Texas et à New-York, Rady et son équipe, ont récemment rapporté une substitution d'une Guanine en Adénine en position 1793, résultant dans le changement d'une Arginine en Glutamine au niveau du codant 594. Ces auteurs ont estimé à une fréquence de 1% l'allèle 1793A chez les Juifs Ashkénazes (n= 115), de 3% chez les Afro-Américains (n=97), de 7% chez les Caucasiens (n=159) et de 6% chez les Espagnols (n=95). Cependant, l'effet fonctionnel de ce polymorphisme sur la protéine MTHFR n'as pas encore été clairement établi (**Rady et al., 2002**).

IV.1.4 Répercussions biochimiques de l'altération de MTHFR

Le taux plasmatique à jeun des folates est influencé par divers facteurs génétiques et non génétiques, et les différences référentielles doivent être établies chez chaque type de population.

Cependant, l'hyperhomocystéinémie modérée a été définie à un taux plasmatique variant entre 16 et 30 mol/L et l'hyperhomocystéinémie intermédiaire entre 31 et 100 mol/L (**Malinow, 1994**). L'homozygotie de l'allèle 677T est le plus important déterminant génétique de l'hyperhomocystéinémie modérée. Néanmoins, l'effet de ce variant dépend du taux de folate (**Jacques et al., 1996**). Les individus ayant ce génotype sont particulièrement sensibles à la diminution de l'homocystéine par les folates, qui souvent résulte dans la normalisation du taux de l'homocystéine (**Malinow et al., 1997; Ward et al., 1997**).

Selon une étude rapportée, la stabilisation du folate dépendante de l'enzyme thermolabile mutante MTHFR, comme il a été démontré chez l'humain et la bactérie, pourrait contribuer à cette sensibilité du folate. De plus, la stabilisation de MTHFR serait dépendante de FAD qui est un cofacteur de l'enzyme (**Guenther et al., 1999**). Ces données ont mené à l'étude de la riboflavine et de la vitamine précurseur de FAD, et à les envisager comme de possible déterminants de l'homocystéine plasmatique.

C'est ainsi qu'une étude, a rapporté la riboflavine comme étant un déterminant important de l'homocystéine chez les individus portant au moins un allèle muté du polymorphisme 677C>T du gène *MTHFR* (**Hustad et al., 2000**). L'effet négatif de la relation entre l'homocystéine plasmatique et la cobalamine plasmatique s'est révélé être plus prononcé chez les individus avec un génotype homozygote 677TT. La cobalamine plasmatique influencerait également l'hyperhomocystéinémie dépendante de MTHFR (**D'Angelo et al., 2000**). Cette relation est dûe probablement au fait que le méthyl est transféré du CH₃-THF à l'homocystéine, réaction catalysée par la méthionine synthase, et nécessitant une cobalamine en tant que cofacteur.

Les autres conséquences métaboliques pour les homozygotes de l'allèle 677T sont la diminution du taux plasmatique de CH₃-THF (**Harmon et al., 1996**), et l'augmentation relative des folates formylés via la disponibilité accrue de CH₂-THF (**Bagley and Selhub,**

1998; Lucock et al., 2000). L'augmentation de l'homocystéine plasmatique et/ou la diminution du taux de CH₃-THF pourraient contribuer à une hypométhylation d'ADN plus importante chez les individus homozygotes 677TT, puisque MTHFR donne un groupement méthyl pour la synthèse de la S -adénylméthionine et les autres réactions de méthylation (**Stern et al., 2000**). L'augmentation de l'homocystéine peut également entraîner une diminution de la méthylation en augmentant la production de S-adénylhomocystéine (AdoHcy ou SAH), par inversion à la réaction AdoHcyhydrolase; AdoHcy est un inhibiteur de la méthyltransférase dépendante de l'AdoMet.

Des changements de méthylation de l'ADN affectent l'expression des gènes. En effet, une déficience de MTHFR peut influencer l'amorce et le développement du processus oncogénique (**Deltour et al., 2005**).

Par ailleurs, une redistribution des métabolites du folate peut affecter la synthèse des purines et des pyrimidines. Une carence en folates, résulte en une mauvaise incorporation d'uracile dans l'ADN lors de la réplication, engendrant une augmentation des cassures double brin au cours de la réparation par excision de l'uracile (**Blount et al., 1997**).

IV.1.5 Association *MTHFR* et pathologies

Le polymorphisme 677C>T du gène *MTHFR* a été extrêmement étudié dans une large variété de pathologies, tandis que le polymorphisme 1298A>C a été minoritairement rapporté.

Une augmentation modérée du taux de l'homocystéine plasmatique, est retrouvée plus fréquente chez les individus atteints d'athérosclérose, de maladie athérothrombotique (ou athérombose) et de thromboembolie veineuse par rapport aux individus sains. De plus, il existe une corrélation positive entre la sévérité de la maladie et le taux d'homocystéine (**Ueland et al., 2000**).

Plusieurs études ont démontré une association positive du génotype homozygote pour l'allèle 677T avec les maladies vasculaires. Une incidence élevée de l'homozygotie de l'allèle 677T a été observée chez les patients atteints de maladie coronarienne prématurée (**Gardemann et al., 1999; Kluijtmans et al., 1996**), d'infarctus cérébral (**Morita et al., 1998**), et de thrombose veineuse (**Margaglione et al., 1998; Salomon et al., 1998**). Une

incidence élevée du génotype homozygotes 677T a également été retrouvée chez les enfants des parents atteints de maladies cardiovasculaires (**Tonstad et al., 1998**).

Les patients avec une défaillance rénale avaient un taux plasmatique d'homocystéine élevé, et une incidence de maladies cardiovasculaires plus importante (**Bostom and Culleton, 1999; Robins et al., 1972**). L'augmentation de l'homocystéine est influencée par les polymorphismes du gène *MTHFR* (**Fodinger et al., 1997**) tant bien que par le statut nutritionnel et autres facteurs non déterminés (**Van Guldener and Robinson, 2000**).

Le polymorphisme 677C>T a été fréquemment associé aux anomalies du tube neural. Cependant, même si ce polymorphisme est considéré comme étant leur premier facteur génétique prédisposant, seule une petite fraction des cas de ce type d'anomalies (approximativement 10%) est attribuée aux polymorphismes du gène *MTHFR*. Par ailleurs, il a été rapporté qu'une utilisation périconceptionnelle des suppléments d'acide folique ou des multivitamines, réduisaient les différentes malformations congénitales (**Czeizel and Dudas, 1992**).

Plusieurs études se sont intéressées à de possibles associations entre le polymorphisme 677C>T, la fente labiale non syndromique, la fente palatine et la trisomie 21. Tandis que l'association n'a pas été démontrée avec la fente labiale non syndromique ou la fente palatine (**Martinelli et al., 2001; Shaw et al., 1998**), il a été rapporté par deux études différentes, une incidence élevée de l'allèle 677T chez les mères des trisomiques (**Hobbs et al., 2000; James et al., 1999**). De même, il a été rapporté chez les mères des enfants ayant le syndrome de l'anticonvulsivant (**Dean et al., 1999**).

Une étude rapporte une incidence élevée du génotype homozygote 677TT parmi les patients hyperhomocystéiniques avec une démence vasculaire en comparaison avec les patients hyperhomocystéiniques avec infarctus cérébral mais sans démence (**Yoo et al., 2000**). Il a été aussi rapporté une incidence élevée du génotype 677TT chez les patients souffrant de migraines (**Kowa et al., 2000**). L'hyperhomocystéine est également plus fréquente chez les patients schizophrènes (**Regland et al., 1995**), et l'implication d'un désordre dans le métabolisme du méthyl a été démontrée dans cette pathologie (**Sargent et al., 1992**). Une petite étude de 11 patients souffrant de schizophrénie, sélectionné par une hyperhomocystéinémie, a démontré une augmentation disproportionnée du génotype homozygotes 677TT chez ces malades (**Regland et al., 1997**). Cela a été confirmé par une autre étude Japonaise sur des patients schizophrènes non sélectionnés (**Arinami et al., 1997**).

Sur le plan néoplasique, *MTHFR* a également fait l'objet de plusieurs études d'associations avec différents types de cancers. En effet, des changements au niveau de l'activité de *MTHFR* et l'approvisionnement en folate, possèdent des conséquences directes sur la balance nucléotidique, la synthèse et la réparation d'ADN et d'ARN, et la méthylation de l'ADN (**Kim, 2000**), ce qui pourrait favoriser le processus de tumorigénèse.

Dans plusieurs études, l'incidence du génotype homozygote 677TT était significativement basse chez les patients avec un cancer du colon (**Ma et al., 1997; Slattery et al., 1999**). La diminution du risque attribuée au cancer du colon chez les individus 677TT pourrait être modifiée par les habitudes alimentaires et le mode de vie; tels que la carence en folates (**Ma et al., 1997; Slattery et al., 1999**), la consommation accrue d'alcool (**Chen et al., 1996; Ma et al., 1997**) ou bien une consommation diminuée de la méthionine (**Chen et al., 1996; Slattery et al., 1999**).

En revanche, la diminution de l'incidence du génotype homozygote 677T n'a pas été observée chez les patients ayant des lésions précancéreuses intestinales, telles que les polypes hyperplasiques colorectaux (**Ulrich et al., 2000**) ou les adénomes (**Chen et al., 1998; Marugame et al., 2000**). Une étude a montré une incidence du génotype 677TT augmentée seulement chez les patients atteints de carcinome colorectal et qui consomment du folate, pyridoxine (vitamin B6), et cobalamine (vitamin B12) (**Ulrich et al., 1999**), soulignant à nouveau l'importance du statut des folates dans l'évolution du risque tumoral.

Une incidence élevée du génotype 677TT a été également rapportée chez les patients avec un cancer du sein bilatéral, et avec ceux atteints du cancer du sein et un carcinome ovarien à la fois, contrairement à ceux souffrant d'un cancer du sein unilatéral (**Gershoni-Baruch et al., 2000**), et chez les patients avec une néoplasie intraépithéliale cervicale et un cancer endométrial (**Esteller et al., 1997; Piyathilake et al., 2000**).

Concernant les leucémies, l'étude de Skibola et son équipe rapporte une incidence significativement diminuée des génotypes 677TT et 1298CC chez les patients avec une leucémie aigue lymphoblastique d'adulte en comparaison aux témoins et aux patients souffrant de la leucémie aigue méloïde adulte (**Skibola et al., 1999**). Cette même diminution des génotypes 677TT et 1298CC chez les patients LAL, a été rapportée par une méta-analyse récente menée par Xiao et ses collaborateurs incluant 11 études chinoises (**Xiao et al., 2014**).

La méta-analyse menée par Dongs et al, rapporte que les individus asiatiques possédant le génotype homozygote muté du polymorphisme 1298A>C avaient un risque plus élevé de développer une leucémie aigue myéloïde (**Dong et al., 2014**). Tandis qu'une seconde méta analyse rapporte la non implication des deux polymorphismes 1298A>C et 677C>T dans le risque de survenue de la LAM (**He et al., 2014**). Concernant la LMC, les études se contredisent sur une possible association avec les polymorphismes du gène *MTHFR*; selon une méta analyse récente regroupant 12 études cas –témoins, l'allèle C du polymorphisme 1298A>C est associé à une diminution du risque de survenue de la LMC, alors que le polymorphisme 677C>T ne semble pas être associé à ce même risque (**Li et al., 2014**). Dans une étude menée sur la leucémie aigue pédiatrique, les deux variants 1298A>C et 677C>T du gène *MTHFR* sont associés à une diminution du risque de leucémies hyperdiploïdes (**Wiemels et al., 2001**). Cependant, la plupart de ces études ne considèrent pas le statut des folates des populations d'études, ce qui les rend moins concluantes. Par ailleurs, l'association retrouvée avec le génotype homozygote 1298CC est aussi surprenante, considérant son impact relativement faible sur l'activité de l'enzyme et l'absence de son influence sur le taux de l'homocystéine.

IV.2 Le gène ATP Binding Cassette B1 (*ABCB1*)

IV.2.1 Structure du gène *ABCB1*

Le gène *ABCB1* (*ATP-binding cassette ABC*) connu aussi sous le nom de *MDR1* (*multidrug resistance*), est l'un des 49 membres de la superfamille des transporteurs ABC chez l'humain, cloné pour la première fois par Riordan et al en 1985 (**Riordan et al., 1985**). Le gène *ABCB1* est étendu et complexe, situé à moins de 25 kb du gène *ABCB4* sur le chromosome 7q21.12. Il couvre plus de 200 Kb du chromosome 7 humain et comprend 28 exons codant pour une séquence de 3,8 Kb (**Bodor et al., 2005**).

IV.2.2 Structure et fonction de la protéine *ABCB1*

Le gène *ABCB1* code pour une protéine transmembranaire de 170 Kda, appelée transporteur *ABCB1* ou encore P-glycoprotéine (P-gp); celle ci a été mise en évidence pour la première fois sur la lignée cellulaire CHO (*Chinese Hamster Ovary*) résistante à la colchicine puis ensuite sur diverses lignées cancéreuses chimiorésistantes (**Chinn and Kroetz, 2007**).

La protéine ABCB1 est une protéine transmembranaire, glycosylée et phosphorylée de 1280 acides aminés de long. Elle se compose de deux séquences homologues et symétriques de 610 acides aminés reliés par un segment de liaison flexible composé de 60 acides aminés. Chaque moitié a un domaine hydrophobe N-terminal contenant six domaines transmembranaires (TMD), suivis par un domaine hydrophile contenant un site de liaison nucléotidique (NDB) qui peut se lier à l'ATP et ses analogues (**Figure 10**) (**Marzolini et al., 2004**).

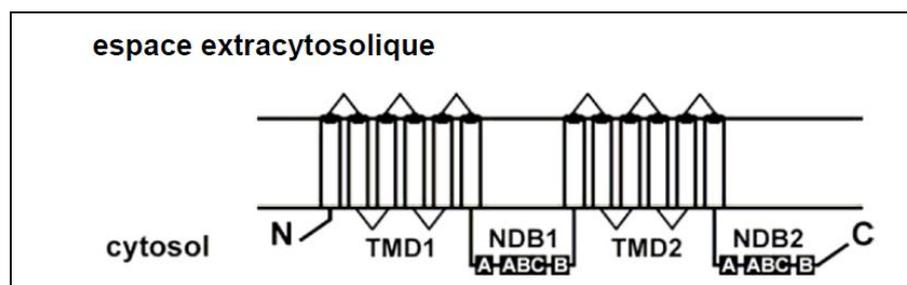


Figure 10: Structure du transporteur ABCB1

TMD: domaine transmembranaire, NDB: Motif à ATP binding cassette, ou se lie l'ATP (**Frelet and Klein, 2006**).

Le transporteur ABCB1 est exprimé principalement dans les régions qui agissent comme barrière épithéliale ou qui fonctionnent comme transporteurs d'efflux pour une large variété de composés naturels et de xénobiotiques lipophiles (**Juliano and Ling, 1976**). Cependant, le transporteur ABCB1 est localisé dans les membranes: plasmique, nucléaire, et celle du réticulum endoplasmique granuleux et de l'appareil de Golgi. On le trouve plus précisément au niveau des radeaux lipidiques et des cavéoles, microdomaines membranaires particulièrement riches en cholestérol. Ainsi, le transporteur ABCB1 est également présent dans de nombreux tissus sains de l'organisme, notamment ceux impliqués dans la pharmacocinétique des médicaments (**Schinkel, 1997**). Il est exprimé au niveau des tissus ayant des fonctions sécrétoires et excrétoires comme la surface canaliculaire des hépatocytes, le pôle apical des cellules tubulaires rénales et la bordure en brosse des entérocytes. ABCB1 est également exprimé au niveau des barrières sang-tissus comme la barrière hémato-encéphalique et le placenta ainsi que dans le coeur, les ovaires, les testicules et les surrénales. Enfin, il a été détecté dans les cellules souches hématopoïétiques, les cellules mononuclées du sang périphérique telles que les monocytes/macrophages, les cellules « Natural Killer » et les lymphocytes T et B (**Woodahl and Ho, 2004**).

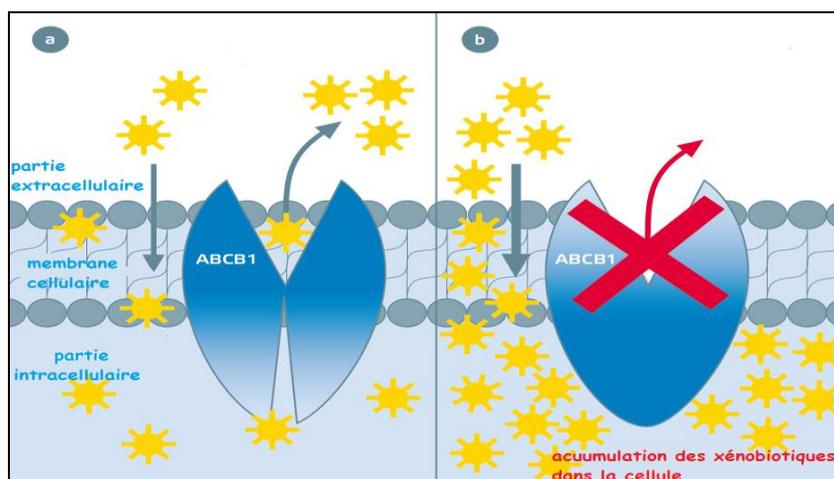


Figure 11: Fonction de la protéine ABCB1
 a)- La protéine ABCB1 fonctionne normalement
 b)- La fonction de la protéine ABCB1 est réduite.

Sur le plan fonctionnel (**Figure 11**), les différentes modifications conformationnelles mises en jeu lors de l'hydrolyse de l'ATP et du transport d'un substrat par ABCB1 impliqueraient les étapes suivantes (**Hennessy and Spiers, 2007; Sauna and Ambudkar, 2007**):

- Initiation de la voie de transport par la liaison de l'ATP et/ou du substrat.
- Changements conformationnels au niveau des NBD suite à la fixation et/ou à l'hydrolyse de l'ATP.
- Transmission des changements conformationnels aux TMD provoquant une diminution de l'affinité au niveau du site de liaison du substrat (phase de libération du substrat).
- Retour à la conformation initiale (réinitialisation de la pompe).

Par ailleurs, deux études alternatives ont proposé deux différents modèles de mécanismes d'action du transporteur ABCB1. Selon le modèle d'action de la première étude, lors de la fixation du substrat, les NBD se dimérisent et deux molécules d'ATP se fixent simultanément puis sont hydrolysées pour permettre le transport actif du substrat. Dans le modèle de la seconde étude, après fixation du substrat, les deux molécules d'ATP sont hydrolysées successivement et il n'y a pas de dimérisation des NBD. Donc, l'étape initiatrice est soit la dimérisation des NBD soit l'hydrolyse de l'ATP (**Ambudkar et al., 2006; Hennessy and Spiers, 2007**).

Plusieurs modèles de fonctionnement de la pompe ont été avancés, dont les plus pertinents seraient: l'aspirateur hydrophobe (*hydrophobic vacuum cleaner*) et la «flipase». Cette dernière est une enzyme qui intervient en facilitant la bascule de certains phospholipides d'un feuillet à l'autre au sein de la bicouche lipidique constituant une membrane. Le consensus général est que la pompe fonctionne comme un aspirateur hydrophobe extrayant le substrat de la membrane interne et le pompant directement jusqu'au milieu aqueux extérieur. Dans le modèle alternatif de «flipase », le substrat est flippé de la membrane interne vers la membrane externe ou directement dans le milieu extracellulaire (**Hennessy and Spiers, 2007**).

IV.2.3 Les polymorphismes du gène ABCB1

Le gène *ABCB1* se caractérise par divers polymorphismes, qui se situent dans différentes régions du gène, certains dans la région promotrice, d'autres dans les exons ou encore dans les introns (**Cascorbi, 2006**).

Les trois polymorphismes les plus connus sont les suivants : 1236C>T (rs1128503), 2677G>T/A (rs2032582), et 3435C>T (rs1045642). Ces derniers résident au niveau de la région codante pour la protéine et ont été le centre de plusieurs études de pharmacogénétique et d'association avec des pathologies.

a- Le polymorphisme 1236C>T (rs1128503, Gly412Gly)

Selon la database des SNP ou dbSNP (Single Nucleotide Polymorphisme Database), l'allèle C du polymorphisme 1236C>T (rs1128503), varie dans sa fréquence allélique de 30% à 93% en fonction de l'éthnie. Par ailleurs, l'allèle C est considéré comme étant l'allèle mineur dans la population Asiatique et l'allèle T comme étant l'allèle mineur dans la population Africaine (**Cascorbi et al., 2001**).

Le polymorphisme 1236C>T est un polymorphisme silencieux situé dans l'exon 12. Bien que, plusieurs études ont été menées afin de caractériser une association potentielle entre un phénotype et cette variation silencieuse, les données restent controversées et n'ont débouché sur aucun consensus (**Leschziner et al., 2007**).

b- Le polymorphisme 2677G>T/A (rs2032582, Ser893Ala/Thr)

Le SNP triallélique 2677G>T/A a été largement étudié car il représente le changement d'acide amine de la P-gp le plus commun. D'après les données du projet international HapMap (www.hapmap.org), la fréquence de l'allèle 2677T varie entre 2% à 56% selon les populations. Cependant, la fréquence du génotype homozygote 2677GG est importante dans les populations africaines (supérieure à 81%) en comparaison à celles caractérisant les populations, Américaine, Mexicaine, Italienne, Asiatique et Causcasienne, ou cette fréquence varie entre 10% et 32%. En revanche, l'allèle 2677A est bien moins commun, sa fréquence variant de 0% à 17 % dans les différentes ethnies (**Cascorbi et al., 2001; Yamauchi et al., 2002**).

Ce polymorphisme est localisé au niveau de l'exon 21, qui code pour le côté intracellulaire de la protéine après la dixième région transmembranaire, entraînant ainsi le remplacement d'un acide aminé apolaire (Sérine) par un acide aminé polaire (Alanine ou Thréonine). Cela pourrait affecter la structure secondaire et la conformation de la protéine ainsi que la précision de l'interaction avec ses substrats (**Siegmund et al., 2002; Tanabe et al., 2001**).

c- Le polymorphisme 3435C>T (rs1045642, Ile1145Ile)

Le SNP 3435C>T présente une très grande différence dans sa fréquence allélique inter ethnique, l'allèle 3435C variant de 34% à 90% au sein des différentes populations (**Dey, 2006; Sakaeda et al., 2003; Schwab et al., 2003a**). En 2000, une étude menée par Hoffmeyer et son équipe (**Hoffmeyer et al., 2000**) impliquant l'allèle 3435T avec altération de la fonction de la P-gp, a démontré une association du génotype 3435TT avec une faible expression de la p-gp au niveau du colon et une augmentation des concentrations plasmatiques de la digoxine relative au génotype 3435CC. Cette constatation a suscité beaucoup d'intérêt pour ce polymorphisme silencieux par rapport à l'expression de la P-gp et son activité, lequel a été retrouvé par la suite associé à l'altération de l'activité P-gp et à la réduction de sa fonction (**Leschziner et al., 2007**).

Cependant, d'après certains auteurs, l'effet fonctionnel observé attribué au polymorphisme 3435C>T peut néanmoins être la conséquence d'un déséquilibre de liaison

entre les polymorphismes 3435C>T et 2677G>T/A et/ou 1236C>T du gène *ABCB1* (Horinouchi et al., 2002; Tang et al., 2002). Par ailleurs, Kimchi-Sarfaty et ses collègues ont démontré à travers leur étude menée en 2007 que la mutation silencieuse 3435C>T dans la protéine de transport membranaire ABCB1, altère la spécificité du substrat. Cela laisserait croire que lorsque des codons fréquents sont remplacés par des codons rares non fréquemment utilisés, le temps de la co-translation et le repliement de la protéine est affecté, ce qui engendre l'altération de sa fonction (Kimchi-Sarfaty et al., 2007).

IV.2.3 Effet de la protéine ABCB1 et son association avec certaines pathologies

La protéine ABCB1 (P-gp) est de forme toroïdale, avec 10nm de membrane symétrique possédant un pore central de 5nm. Ce large pore central pourrait expliquer la grande variété des substrats spécifiques à la P-gp. Les substrats sont exogènes ou endogènes et pour la plupart lipophiles (Rosenberg et al., 1997).

Initialement, le transporteur ABCB1 a été rapporté comme étant impliqué dans la résistance à la chimiothérapie dans le traitement du cancer. De nombreuses résistances aux différents traitements ont été associées à ce transporteur, et ceci à cause du fait que celui-ci effluait les traitements des cellules, limitant ainsi leur biodisponibilité. Cela a généré un grand intérêt pour le rôle de ce transporteur dans la pharmacocinétique des traitements. Ainsi, les polymorphismes du gène codant le transporteur ABCB1 peuvent faire varier la pharmacocinétique de nombreux substrats transportés. Chez les individus présentant une augmentation de l'expression ou de la fonction du transporteur ABCB1, on s'attend alors à une diminution de la biodisponibilité par voie orale, une diminution des concentrations plasmatiques maximale et/ou une augmentation de la clairance (Leschziner et al., 2007).

Plusieurs études se sont concentrées sur l'influence des polymorphismes génétiques du transporteur ABCB1 dans les variations de la pharmacocinétique des substrats médicamenteux et dans la variabilité de la réponse biologique à ces traitements. Des études cliniques ont démontré que le génotype 3435CC est en faveur d'une rémission complète chez les patients LAM, et à une résistance vis à vis des traitements anti épileptiques (Siddiqui et al., 2003). De plus, il augure un long traitement stéroïdien dans les cas des transplantations cardiaques chez les enfants (Zheng et al., 2002). Alors que, le génotype 3435TT prédit la réponse à la chimiothérapie préopératoire dans le cancer du sein (Kafka et al., 2003), et est

significativement associé à une absence ou une faible expression de ABCB1 dans les lignées cellulaires du carcinome mammaire et ovarien (**Sauer et al., 2002**). Le variant biallélique 2677A/T est associé à une neurotoxicité par le tacolimus chez les sujets ayant subi une transplantation du foie (**Yamauchi et al., 2002**). Quant au polymorphisme 1236C>T, celui-ci a été corrélé avec la réponse clinique à la paroxétine chez les patients souffrant de dépression majeure (**Kato et al., 2008**), et avec l'effet positif de l'antihistaminique fexofénadine (**Alzoubi et al., 2013**). Une autre étude a conclu que ce même polymorphisme pourrait aider à l'optimisation de la dose d'irinotécan chez les patients cancéreux (**Mathijssen et al., 2003**).

Enfin, les polymorphismes d'*ABCB1* pourraient influencer la susceptibilité à certaines maladies. En effet, les polymorphismes de ce gène provoqueraient une modification de sa fonction de protection de l'organisme et modèleraient la susceptibilité à certaines maladies (**Marzolini et al., 2004a**).

Les polymorphismes d'*ABCB1* influenceraient ainsi la susceptibilité aux maladies inflammatoires chroniques (**Annese et al., 2006**). L'association la plus constante étant celle entre l'allèle muté en 3435C>T et une augmentation du risque de maladie ulcéreuse (**Schwab et al., 2003b**). De plus, il a été montré que l'allèle 3435T aurait un rôle prédisposant pour la maladie de Parkinson (**Furuno et al., 2002**), surtout si celle-ci fait suite à une exposition aux pesticides, substrats d'*ABCB1* (**Drozdik et al., 2003**). Ceci va dans le sens de l'observation que l'expression de l'ARNm d'*ABCB1* au niveau de la barrière hémato-encéphalique serait liée à l'étiologie et à la pathogénèse de troubles neurologiques comme Alzheimer et Parkinson (**Lee and Bendayan, 2004**). Le polymorphisme 3435C>T est associé à l'apparition du syndrome coronarien aigu et aux infarctus du myocarde (**Wang et al., 2014**) et pourrait également être associé au risque de certaines maladies rénales chroniques (**Liu et al., 2013**).

En cancérologie, l'allèle 3435T du polymorphisme 3435C>T a été corrélé avec un risque important de développement du carcinome rénal (**Siegsmond et al., 2002**) et pourrait aussi intervenir dans le risque de survenue du cancer du sein. Il a été également démontré, selon une méta-analyse menée par Qian X et ses collègues que le polymorphisme 3435C>T modifierait la susceptibilité à la leucémie, cependant l'association est plus importante avec les leucémies chroniques qu'avec les leucémies aiguës (**Qian et al., 2012**).

Toujours dans le même sens, deux études chinoises ont suggéré l'implication possible du gène *ABCB1* dans le risque d'émergence du cancer gastrique, cependant l'association concernait des polymorphismes peu communs de ce gène, puisqu'il s'agissait des variants

159G>T, 1564A>T et 3073A>C (Qiao et al., 2013; Zhou et al., 2014). Expliquant toutes ces associations, des études menées sur des souris génétiquement modifiées suggèrent que l'absence de fonction de la P-gp résulte en l'accumulation toxique des xénobiotiques favorisant ainsi le développement des néoplasies (Schinkel et al., 1994). Compte tenu de toutes ces données, il a été suggéré qu'une baisse de l'activité de la pompe d'efflux ABCB1 augmenterait le potentiel de l'effet carcinogène des substances lipophiles intracellulaires accumulées dans la cellule normale (Wang et al., 2013).

IV.3 Le gène X-ray Repair Cross Complementing Group 1 (*XRCC1*)

IV.3.1 Description du gène *XRCC1*

Le gène *XRCC1* code pour une protéine portant le même nom XRCC1, nécessaire à la réparation des lésions induites sur l'ADN par les rayons ionisants (RI), le stress oxydatif et les agents méthylants, via les voies BER (*Base Excision Repair*) et SSBR (*Single-Strand Break Repair*) (Mohrenweiser et al., 1989). Chez l'humain, le gène *XRCC1* est localisé sur le chromosome 19q13.2; il s'étend sur une distance génétique de 33kb et est composé de 17 exons codants pour une protéine de 70kda constituée de 633 acides aminés (Lamerdin et al., 1995). Selon les domaines protéiques résultants, les 17 exons sont répartis en 5 groupes: Les exons 1 à 5, ainsi qu'une partie de l'exon 6 codent pour le domaine N-terminal de la protéine qui comprend 183 acides aminés. L'exon 8 code pour un peptide de 16 acides aminés situé entre les acides aminés 243 et 259; c'est le domaine NLS. Une partie de l'exon 9 et l'exon 10 codent pour le domaine protéique BRCT1 qui s'étend de 314 à 404 acides aminés. L'ensemble des exons 11, 12, 13 et 14 codent pour le peptide « linker » qui s'étend entre l'acide aminé 404 et l'acide aminé 508. Enfin les derniers exons 16 et 17 codent pour le domaine BRCT2, un peptide localisé entre les acides aminés 508 et 633 (Hanssen-Bauer et al., 2012).

IV.3.2 Structure et fonction de la protéine XRCC1

La protéine XRCC1 est un facteur essentiel dans la réparation de l'ADN par les voies BER et SSBR.

Cette protéine qui n'a pas une activité enzymatique propre n'en a pas moins un rôle central dans les processus de réparation; ses multiples interactions par ses domaines

protéiques lui permettent d'organiser les différentes étapes des voies BER et SSBR, recrutant et stimulant les autres facteurs de réparation.

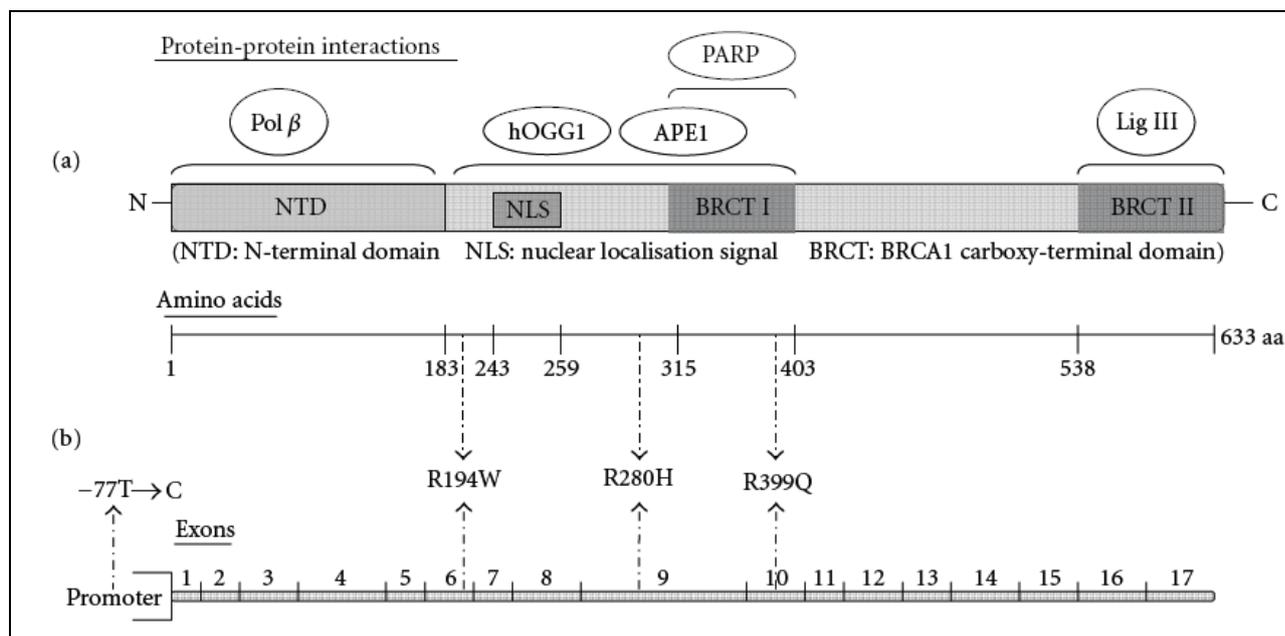


Figure 12: Schéma du gène et de la protéine XRCC1 chez l'humain

Le schéma montre (en haut) l'interaction des domaines protéiques de XRCC1 avec les différentes protéines impliquées dans la voie de réparation BER, ainsi que les SNPs du gène les plus étudiés (en bas) (Sterpone and Cozzi, 2010).

XRCC1 est une protéine ayant une séquence très conservée au cours de l'évolution, comportant différents domaines structuraux et fonctionnels (Figure 12)

1- Le domaine NTD (domaine N-terminal) forme un site d'interaction avec l'ADN polymérase β au cours du BER/SSBR (Kubota et al., 1996); ce domaine assure aussi le recrutement de la Pol β sur l'ADN endommagé, ainsi que la stimulation de son activité (Lan et al., 2004; Petermann et al., 2006).

2- Le domaine NLS (Domaine de signal de localisation nucléaire) responsable de la localisation cellulaire de la protéine (Masson et al., 1998).

3- Le domaine BRCT 1 (BRCA1 C-terminal Domain 1) compris entre les résidus 314 et 403, ce domaine présente de fortes homologies avec l'extrémité C-terminal de la protéine associée au cancer du sein BRCA1 (*Breast Cancer 1*). Les domaines BRCT ont une séquence généralement bien conservée au cours de l'évolution, et ont une structure secondaire

commune constituée d'un feuillet de quatre brins β entourée de trois ou quatre hélices α (**Figure 13.A**).

Le domaine BRCT1 est essentiel au redémarrage des fourches de réplication après la réparation de l'ADN au cours de la phase S du cycle cellulaire, suggérant le rôle de réparation pour la protéine XRCC1 des dommages de l'ADN couplée à la réplication (**Kubota and Horiuchi, 2003**). En plus, le domaine BRCT1 de XRCC1 est partiellement responsable des interactions avec les glycolases OGG1; ces protéines sont à l'origine du traitement des bases endommagées ; ces interactions permettent la stimulation de ces protéines et favorisent le bon déroulement du BER (**Marsin et al., 2003**).

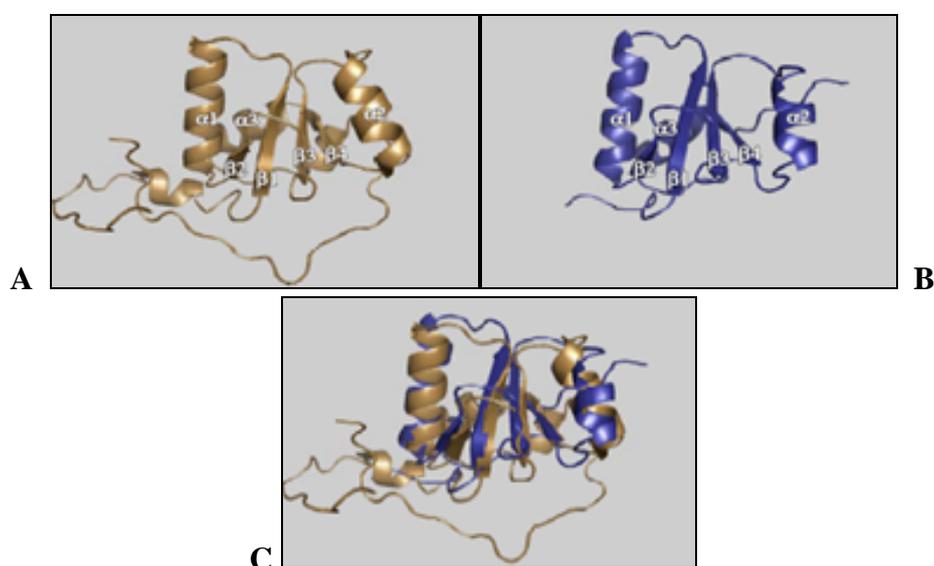


Figure13:Structures tridimensionnelles des domaines BRCT 1 et BRCT 2 de la protéine XRCC1

- A.** Structure du domaine BRCT 1 obtenue par résonance magnétique nucléaire ;
- B.** Structure du domaine BRCT 2 obtenue par cristallographie et diffraction aux rayons X ;
- C.** Alignement des domaines BRCT 1 et BRCT 2. (**Zhang et al., 1998**).

4- Le domaine linker situé entre les domaines BRCT 1 et 2 contient des sites de phosphorylation pour la Caséine Kinase 2 (CK2) qui est impliquée dans la réponse au stress cellulaire en phosphorylant la Sérine 392 de la protéine P53 (**Loizou et al., 2004**). La région linker interagit aussi avec la Polynucléotide Kinase (PNK) (**Whitehouse et al., 2001**) et avec l'Aprataxine (Aptx)(**Gueven et al., 2004**); ces dernières sont deux enzymes importantes lors de la réparation de l'ADN par les deux voies BER et SSBR.

5- Le domaine BRCA1 C-terminal Domain 2 (BRCT 2) se situe entre les acides aminés 538 et 633. Le domaine BRCT 2 est le premier domaine BRCT dont la structure tridimensionnelle a pu être déterminée par cristallographie aux rayons X, ce qui a permis de modéliser le domaine BRCT1 (**Zhang et al., 1998**). Il assure aussi la liaison entre XRCC1 et l'ADN Ligase III α qui possède de son côté un domaine BRCT (BRCA1 C-terminal Domain) lui aussi impliqué dans cette interaction. En effet une hétérodimérisation est le résultat du dimère XRCC1/ADN Lig III α par leurs deux domaines BRCT (**Figure 13.B**) (**Caldecott et al., 1994; Nash et al., 1997; Taylor et al., 1998**).

IV.3.3 Système de réparation d'ADN par excision de base

La réparation par excision de base « BER » est un processus multienzymatique de réparation qui prend en charge les modifications de bases comme la méthylation, l'oxydation, la réduction ou l'endommagement de bases par les radiations ionisantes et le métabolisme oxydatif normal de la cellule (**Seeberg et al, 1995; Yu et al, 1999**).

Généralement, les bases modifiées de l'ADN sont excisées à l'aide des glycosylases spécialisées, qui produisent des sites AP. Ces sites AP sont des substrats pour les AP endonucléases 1 (APE1) qui hydrolysent la liaison phosphodiester et génèrent ainsi une coupure simple brin. Les protéines XRCC1 et PARP1 « *Poly ADP ribose Polymérase 1* » interviennent alors et recrutent une protéine PNK « *Polynucléotide kinase* » qui phosphoryle l'extrémité 5'OH et déphosphoryle l'extrémité 3'P au niveau de la coupure.

Le BER comprend 2 voies de réparation: le Short Patch Repair et le Long Patch Repair. Chez les mammifères le Short Patch Repair est dominant. Dans cette voie, la DNA polymérase Bêta (Pol β) remplace la base excisée et élimine le résidu terminal du pentose abasique grâce à son activité lyase. Ensuite, le complexe XRCC1-Ligase III joint la base nouvellement remplacée et le reste du brin d'ADN. Le Long Patch Repair nécessite la coopération des polymérases Pol β et Pol δ , et le facteur nucléaire PCNA « *Proliferating Cell Nuclear Antigen* » pour la synthèse réparatrice d'un patch de 2 à 10 bases, en utilisant le brin complémentaire non endommagé comme matrice, ce qui provoque un chevauchement (*flap*) qui devra être éliminé par FEN1 « *Flap Endonuclease 1* ». Enfin, une ligase I doit restaurer la continuité de l'ADN (**Figure 14**) (**Lindahl & Wood, 1999; Robertson et al, 2009; Spirio et al, 1993**).

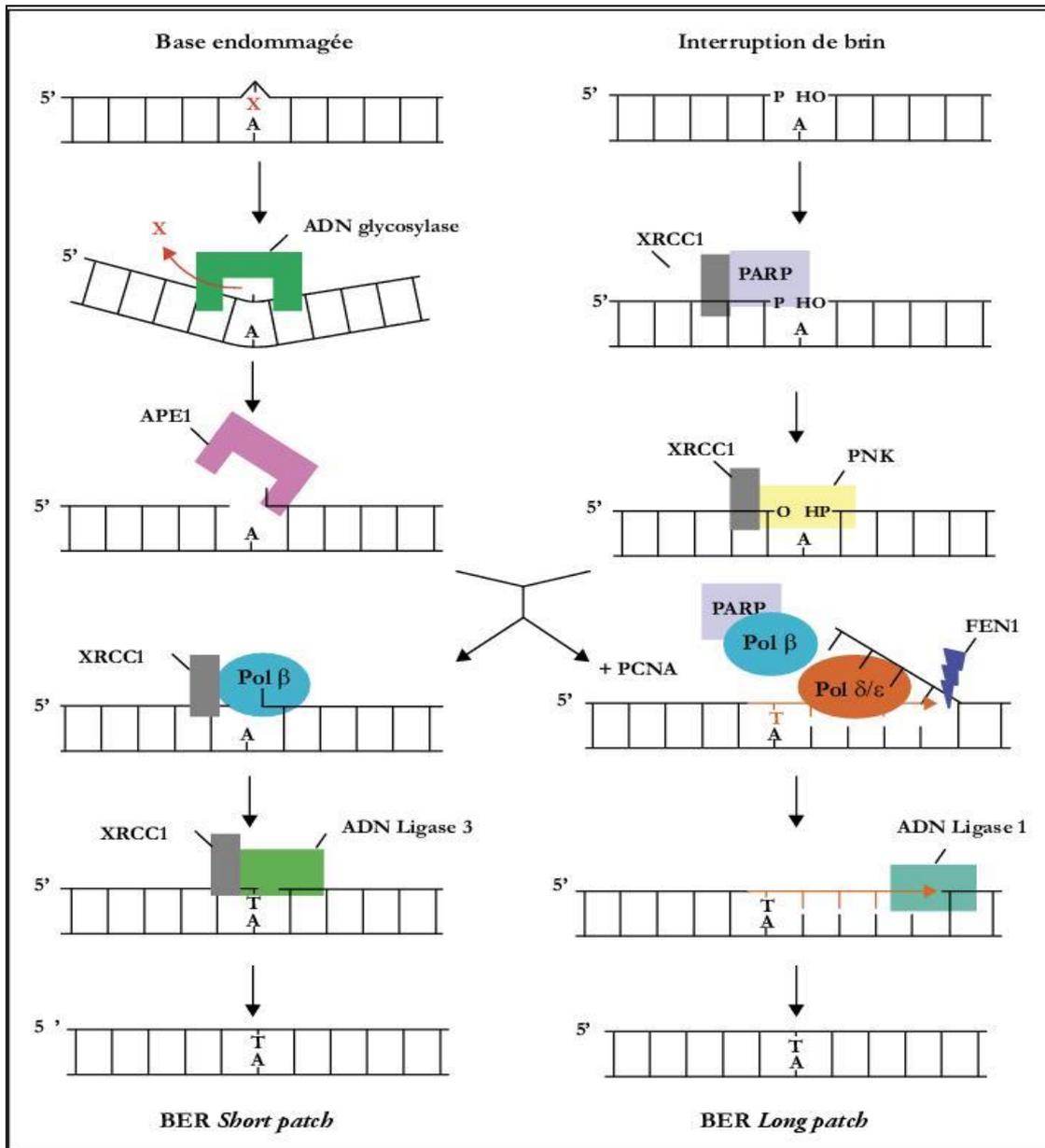


Figure 14: Réparation des cassures simple brin de l'ADN suivant les différentes étapes des voies BER et SSBR (Pourquier, 2006).

IV.3.4 Les polymorphismes du gène *XRCC1*

Les rôles multiples et centraux de la protéine XRCC1 dans la réparation de l'ADN font d'elle un acteur majeur dans le maintien de l'intégrité du génome, il était donc nécessaire de chercher à savoir si d'éventuelles polymorphismes génétiques affectant la protéine pouvaient être liés à un défaut de réparation de l'ADN et à une prédisposition au

développement des cancers. C'est dans cette optique que de nombreuses études se sont attelées à explorer des polymorphismes du gène *XRCC1*.

Plus de soixante polymorphismes de type SNP ont alors été repertoriés et seuls trois d'entre eux ont été rapportés comme étant particulièrement représentés dans la population humaine et ont ainsi été largement plus étudiés.

a- Le polymorphisme 580C>T (rs1799782, Arg194Try)

Le polymorphisme 580C>T se situe au niveau de l'exon 6 et résulte dans la transition de l'acide aminé Arginine en acide aminé Tryptophane en position 194, siégeant au niveau de la région N-terminal de la protéine. Ce polymorphisme est retrouvé dans la population humaine à une fréquence approximative de 13% mais avec une certaine hétérogénéité selon la provenance géographique des populations (**Ladiges et al., 2003**).

Le polymorphisme 580C>T a été rapporté par différentes études comme étant associé à une diminution du risque d'apparition de divers cancers, ce qui peu sembler surprenant car un SNP est généralement associé plutôt à un risque accru du cancer (**Goode et al., 2002**). De plus, les cellules d'individus exprimant le variant 580T se révèlent moins sensible aux agents génotoxiques comme la Bléomycine, un radiomimétique induisant des cassures simples et double brins dans l'ADN, et le Benzo [a] Pyrène–Diol Epoxide (BPDE), un agent génotoxique formant des adduits covalents sur la molécule d'ADN (**Wang et al., 2003**). L'explication moléculaire de cette protection contre la survenue des cancers de la part de ce polymorphisme n'a pas encore été élucidée. Cependant il a été suggéré que la transition d'une Arginine chargée positivement en un Tryptophane hydrophobe, pourrait favoriser l'interaction avec certains partenaires de *XRCC1* au cours de la réparation de l'ADN (**Ladiges, 2006**).

b- Le polymorphisme 8396G>A (rs25489, Arg280His)

Ce polymorphisme se situe au niveau de l'exon 9 du gène *XRCC1*, et résulte en une transition de l'acide aminé Arginine en acide aminé Histidine en position 280; l'allèle 8396A est retrouvé chez moins de 7% des individus, et a été l'objet de moins d'études que les autres polymorphismes (**Ladiges et al., 2003**). Les études épidémiogénétiques entreprises sur ce polymorphisme ne convergent pas toutes quant à son impact sur une éventuelle prédisposition au cancer (**Hung et al., 2005b**). Cependant, l'étude in-vitro de ce variant a

fournit des résultats plus concluants; en effet, dans cette étude, les cellules lymphoïdes d'individus exprimant le variant 8396A présentaient un nombre plus important de cassures chromosomiques après traitement à la Bléomycine, par rapport à ceux arborant l'allèle 8396AG, traduisant une sensibilité accrue à cet agent génotoxique (**Tuimala et al., 2002**).

c- Le polymorphisme 1196G>A (rs25487, Arg 399Glu)

Le polymorphisme 1196G>A se situe au niveau de l'exon 10 du gène *XRCC1*. Il se traduit en une transition de l'acide aminé Arginine en acide aminé Glutamine en position 399; ce polymorphisme est localisé au sein du domaine BRCT1 de la protéine XRCC1, domaine impliqué dans de nombreuses interactions protéiques. A l'état normal, le domaine BRCT1 de la protéine XRCC1 porte quatre hélices α et trois feuillets β ; au niveau de la protéine modifiée, on a remarqué l'absence de deux hélices α essentielles à l'interaction entre le domaine BRCT1 et PARP lors de la réparation de l'ADN et d'un feuillet β . Cette suppression pourrait altérer les caractéristiques fonctionnelles importantes de la protéine XRCC1 (**Monaco et al., 2007**). L'allèle 1196A est de loin le plus représenté, présent à une fréquence d'environ 27% dans la population; il est aussi le plus documenté par rapport aux autres polymorphismes; les données épidémiogénétiques relatives au polymorphisme 1196G>A et son implication dans la survenue du cancer sont assez contradictoires (**Ladiges et al., 2003**). Les études *in vitro* sont, quant à elles, un peu plus concordantes. Ainsi, les cellules lymphoïdes d'individus portant le variant 1196A accumulent des cassures chromosomiques après exposition à la Bléomycines et d'adduits covalents sur l'ADN après exposition au benzo(a)pyrène diol-époxyde (BPDE), que les cellules représentant l'allèle normal 1196G (**Wang et al., 2003**). De plus, il a été rapporté que l'irradiation aux rayons X ou UV des cellules sanguines induit plus de délétions chromosomiques pour les individus arborant l'allèle 1196A, que ceux qui expriment l'allèle 1196G (**Au et al., 2003**).

IV.3.4 Association des polymorphismes du gène *XRCC1* avec différentes pathologies cancéreuses

Des lésions au niveau des bases, des sites abasiques et des cassures au niveau des brins d'ADN sont relativement communs dans les lésions d'ADN, car ils sont induits continuellement par des agents réactifs endogènes, générant ainsi des processus de synthèse d'ADN erroné. Des changements mineurs dans l'efficacité de la voie BER altérant la stabilité

génomique pourraient avoir un impact potentiellement importantsur le risque de survenue du cancer. Les polymorphismes 580C>T, 8396G>A, et1196G>A du gène *XRCCI* ont été largement étudiés dans ce sens (**Hanssen-Bauer et al., 2012**).

Les études entreprises sur le polymorphisme 580C>T rapportent son association avec un risque réduit d'apparition du cancer chez les personnes portant l'allèle 580T(**Goode et al., 2002**). En effet, ces données ont été confirmées par une étude Russe portant sur plus de 200 cas, montrant que le variant est lié à une protection vis à vis du cancer du poumon chez les patients fumeurs (**Hung et al., 2005a**). De plus, une méta-analyse confirme que ce même polymorphisme est lié à une protection vis à vis de tous les cancers liés au tabac (**Hung et al., 2005b**). Cependant, le génotype homozygote muté du polymorphisme 580C>T a été rapporté comme étant associé à une augmentation du cancer du foie chez les Asiatiques, alors que le génotype heterozygote 580CT réduit ce même risque chez les Caucasiens (**Jiang et al., 2010**).

Concernant le polymorphisme 8396G>A, une méta-analyse de huit études indépendantes portant sur différents types de cancers , a montré une légère augmentation du risque de développement du cancer avec le variant 8396A (**Hu et al., 2005a**). Une autre méta-analyse conclue qu'il n'existe pas de lien notable entre ce SNP et une prédisposition au cancer (**Hung et al., 2005b**). Enfin, une étude rapporte une diminution du risque de développement du cancer du poumon chez les individus pratiquant un tabagisme élevé (**Hung et al., 2005a**). Il est donc à ce jour, globalement difficile de conclure à l'existence d'un impact éventuel de ce polymorphisme sur le risque de survenue du cancer.

Différentes études ont montré une association entre le SNP 1196G>A du gène *XRCCI* et l'apparition de divers cancers, parfois en tant que facteur favorisant, parfois en tant que facteur protecteur. Ainsi le SNP 1196G>A a pu être relié à un risque accru de développement du cancer de poumon chez les Asiatiques et les Africains (**Hu et al., 2005a**) de l'estomac et le gliome chez les Chinois (**Shen et al., 2001; Hu et al., 2011**), ou de la peau chez les Américains (**Goode et al., 2002; Nelson et al., 2002**). Paradoxalement, il diminuerait le risque de développement du cancer de l'œsophage, précisément chez les alcooliques (**Lee et al., 2001**). Une étude Iranienne suggère que ce polymorphisme, ainsi que le polymorphisme 8396G>A, seraient associés au cancer de la thyroïde (**Fard-Esfahani et al., 2011**). Une méta-analyse a montré que lorsque les individus sont répartis par classe selon leur provenance ethnique, le polymorphisme 1196G>A serait synonyme d'une augmentation du risque du développement d'un cancer chez les individus Asiatiques et Africains (**Hu et al., 2005b**).

D'après une autre méta-analyse regroupant 12 études sur le cancer du poumon, il n'existerait aucune association entre le polymorphisme 1196G>A et le risque d'émergence de ce cancer dans la population globale. En revanche en séparant les individus selon leur degré de tabagisme, les auteurs de cette étude ont remarqué que le SNP 1196G>A protégeait les gros fumeurs contre l'apparition de ce cancer, alors qu'il semblait plutôt favoriser son apparition chez les fumeurs occasionnels. Cette même analyse regroupant les données de sept études sur le cancer du tractus aérodigestif a montré l'absence totale d'association avec le SNP 1196G>A (**Hung et al., 2005a**). A propos d'un autre cancer, une autre méta-analyse sur le cancer du sein, quant à elle a rapporté que le polymorphisme 1196G>A serait associé à un risque accru de développement de ce type de cancer chez les populations Asiatique et Africaine (**Wu et al., 2011**).

IV.4 Le gène Fms- Like tyrosine kinase 3 (*FLT3*)

IV.4.1 Description du gène *FLT3*

Le gène *FLT3* également appelé *FLK-2* (fetal liver kinase 2) ou *STK-1* (human stem cell kinase 1), est un gène situé en 13q12, comportant 24 exons, et codant pour un récepteur de tyrosine kinase de classe III (RTK III) (**Abu-Duhier et al., 2001**). Le *FLT3* est préférentiellement exprimé par les cellules souches et les progéniteurs hématopoïétiques aussi bien que dans le cerveau, le placenta, et le foie. Le ligand du *FLT3* (*FLT3L*) est exprimé par les cellules de la moelle osseuse et son rôle est de stimuler des cellules souches, avant que son expression ne diminue au cours de l'hématopoïèse (**Ozeki et al., 2004**). Le *FLT3* joue un rôle important dans la prolifération, la différenciation (**Park et al., 2011**), et la survie des cellules souches multipotentes, en synergie avec d'autres facteurs de croissance (**Llopis 2009**). La forme sauvage du *FLT3* est retrouvée dans 60 à 80% des blastes de LAM (**Bayle et al., 2004**).

IV.4.2 Structure et fonction de la protéine *FLT3*

La protéine *FLT3* est composée de 933 acides aminés; elle est caractérisée par la présence de cinq domaines extracellulaires (E) de type immunoglobuline, un domaine transmembranaire (TM), un domaine juxta-membranaire (JM) et deux domaines tyrosine kinase (TKD) (**Llopis et al., 2009**)(**Figure 15 et 16**). A l'état sauvage inactif, la protéine a une conformation monomérique et ce n'est qu'en présence de son ligand (*FLT3L*) que la protéine se présente alors sous forme dimérique et devient active. La dimérisation de la

protéine induit la phosphorylation du domaine TK, avec pour conséquence l'activation du récepteur FLT3 et de la cascade d'événements qui en dérivent. Les récepteurs, sont internalisés et dégradés, une fois leur fonction accomplie (**Figure 17**)(Stirewalt and Radich, 2003).

Le ligand du FLT3 (FLT3L) est une protéine de 235 acides aminés, transmembranaire de type 1, codée par le gène *FLT3L*. La protéine FLT3L contient un peptide signal amino-terminal, quatre domaines d'hélices extracellulaires, des régions d'espacement et d'ancrage, un domaine transmembranaire et un domaine cytoplasmique de petite taille. Le groupe des protéines transmembranaire type I inclut le ligand du gène KIT et du gène M-CSF (CSF1); ces trois protéines ont des tailles et des structures similaires (**Hannum et al., 1994; Lyman et al., 1993**).

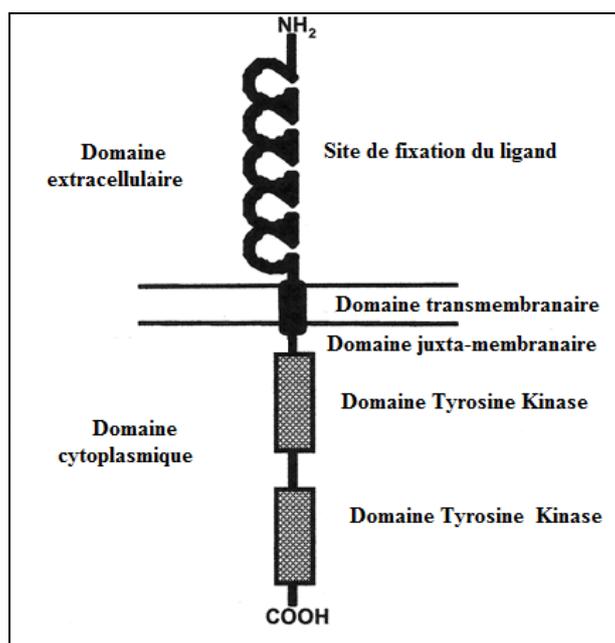


Figure 15: Représentation des différents domaines de la protéine FLT3 (Small, 2006).

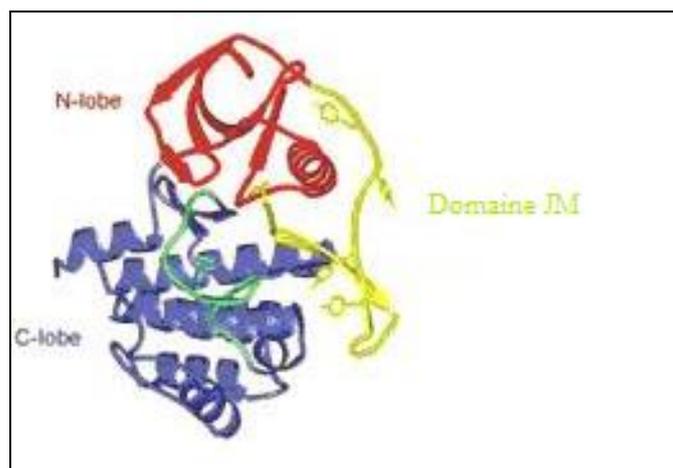


Figure 16: Schéma des rubans et des surfaces de FLT3 qui montrent la disposition spatiale des différents éléments de la structure de la molécule

Le domaine N-terminal kinase (rouge) et le domaine C-terminale kinase (bleu) comprennent le pliage kinase standard. La boucle d'activation (vert) est repliée vers le haut entre les deux domaines de kinase. Le domaine JM (jaune) s'étend sur la longueur de la molécule. Toutes les tyrosines dans le domaine JM et la boucle d'activation sont affichées comme des représentations de « baton » (Stirewalt and Radich, 2003).

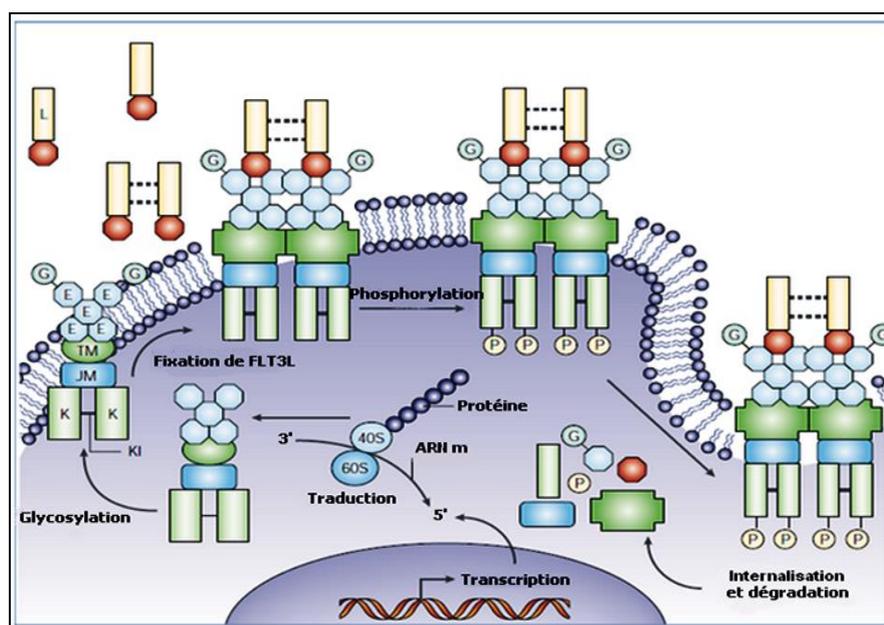


Figure 17: Fonction de la protéine FLT3

La protéine FLT3 cytoplasmique subit une glycosylation (G), qui favorise la localisation du récepteur sur la membrane. Le FLT3 sauvage reste monomère, une protéine inactivée sur la surface de la cellule jusqu'à ce que le ligand du FLT3 (FLT3L), probablement sous une forme dimérique, se lie au récepteur et induit la dimérisation du récepteur. FLT3 favorisant ainsi la phosphorylation (P) des domaines de tyrosine-kinase, ce qui active les récepteur et les effecteurs en aval. Les récepteurs dimérisés sont rapidement internalisés et dégradés (Stirewalt and Radich, 2003).

IV.4.3 Les mutations de *FLT3*

Les mutations concernant le gène *FLT3* sont parmi les plus fréquemment retrouvées chez les patients atteints de LAM, puisqu'elles sont présentes chez 7 à 25% de ces patients (**Stirewalt and Radich, 2003**); elles sont de deux types:

Une mutation non-sens dans l'exon 20, c'est-à-dire au sein de la boucle d'activation du domaine tyrosine kinase TKD, et qui concerne 5 à 10% des patients atteints de LAM. Cette mutation implique le plus fréquemment le résidu acide aspartique au niveau du codon 835 (D835), et est associée à un mauvais pronostic (**Abu-Duhier et al., 2001**).

La deuxième mutation de ce gène, la *FLT3/ITD* est une duplication interne en tandem qui ne perturbe pas le cadre de lecture siégeant dans le domaine JM du récepteur, et touchant les exons 14-15; elle concerne environ 25% des adultes et 10% des enfants atteints de LAM. Cette mutation a été décrite pour la première fois en 1996 par l'équipe de Nakao (**Nakao et al., 1996**); les *FLT3/ITD* sont très hétérogènes et varient dans leurs tailles de 3-400 pb (**Gagyi et al., 2006**), et dans leur sites d'insertions (**Döhner and Döhner, 2008**). Ces duplications induisent une autophosphorylation constitutive du récepteur en absence de son ligand conduisant à une activation des voies de signalisation, provoquant ainsi une augmentation de la survie et de la prolifération des cellules immatures (**Llopis et al., 2009**).

La fréquence de la *FLT3-ITD* varie selon le type de la leucémie : on la retrouve préférentiellement dans les LAM de novo, à caryotype normal, ou présentant les translocations t(15; 17) ou t(6; 9) ; à l'inverse, elle est retrouvée moins fréquemment dans les LAM M2 (**Yanada et al., 2005**). Cette mutation a également été détectée à une fréquence inférieure dans les syndromes myélodysplasiques (MDS) (**Griffith et al., 2004**).

IV.4.4 L'impact pronostic de *FLT3-ITD*

L'impact pronostic des *FLT3-ITD* est de mieux en mieux connu. De nombreuses études rapportent un pronostic défavorable pour les patients concernés par la duplication, avec une diminution de la survie globale (OS) et de la survie sans maladie (DFS), alors que le taux de la rémission complète (RC) semble ne pas être affecté, et ce indépendamment des autres facteurs dans les LAM à caryotype normal (**Schlenk et al., 2008**). Ces duplication sont des mutations somatiques ; ceci a été démontré par l'absence de la duplication chez des patients en RC et qui étaient positifs pour la *FLT3/ITD* au moment du diagnostic (**Mead et al., 2007**).

La plupart des mutations de gain de fonction sont associées à un effet dominant négatif, où la protéine mutante interfère d'une façon ou d'une autre avec la fonction de la protéine normale découlant de l'allèle sauvage WT sur l'autre chromosome dans le cas de l'hétérozygotie. La FLT3-ITD est souvent retrouvée à l'état hétérozygote. La connaissance du ratio entre la quantité de l'allèle muté et celle de l'allèle sauvage est très importante car plus le ratio est élevé (en faveur de la forme muté), jusqu'à la perte de l'hétérozygotie, plus le pronostic est péjoratif (**Whitman et al., 2001**).

*Problématique
et objectifs*

La leucémie myéloïde chronique (LMC) fait partie des syndromes myéloprolifératifs, caractérisée par la présence d'une anomalie cytogénétique spécifique, le chromosome Philadelphie (Ph), résultant d'un réarrangement moléculaire Bcr-Abl.

Même si l'aspect clinique et biologique de la LMC est bien connu, peu de travaux ont exploré la susceptibilité individuelle à développer cette maladie. Parallèlement les études d'association entre les polymorphismes génétiques de différent gènes et le risque de survenue de plusieurs cancers ont connus un essor important ces dernières décennies, ce qui permet une connaissance plus élargie quant à l'étiologie et les risques encourus.

La première partie de cette présente étude a consisté à rechercher une association entre les polymorphismes génétiques de trois gènes. Le premier, est le gène *MTHFR* qui est impliqué dans le cycle des folates et qui exerce un rôle important dans la méthylation de l'ADN, et la provision des nucléotides puriques et pyrimidiques pour la synthèse de l'ADN. L'importance du gène *MTHFR* dans le risque de développement de plusieurs cancers a aussi été démontrée à travers plusieurs études. Le second gène *ABCB1*, est connu pour son importance en pharmacogénétique, et aussi comme étant une barrière naturelle contre les agents xénobiotiques cancérigènes. Enfin le gène *XRCC1*, est impliqué dans la voie de réparation de l'ADN par excision de base ; il représente un gène candidat cible dans la survenue des cancers.

Par le biais d'une étude cas-témoins englobant en tout 90 cas de LMC et 148 témoins sains nous nous sommes fixé pour objectif de rechercher une éventuelle association entre les polymorphismes 677C>T et 1298A>C du gène *MTHFR*, 3435C>T du gène *ABCB1*, et 1196G>A du gène *XRCC1* et le risque de survenue de la leucémie myéloïde chronique dans la population Algérienne.

En deuxième partie plus laconique celle ci, nous nous sommes intéressé à la leucémie myéloïde aigue, qui est une des hémopathies malignes les plus fréquentes survenant principalement chez l'adulte, et dont l'incidence augmente avec l'âge. Elle représente un groupe hétérogène dans lequel des mutations sont responsables d'altérations de la croissance, de la différenciation et de la prolifération d'une cellule primitive. Parmi ces altérations on retrouve la mutation duplication en tandem du gène *FLT3* (*FLT3/ITD*) qui est présente entre 25% et 35% dans les LAM. Cette mutation est considérée comme étant un marqueur

indispensable pour la classification des LAM selon les critères de l’OMS et l’établissement d’un bon diagnostic.

Nous avons donc envisagé de rechercher par l'entremise d'une PCR (reaction chain polymerase), la présence de la mutation FLT3/ITD chez 50 patients atteints de LAM. Ceci dans le but de permettre une classification des patients selon la présence ou nonde la mutation dans un groupe de patients souffrant d'une LAM afin de trancher quant au pronostic favorable ou défavorable de leur pathologie. Par ailleurs, cette seconde partie du travail a été réalisée dans l'optique de l'installer en routine au niveau du nouveau service de Cytogénétique et de Biologie Moléculaire de l'EHU d'Oran.

*Population d'étude
et méthodes*

I. Population d'étude

La première partie de cette présente étude a concerné 148 témoins sains (79 hommes et 69 femmes, âge moyen 47,3 ; S.D \pm 15,3), et 90 patients atteints de LMC (50 hommes et 40 femmes, âge moyen 45,9 ; S.D \pm 14,7), tous d'origine algérienne. Les patients suivis dans des services d'hématologie de différents hôpitaux algériens (Établissement Hospitalier et - Universitaire d'Oran, Centre Hospitalo-Universitaire d'Oran, Centre Hospitalo-Universitaire de Constantine, Centre Hospitalo-Universitaire de Mascara, Centre Hospitalo-Universitaire de Tlemcen), ont été diagnostiqués durant la phase chronique de leur LMC selon les critères cytologiques et hématologiques de l'Organisation mondiale de la santé (OMS 2008).

La seconde partie a concerné 50 patients atteints de LAM à différents stades, âgés entre 18 et 70 ans et des deux sexes confondus (28 hommes et 22 femmes); ces patients sont suivis au niveau du service d'hématologie et d'allogreffe de l'Établissement Hospitalier-et Universitaire d'Oran (EHU). Ces derniers sont diagnostiqués pour différentes classes de LAM selon un diagnostic clinique et biologique. Les prélèvements qui consistaient en du sang frais, ont été effectués avant le commencement du traitement.

Un questionnaire détaillé sur la traçabilité des malades a accompagné chaque échantillon (**Annexe 1 et 2**) et un consentement éclairé pour la participation à cette étude a été recueilli au préalable auprès de chacun des patients (**Annexe 3**).

II Méthodes utilisées

II.1 Extraction et dosage de l'ADN

L'isolation de l'ADN génomique est une étape fondamentale dans les techniques de biologie moléculaire qui impliquent les analyses génétiques.

Nous avons procédé dans notre étude à l'extraction d'ADN par la technique « SALTING OUT », qui est une technique non couteuse, simple et rapide et qui a été développée par Miller et ses collaborateurs (Miller et al., 1988).

La technique « SALTING OUT » consiste en un relargage des protéines cellulaires, par déshydratation et précipitation avec une solution saturée de chlorure de sodium NaCl.

Le culot des globules blancs est obtenu après élimination des globules rouges et de l'hémoglobine à partir de 15 ml de sang total prélevé sur EDTA afin d'éviter tous risque de coagulation.

Dans un second temps, le culot des leucocytes est lysé par 1500 µl de solution SLB (solution de lyse des globules blancs), constituée de 0,5% de Sodium Dodécyl sulfate (SDS), 0,1M d'EDTA et 10mM de Tris/Hcl.

L'étape de la déprotéinisation est effectuée par l'ajout de la protéinase K dont le rôle est la dégradation des protéines, qui par la suite sont précipitées par le (NaCl) hautement concentré.

L'ADN génomique est précipité par 500µl de solution NaCl à 5M, et récupéré par centrifugation, séché et solubilisé dans un tampon Tris-EDTA: TE 10/1 à un pH=8 constitué de 10 mM de Tris/HCL et 10 mM d'EDTA.

La concentration des ADN extrait est estimée par la mesure de l'absorbance à 260nm. Sachant qu'une unité de DO à 260nm est équivalente à 50 µg /ml d'ADN, il est possible d'évaluer la quantité d'ADN d'un échantillon par la formule: facteur de dilution x 50 x DO₂₆₀. Par ailleurs, la qualité de l'ADN est évalué par un rapport de DO 260/DO 280; un ADN de bonne qualité, dépourvue de contamination protéique doit présenter un rapport compris entre 1,5 et 2.

II.2 Méthode de génotypage par discrimination allélique TaqMan

La technique de discrimination allélique TaqMan, fait appel à l'utilisation de deux sondes fluorescentes qui diffèrent uniquement par un nucléotide et qui sont complémentaires soit de l'allèle sauvage soit de l'allèle muté. Chaque sonde possède à son extrémité 5' un fluorochrome (VIC ou FAM) et un chélateur de fluorescence (ou « quencher MGB ») non fluorescent à l'extrémité 3'. Le Quencher à proximité du donneur inhibe l'émission de fluorescence par ce dernier. Ces sondes sont dessinées de manière à s'hybrider spécifiquement à leur cible. Le clivage de la sonde permet l'éloignement de l'extrémité 5' et 3', permettant ainsi au fluorochrome situé en 5' d'émettre une fluorescence. Le type de signal fluorescent (VIC ou FAM) est lu en fin de PCR et est spécifique de la séquence présente dans l'échantillon (**Livak, 1999**) (**Figure18**).

La fluorescence émise a été lue en fin de PCR grâce au logiciel 7500 System SDS Software (Applied Biosystems). La détection de la fluorescence émise par chacune des sondes VIC ou FAM hybridée chacune à l'allèle qui lui est complémentaire permet alors de classer les individus par génotype et attribue un nuage de points correspondant à chaque génotype du SNP (**Figure 19**).

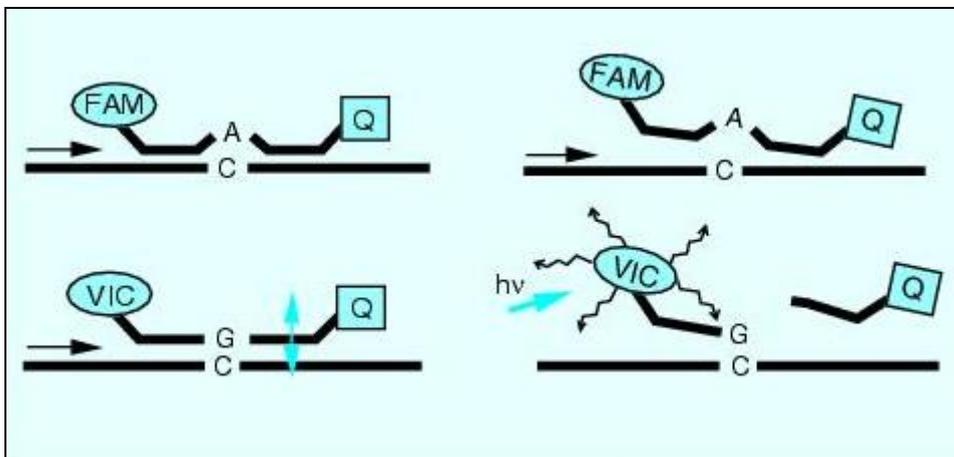


Figure 18: Principe du génotypage par discrimination allélique TaqMan

La sonde marquée par le fluorochrome FAM s'apparie au variant allélique alors que la sonde marquée par VIC s'apparie à la séquence correspondant à l'allèle sauvage. Pendant l'étape d'extension de la PCR, la Taq polymérase coupe uniquement la sonde parfaitement hybridée à la séquence cible. Le clivage de la sonde permet l'éloignement des extrémités 5' et 3', permettant ainsi au fluorochrome situé en 5' d'émettre une fluorescence (**Verstuyft et al., 2003**).

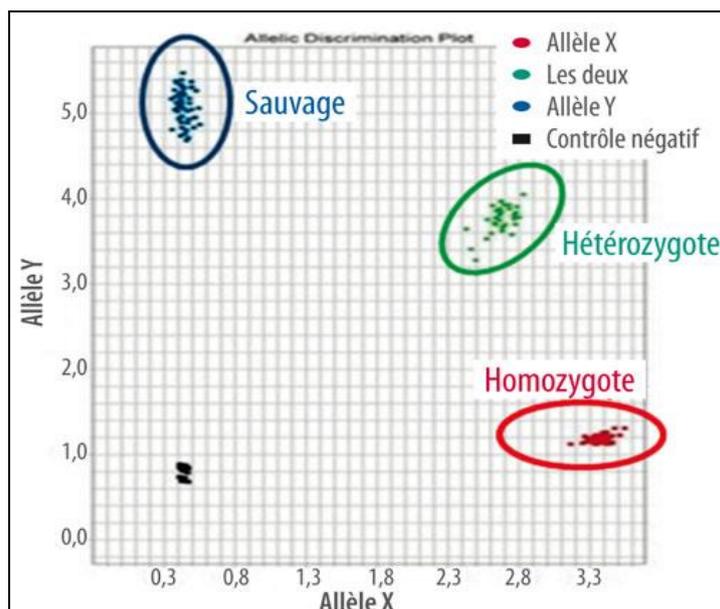


Figure 19: Exemple de résultat de génotypage par Taqman. Détection des SNPs et constitution d'un nuage de point de fluorescence différent correspondant aux différents génotypes en fonction de l'hybridation des sondes VIC ou FAM à chacun des allèles du polymorphisme recherché (Yu et al., 2011).

II.3 Méthode de génotypage par PCR/RFLP (polymerase chain reaction/ Restriction fragment length polymorphism)

II.3.1 Réaction de polymérisation en chaîne (PCR)

Principe: La PCR (polymerase chain reaction) est une technique de biologie moléculaire mise en évidence en 1985 par Kary Mullis qui permet l'amplification d'un segment d'ADN compris entre deux régions de séquences connues par un procédé d'extension d'amorce. La PCR requiert deux amorces oligonucléotidiques de synthèse de 20 à 25 nucléotides complémentaires des extrémités 3' des deux brins d'ADN encadrant la séquence à amplifier. Une de ces amorces est une copie du brin codant et l'autre, une copie du brin non codant. Sous l'action d'une enzyme (la Taq polymérase), chaque amorce est allongée dans le sens 5' à 3' d'une séquence exactement complémentaire du brin copié. La répétition des cycles aboutit à une amplification exponentielle de la séquence cible considérée. La technique de PCR comprend trois étapes: La dénaturation, l'hybridation et l'élongation.

Les produits d'amplification sont par la suite soumis à une électrophorèse dans un gel d'agarose à 3% et visualisés sous un transilluminateur à Ultraviolets.

II.3.2 Etude du Polymorphisme de longueur de fragment de restriction(RFLP)

Principe: Le polymorphisme de longueur de fragment de restriction (RFLP), est une méthode qui permet de comparer des profils électrophorétiques de coupures d'ADN par des enzymes de restriction (ER). Les enzymes ont la particularité de couper l'ADN partout où ils détectent une séquence de nucléotides spécifiques. Une enzyme peut évidemment couper à plusieurs endroits le long de la séquence d'ADN amplifiée. La digestion de la séquence d'ADN générera plusieurs fragments de tailles différentes qui pourront ensuite être séparés par électrophorèse.

II.4 Analyses statistiques

Les résultats obtenus sont analysés par des tests statistiques conventionnels qui permettent de déterminer une possible association entre un marqueur et une maladie.

La description de l'âge chez les cas et les témoins, a été réalisée par le calcul de la moyenne. Elle est obtenue par la somme des valeurs observées divisée par le nombre d'observations. L'écart type (\pm SD) est ensuite estimé pour mesurer la dispersion de l'âge dans notre population d'étude. Plus l'écart type est faible, plus les valeurs sont regroupées autour de la moyenne.

L'association entre un marqueur génétique et la maladie est attribuée par la recherche d'une distribution significative des fréquences de ce marqueur entre les cas et les témoins. Le test utilisé est le Khi; il permet d'estimer si la différence de distribution est due au hasard ou à l'effet du marqueur étudié dans le développement de la maladie.

La valeur p correspond au degré de signification qui correspond à la probabilité que l'écart global soit du hasard. Lorsque la valeur p est égale ou inférieure à 0,05 (5%), la différence de distribution entre les populations de malades et de témoins, pour un marqueur donné, est donc statistiquement significative et le marqueur peut être considéré comme étant associé à la maladie. Dans cette présente étude le Khi² et la valeur p ont été estimés par le logiciel: Program CONTING (version 2.80). Nous avons aussi utilisé un test spécifique qui est le test p avec correction de Bonferroni, ce test est une méthode pour corriger le seuil de significativité lors de comparaisons multiples (<http://www.quantitativeskills.com/sisa/Calculations/bonfer.htm>).

L'odds Ratio (OR) est utilisé dans les enquêtes des cohortes de type cas/témoins, il permet d'évaluer l'intensité d'une association entre un marqueur et une pathologie; l'OR est une estimation du risque relatif dans le cas où il est impossible de mesurer les risques de la maladie chez les sujet atteints et non atteints. L'OR a été évalué par le logiciel: program ODDSRATIO (version 10 dec 2007).

L'analyse de distribution des haplotypes entre les cas et les témoins a été réalisée par le logiciel: THESIAS 3.1 SOFTWARE (Tregouet and Tiret, 2004).

III. Protocoles expérimentaux

III.1 Exploration des SNPs: 677C>T, 1298A>C du gène *MTHFR* et le SNP 3435C>T du gène *ABCBI*

Le génotypage des patients pour les polymorphismes 677C>T (rs1801133) et 1298A>C (rs1801131) du gène *MTHFR* et du polymorphisme 3435C>T (rs1045642) du gène *ABCBI*, a concerné 90 cas et 100 témoins. Il a été réalisé par la méthode de discrimination allélique TaqMan (7500 System SDS Software, Applied Biosystems).

Les réactions ont été réalisées dans un volume final de 20µl, contenant 10µl de master mix (2X) (Applied Biosystems), 1µl de Taq Man assay (20X) (Applied Biosystems) (**Tableau II**) et une quantité suffisante d'eau estimée à 6µl. Cela a été effectué dans des plaques à 45 puits.

Les conditions des PCR ont été programmées comme suit : 2 minutes à une température de 50°C puis 95°C pendant 10 minutes suivies de 35 cycles à 90°C pendant 15 secondes et enfin 60°C pendant 1 minute.

Tableau II: Séquences des amorces TaqMan utilisées pour l'analyse des SNPs : *MTHFR677C>T*, *MTHFR1298A>C* et *ABCB1 3435C>T*.

SNPs	TaqMan Assays	Amorces marquées VIC/FAM
<i>MTHFR677C>T</i> (rs1801133)	C_1202883_20	GAAAAGCTGCGTGATGATGAAATCG[<u>G/A</u>]CTCCCGCAGACACCTTCTCCTCAA
<i>MTHFR1298A>C</i> (rs1801131)	C_850486_20	AAGAACGAAGACTTCAAAGACACTT[<u>G/T</u>]CTTCACTGGTCAGCTCCTCCCCCA
<i>ABCB13435C>T</i> (rs1045642)	C_7586657_20	TGTTGGCCTCCTTTGCTGCCCTCAC[<u>A/G</u>]ATCTCTTCTGTGACACCA CCCGGC

III.2 Exploration du SNP 1196G>A du gène *XRCC1*

Le génotypage du polymorphisme 1196G>A (rs25487) du gène *XRCC1* a été effectué sur les 90 cas de LMC et les 148 témoins. Cependant, les résultats du génotypage des témoins nous a été fournis par Melle MOGHITIT Fatima zohra, effectués dans le cadre de sa thèse de doctorat.

Pour l'amplification d'un fragment de 615pb de l'exon 10 du gène *XRCC1*, la PCR a été réalisée dans un mélange réactionnel de volume final de 25µl, contenant 5µl de tampon (5X) (Go Taq), 3µl de MgCl₂ (25mM Go Taq), 2 µl de chaque une des amorces forward et la reverse (10mM) (**Tableau III**) , 0.5 µl de d'NTP (10mM) (Sigma Aldrich), 0.5 µl de taq polymérase (5U/ µl) (Go Taq) , et de l'ADN à (50ng/µl).

Tableau III: Séquences des amorces utilisées pour l'amplification de l'exon 10 du gène *XRCC1* (Lunn et al., 1999).

1196G>A / <i>XRCC1</i> Amorce Forward	5'- TTT TGC TTT CTC TGT GTC CA -3'
1196G>A / <i>XRCC1</i> Amorce Reverse	5'-TCC TCC AGC CTT TTC TGA TA- 3'

La réaction de la PCR a été effectuée dans un thermo-cycler Biorad « C1000 Touch thermal cycler », selon le programme suivant : 1 cycle de 4min à 94°C suivi de 30sec à 94°C, 30 sec à 57°C, 30 sec à 70°C pendant 30 cycles et enfin 10 min à 70°C.

Les produits d'amplification ont été soumis par la suite à l'étude du polymorphisme de restriction. Les amplimerès de 615pb ont été digérés par l'enzyme de restriction MspI. Cette enzyme coupe au niveau du site de restriction 5'CCGG3' en présence de l'allèle G en position 28152, générant deux fragments de 240pb et 375pb, tandis que la transition de G>A en cette position abolit le site de coupure de MspI donnant un seul fragment de 615 pb (Figure 20).

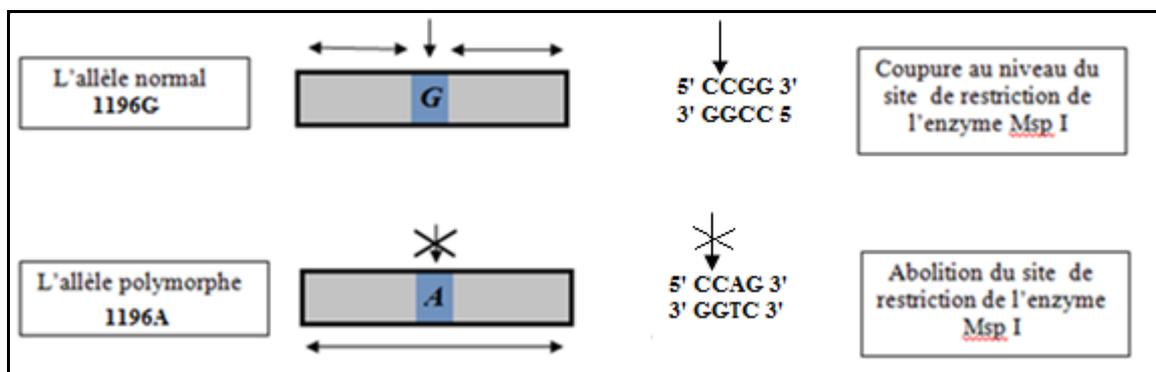


Figure 20: Carte de restriction de l'enzyme de restriction MspI au niveau du 10^{ème} exon du gène *XRCC1*.

A partir des résultats de digestion nous pouvons distinguer entre les individus homozygotes pour l'allèle 1196G (2 bandes : 375pb et 240pb), les individus homozygotes pour l'allèle 1196A (une bande de 615pb), et les individus hétérozygotes 1196GA (3 bandes : 615pb, 375pb et 240pb) (**Figure 21**).

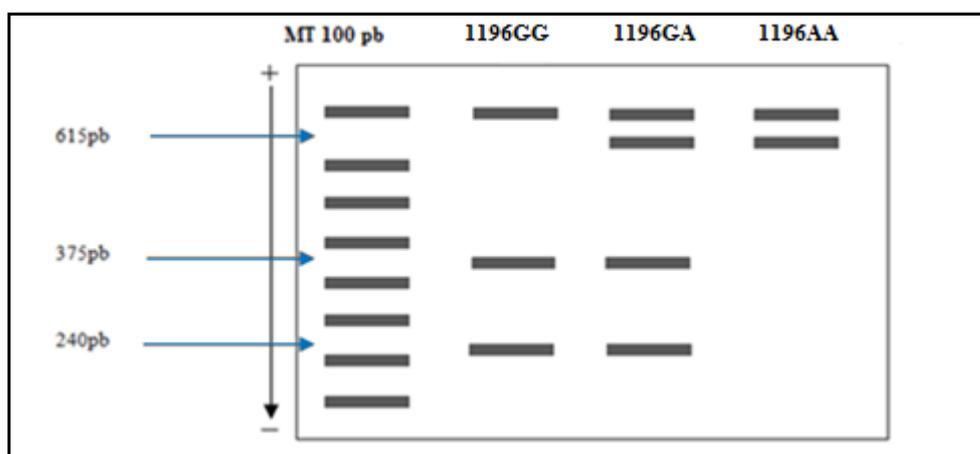


Figure 21: Idiogrammes attendu après la digestion des ADN par MspI pour le génotypage du polymorphisme 1196G>A du gène *XRCC1*.

III.3 Exploration de la mutation ITD du gène *FLT3*

L'exploration de la mutation ITD (Internal duplication Tandem) du gène *FLT3* à été réalisée par la technique PCR suivie d'une révélation sur gel d'agarose à 3%.

Pour l'amplification du fragment flanquant les exons 14 et 15 du gène *FLT3* et dans laquelle la duplication survient, la réaction de PCR a été réalisée dans un mélange réactionnel de volume final de 50µl, qui contient 1.5mM de MgCl₂ (25mM), 1X de tampon (10X) (Gold Taq, Applied biosystem), 5mM de chacune des amorces forward et reverse (100mM), 0.2mM de dNTPs (2mM) (Applied Biosystem) (**Tableau IV**), 2.5U de Taq Gold (5U) (Applied Biosystem), 100 à 200ng/µl d'ADN, et enfin une quantité suffisante d'H₂O.

La réaction de la PCR à été effectuée dans un thermo-cycler Biorad « C1000 Touch thermal cycler », selon le programme suivant : 1 cycle de 9min à 95°C suivi de 30sec à 94°C, 1min à 57°C, 2 min à 72°C pendant 35 cycle et enfin 10 min à 72°C. Les résultats sont interprétés selon le nombre et la taille des bandes obtenues (**Figure 22**).

Tableau IV: Séquences des amorces utilisées pour l'amplification des exons 14 et 15 flaquant la mutation ITD du gène *FLT3* (Pinheiro et al., 2008).

FLT3/ITD Amorce Forward	5'-CAATTTAGGTATGAAAGCCAGC-3'
FLT3/ITD Amorce Reverse	5'-CTTTCAGCATTTTGACGGCAACC - 3'

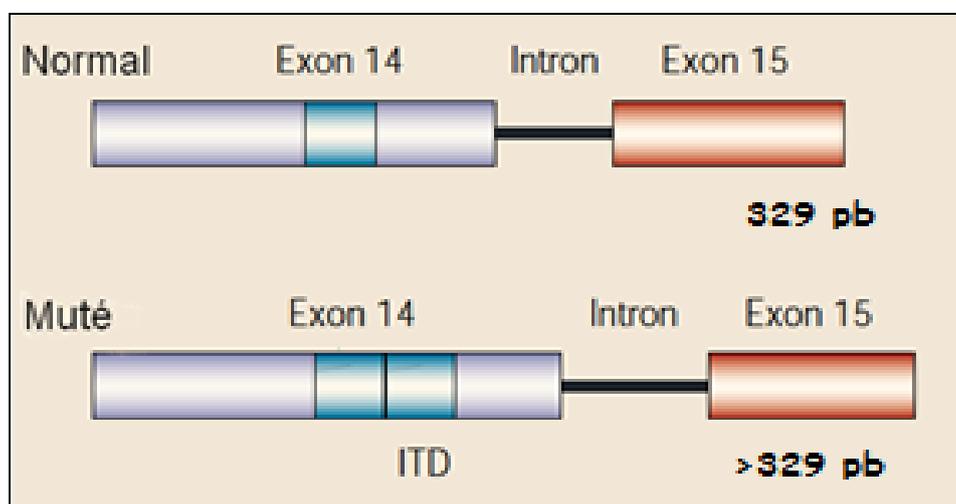


Figure 22: Position de la mutation ITD du gène *FLT3*

Dans le cas normal les fragments obtenus après PCR sont de 329pb pour les cas mutés et les fragments obtenus après PCR sont supérieurs à 329 pb.

*Résultats
et discussion*

I. Etude de la distribution des fréquences des polymorphismes 677C>T et 1298A>C du gène *MTHFR* chez les cas de LMC et les témoins

- **Résultats**

Les résultats des distributions alléliques, génotypiques du polymorphisme 677C>T sont représentés dans le tableau V, et ceux concernant le polymorphisme 1298A>C sont rapportés dans le tableau VI. L'analyse haplotypique des deux polymorphismes du gène *MTHFR* est relatée au niveau du tableau VII.

Cependant, il est important de préciser que l'étude d'association entre les polymorphismes du gène *MTHFR* et la LMC devait à l'origine intéresser 100 témoins sains et 90 cas de LMC. Néanmoins, suite aux aléas inhérents aux erreurs de manipulations, nous n'avons pas obtenu de résultats pour 7 cas sur 90 et 11 témoins sur 100 concernant le génotypage du polymorphisme 677C>T, et 6 sur 90 et 3 témoins sur 100 concernant le génotypage du polymorphisme 1298A>C.

L'étude de la distribution des fréquences alléliques du polymorphisme 677C>T du gène *MTHFR* a montré une forte augmentation de la fréquence de l'allèle 677T chez les patients par rapport aux témoins; en effet la fréquence de cet allèle était de 69,27% chez les cas 24,71% chez les témoins. Par ailleurs, l'allèle 677C semble représenter l'allèle majeur dans notre population avec une fréquence de 75,25% dans la population saine, faisant ainsi de l'allèle 677T l'allèle mineur dans notre population.

La distribution des génotypes 677CC, 677CT et 677TT du gène *MTHFR* chez les cas était de 9,93%, 42,16% et 48,19, respectivement. Chez les témoins les fréquences étaient de 53,93%, 42,69% et 3,37% concernant respectivement les mêmes génotypes.

De plus, la distribution des fréquences des génotypes groupés 677CT+677TT était de 90,36% dans le groupe de cas et de 46,06% dans le groupe des témoins.

L'analyse de distribution des fréquences entre les cas et les témoins, a montré une différence significative dans la distribution des fréquences de l'allèle 677T ($p = 1 \text{ E-}6$ et un OR= 6,77 [4,22-10,86]).

Tableau V: Distribution des fréquences alléliques et génotypiques du SNP 677C>T du gène *MTHFR* chez les témoins et les patients LMC.

	Patients LMC		Témoins		OR (95% IC)	Valeur p
	(n=83)		(n=89)			
	n	(%)	n	(%)		
Allèles						
C	51	(30,72)	134	(75,25)	1 ^a	
T	115	(69,27)	44	(24,71)	6,77 [4,22-10,86]	1 E-6
Génotypes						
CC	8	(9,63)	48	(53,93)	1 ^a	
CT	35	(42,16)	38	(42,69)	5,52 [2,29-13,29]	0,00005
TT	40	(48,19)	3	(3,37)	80 [19,69- 321,73]	1 E-9
Génotype groupés						
CC	8	(9,63)	48	(53,93)	1 ^a	
CT+TT	75	(90,36)	41	(46,06)	10,38 [4,56-23,6]	1 E-6

n: nombre, %: fréquence, OR: odds ratio, IC: Intervalle de confiance, p: signification statistique, a: génotype ou allèle de référence.

La différence dans la distribution s'est avérée également significative pour les génotypes 677CT (p =0,00005 ; OR évalué à 5,52 [2,29-13,29]) et le génotype 677TT (p =1 E-9 ; OR= 80 [19,69-321,73]).

La comparaison de distribution des fréquences des génotypes groupés 677CT+ 677TT entre les cas et les témoins a également rapporté une différence statistiquement significative (p=1 E-6 ; OR =10,38 [4,56-23,6]).

Tableau VI: Distribution des fréquences alléliques et génotypiques du SNP 1298A>C du gène *MTHFR* chez les témoins et les patients LMC.

	Patients LMC (n=84)		Témoins (n=97)		OR (95% IC)	Valeur p
	n	(%)	n	(%)		
Allèles						
A	85	(50,59)	142	(73,19)	1 ^a	
C	83	(49,40)	52	(26,80)	2,65 [1,71- 4,10]	9 E-6
Génotypes						
AA	27	(32,14)	48	(53,93)	1 ^a	
AC	31	(36,90)	38	(42,69)	1,36 [0,70-2,64]	0,35
CC	26	(30,95)	5	(5,15)	9,62 [3,31-27,94]	5 E-5
Génotype groupés						
AA	27	(32,14)	50	(51,54)	1 ^a	
AC+CC	57	(67,85)	41	(48,45)	2,22 [1,21- 4,06]	0,008

n: nombre, %: fréquence, OR: odds ratio, IC: Intervalle de confiance, p: signification statistique, a: génotype ou allèle de référence.

Concernant le second polymorphisme du gène *MTHFR* 1298A>C, l'analyse des distributions des fréquences alléliques rapporte que l'allèle 1298 A, semble représenter l'allèle majeur de notre population avec une fréquence de 73,19% dans le groupe des témoins. Par ailleurs, l'allèle mineur 1298C a montré une plus forte valeur de fréquence chez les cas de LMC (49,40%) tandis que chez les témoins la fréquence de ce même allèle était de 26,80%.

La distribution des fréquences génotypiques du polymorphisme 1298A>C du gène *MTHFR* chez les cas était de 32,14% pour le génotype 1298AA, 36,90% pour le génotype 1298AC et 30,95 % pour le génotype 1298CC. Chez les témoins les fréquences étaient de 51,54%, 43,29% et 5,15%, respectivement.

La fréquence des génotypes groupés 1298AC+1298CC a été estimée à 67,85% chez les cas et 48,55% chez les témoins. L'analyse statistique de distribution des fréquences de

l'allèle mineur 1298C entre les cas et les témoins a montré une différence significative ($p=9 \text{ E-}6$ et $\text{OR}= 2,65 [1,71- 4,10]$).

Cette même différence significative a été observée après comparaison des fréquences du génotype homozygote muté (1298CC) ($p= 5; \text{E-}5$; $\text{OR}= 2,22 [1,21- 4,06]$). Cependant, la comparaison entre les fréquences du génotype hétérozygotes 1298AC entre les cas et les témoins a montré une distribution non significative entre les deux groupes.

L'analyse des fréquences des génotypes groupés 1298AC+1298CC a également mis en évidence une différence significative dans la distribution de cette fréquence ($p= 0,008$; $\text{OR}= 2,22 [1,21- 4,06]$)

La distribution des allèles et des génotypes concernant les polymorphismes 1298A>C et 677C>T du gène *MTHFR* trouvées significative dans cette étude au seuil de $p < 0,05$, sont également significative au seuil corrigé $p < 0,0125$ (correction de Benforini).

Tableau VII: Analyse haplotypique des polymorphismes 677C>T et 1298A>C du gène *MTHFR*.

	Patients LMC		Témoins		OR (95% IC)	Valeur p
	(n=82)		(n=87)			
<i>Haplotypes</i>	n	(%)	n	(%)		
677C/1298A	12	(14,63)	48	(47,79)	1 ^a	
677T/1298A	29	(35,36)	15	(15,2)	2,57	[1,26-5,24] 0 ;007
677T/1298C	29	(35,36)	6	(5,79)	6,91	[2,76-17,28] 5 E-6
677C/1298C	12	(14,63)	18	(18,2)	–	0,3

n: nombre, %: fréquence, *OR*: odds ratio, *IC*: Intervalle de confiance, *p*: signification statistique, *a*: haplotype de référence

L'évaluation de la distribution des haplotypes constitués des polymorphismes 677C>T et 1298A>C a permis de relever chez les cas des fréquences de 14,63% pour l'haplotype 677C/1298A, 35,36% pour l'haplotype 677T/1298A et 35,36% pour l'haplotype 677T/1298C, alors que pour le groupe des témoins les fréquences étaient de 47,79%, 18,2%, 15,2% et 5,79% pour les mêmes haplotypes respectivement. La comparaison des fréquences haplotypiques a dévoilé une différence significative entre les cas et les témoins concernant l'haplotype constitué de l'allèle muté du polymorphisme 677C>T et l'allèle sauvage du polymorphisme 1298A>C (677T/1298A) ($p= 0,007$; OR= 2,57 [1,26-5,24]), et l'haplotype constitué des deux allèles mutés des deux polymorphismes 677T/1298C ($p=5 \text{ E-}6$; OR=6,91 [2,76-17,28]). Cependant, l'haplotype 677C/1298C qui est constitué de l'allèle muté du polymorphisme 1298A>C et de l'allèle sauvage du polymorphisme 677C>T, était distribué de façon non significative entre les cas et les témoins.

L'ensemble des résultats de l'étude des deux polymorphismes du gène MTHFR a fait l'objet d'un article original intitulé : « Association des polymorphismes du gène méthylène-tétrahydrofolate réductase avec la leucémie myéloïde chronique ». Cet article est publié dans la revue *Bulletin du Cancer* Volume 101 N° 9, Septembre 2014 (**Dorgham et al., 2014**) (**Annexe 4**).

- **Discussion**

Nos résultats rapportent la présence de l'allèle 677T à une fréquence de 24,71 % chez les témoins, ce qui suggère que cet allèle représente l'allèle mineur dans la population algérienne, résultats similaires à ceux caractérisant d'autres populations comme le Maroc 26,5% (**Paluku They-They et al., 2009**) et la Turquie 25,37 % (**Al-Achkar et al., 2014**). Cependant, l'allèle muté du polymorphisme 677C>T du gène *MTHFR*, présente une remarquable variation ethnique et géographique. En effet, dans une étude menée sur 7000 nouveaux nés, provenant de 16 régions différentes dans le monde, l'allèle 677T présentait une variation de 26,6% à 46% en Italie, 25,7% dans le Moyen-Orient et 44,2% dans le nord de la Chine (**Wilcken et al., 2003**). Par ailleurs, dans une étude Libanaise, la fréquence du génotype homozygote 677TT était respectivement de 7,66% et 13,08% chez les musulmans arabes et les chrétiens, (**Almawi et al., 2004**). Ces résultats indiquent la présence d'une pression sélective qui cause une nette variation géographique et ethnique pour l'allèle 677T.

Concernant le polymorphisme 1298A>C, l'allèle 1298C a été retrouvé minoritaire avec une fréquence de 26,80 % dans la population témoin de notre cohorte. Ce pourcentage reste relativement proche de celui caractérisant la population Marocaine ou Turque, dont les fréquences de ce même allèle étaient de 24,42% (Eloualid et al., 2012) et 24,26% (Kara et al., 2003), respectivement. Mais tout comme l'allèle 677T, il est caractérisé par une variation géographique et ethnique considérable. La plupart des études sur les populations Asiatiques rapportent une fréquence variant de 15% à 20% pour l'allèle 1298C (Abu-Duhier et al., 2001; Matsuo et al., 2001; Moon et al., 2007; Shen et al., 2001; Song et al., 2001), alors que cette fréquence est supérieure dans d'autres pays tels que l'Italie où la fréquence est de 28,1%, ou encore la France où celle-ci est de 35,7% (Gueant-Rodriguez et al., 2006), 41,23% en Iran (Vahid et al., 2010) et 55% au Pakistan (Yakub et al., 2012).

Il est bien reconnu que la susceptibilité individuelle au même type de cancer peut varier, même avec une exposition environnementale identique. Plusieurs facteurs, et parmi eux les polymorphismes des gènes impliqués dans la carcinogénèse pourrait expliquer cette différence. Par conséquent, la susceptibilité génétique au cancer a été au centre des recherches de la communauté scientifique. Récemment, les variants génétiques du gène *MTHFR* ont été le sujet d'une attention accrue dans l'étiologie des leucémies.

Les résultats de notre étude, ont montré une association claire entre les deux variants 677C>T et 1298A>C du gène *MTHFR* et la survenue de la LMC dans notre population. L'association s'est avérée être significative pour les allèles mineurs des deux polymorphismes 677T ($p= 1 \text{ E-}6$; OR=6,77 [4,22-10,86]), et 1298C ($p=9 \text{ E-}6$; OR= 2,65 [1,71- 4,10]). Une association a été également constatée pour les génotypes homozygotes mutés 677TT et 1298CC et le génotype hétérozygote 677CT; en revanche, on a mis en évidence une absence d'association avec le polymorphisme hétérozygote 1298AC.

L'analyse de la distribution des haplotypes constitués par les allèles des deux polymorphismes, confirme cette association. L'association a été retrouvée en premier entre l'haplotype constitué des deux allèles mineurs des deux polymorphismes 677T/1298C ($p= 5 \text{ E-}6$; OR= 6,91 [2,76-17,28]), et en second avec l'haplotype constitué de l'allèle mineur 677T et l'allèle majeur 1298A ($p= 0,007$; OR= 2,57[1,26-5,24]). Cependant, on a relevé une absence de significativité statistique dans la distribution des fréquences entre cas et témoins de l'haplotype constitué de l'allèle majeur 677C et l'allèle mineur 1298C.

Cette étude est la première étude d'association entre polymorphismes génétiques du gène *MTHFR* et le risque de survenue de la LMC dans la population Algérienne; elle est aussi une des rares études à rapporter une association significative entre les polymorphismes explorés et cette pathologie. La taille de notre cohorte est suffisamment importante pour extrapoler nos résultats à toute la population Algérienne puisque notre recrutement a été entrepris dans des Services d'hématologie de différents centres hospitaliers algériens (Établissement Universitaire et Hospitalier d'Oran, Centre Hospitalo-Universitaire d'Oran, Centre Hospitalo-Universitaire de Constantine, Centre Hospitalo-Universitaire de Mascara, Centre Hospitalo-Universitaire de Tlemcen). Ce large échantillonnage a été ainsi envisagé afin de limiter le risque éventuel de biais dans les résultats.

Seules deux études ont rapporté des résultats similaires aux nôtres; la première étude concerne la population Jordanienne, dans laquelle Ismail et son équipe ont rapporté une association entre les génotypes 677TT ($p=0,014$; OR= 2.84 [1,24-6,50]) et 1298CC ($p= 0,046$; OR= 2,18 [1,01, 4,69]) (Ismail et al., 2009); de même, dans une étude récente sur la population Egyptienne, Aly et ses collaborateurs ont également démontré une association existant entre les génotypes homozygotes mutés des deux polymorphismes 677TT et 1298CC et le risque de LMC ($p= 0,025$; OR= 2,51 [0,72-4,08] et $p=0,036$; OR=1,81[0,95-3, 57], respectivement) (Aly et al., 2014).

Par ailleurs, une autre étude entreprise en Egypte contredit ces résultats (Khorshied et al., 2014). D'autres travaux menés en Corée ont rapporté également des résultats contradictoires concernant le polymorphisme 1298A>C; En effet, dans leur étude, Moon et son équipe ont mis en exergue une association entre le génotype 1298CC et la LMC (Moon et al., 2007), alors que dans celle de Hur ses collaborateurs il a été observé un effet protecteur pour le génotype 1298AC (Hur et al., 2006). Deux autres études Brésiliennes se contredisent aussi sur l'implication du polymorphisme 1298A>C dans le risque de LMC; l'une d'entre elles confirme la non-association du polymorphisme (Barbosa et al., 2008) tandis que la seconde, plus récente rapporte que le génotype 1298AA augmenterait le risque de développer une LMC (Lordelo et al., 2012). Dans la même année, Hussain et son équipe établissaient une corrélation entre le génotype 677TT et la LMC en Inde (Hussain et al., 2012). D'autres études menées sur des populations Serbe (Jakovljevic et al., 2012), Iranienne (Vahid et al., 2010), et Turque (Deligezer et al., 2003) révèlent que le gène *MTHFR* n'exerce aucun effet sur le risque de développer une LMC.

De telles contradictions dans les résultats pourraient être dues à la taille assez réduite de l'échantillon exploré dans certaines études, d'où l'absence de significativité statistique dans les résultats. D'autres interprétations de ces conclusions contradictoires seraient la variabilité ethnique des populations d'études et les facteurs environnementaux tels que l'apport de folate alimentaire.

Notre étude suggère que l'altération de la distribution intracellulaire des métabolites du folate induite par les différentes formes de l'enzyme MTHFR pourrait jouer un rôle dans le risque de survenue de la LMC. Des études diverses ont associé les polymorphismes du *MTHFR* à différents type de cancer tel que le cancer du sein (**Semenza et al., 2003**), le cancer colorectal (**Ryan and Weir, 2001**), le cancer endométrial (**Esteller et al., 1997**), le cancer cervical (**Piyathilake et al., 2000**), le cancer gastrique (**Shen et al., 2001**) et la leucémie aigue lymphoblastique (**Skibola et al., 1999**).

Actuellement, il semblerait qu'un déséquilibre au niveau du cycle du folate pourrait affecter la stabilité de l'ADN par les deux voies dans lesquelles il intervient. Le 5,10-méthylène-tétrahydrofolate est un donneur de groupes méthyles pour l'uracile afin que celui-ci soit converti en thymine, utilisé alors pour la synthèse et la réparation de l'ADN. Si le taux de folate est limité, un déséquilibre dans le panel des précurseurs de l'ADN pourrait mener à l'incorporation de l'uracile à la place de la thymine au niveau de l'ADN, ce qui pourrait par conséquent engendrer des cassures dans les deux brins de l'ADN; cela pourrait être à l'origine des dommages chromosomiques et du cancer. D'un autre côté, le folate affecte l'expression des gènes par la régulation cellulaire de la S-adénosyl-méthionine (SAM).

Le 5-méthyl-tétrahydrofolate est un donneur de méthyles pour la reméthylation de l'homocystéine en méthionine, qui a son tour est converti en SAM. Le SAM méthyle des cytosines spécifiques au niveau de l'ADN, régulant ainsi la transcription des gènes. Par conséquent, une diminution cellulaire de SAM, suite à une défaillance au niveau du cycle de folate, induirait une hypométhylation de l'ADN et potentiellement l'expression de proto-oncogènes responsables de la survenue du cancer (**Duthie, 2011**).

Il semblerait que les polymorphismes 677C>T et 1298A>C réduisent l'activité de MTHFR; cela pourrait exercer un rôle protecteur contre l'incorporation de l'uracile mais favoriserait l'hypométhylation de l'ADN. De ce fait l'impact du métabolisme des folates dans le risque de survenue de la LMC pourrait varier suite aux interactions spécifiques gène-environnement, essentiellement due à cette influence de l'apport en folates sur la régulation

des gènes impliqués dans ce même métabolisme. En effet l'absence d'informations sur la consommation de folate ou de l'état global de l'acide folique, pourrait expliquer la variation des résultats obtenus quant à l'association du gène *MTHFR* avec la survenue du cancer en général. La consommation de certains aliments peut également affecter la distribution intracellulaire des métabolites des folates. Les vitamines B₆ et B₁₂ sont des cofacteurs pour les enzymes serine hydroxyméthyltransférase (SHMT) et la méthionine synthase (MS), respectivement. En conséquence, la consommation adéquate des vitamines B₆ et B₁₂ pourrait affecter la disponibilité des substrats pour la synthèse de l'ADN et l'activité de l'enzyme *MTHFR*. De plus, la consommation de nourriture riche en protéines influence l'approvisionnement en méthionine. Une consommation excessive d'alcool, est aussi considérée comme un paramètre qui pourrait mener à une défaillance en folates et des vitamines B; cependant, ces interactions gène -environnement n'ont pas été étudiées avec rigueur en comparaison avec le risque de survenue des leucémies.

Cet impact du métabolisme des folates dans le risque de survenue de la LMC pourrait également être la conséquence de certaines interactions gène-gène. En effet, des protéines impliquées dans la médiation de la voie de métabolisation des folates, comme la méthionine synthase, thymidylate synthase, sérine hydroxy-méthyltransférase et dihydrofolate réductase, ont été bien caractérisées. Chacune des protéines joue un rôle dans la régulation de différentes formes du folate intracellulaire, et différents variants de ces enzymes pourrait contribuer à augmenter le risque d'instabilité de l'ADN et la survenue du cancer. Le schéma métabolique des folates est complexe, et implique plusieurs mécanismes de régulation ; les polymorphismes génétiques des gènes codant ces protéines modifient leurs fonctions respectives à différents stade, ce qui pourrait altérer la balance des métabolites (**Robien and Ulrich, 2003**).

De plus, le rôle des polymorphismes du gène *MTHFR* dans la carcinogenèse semble dépendre des types de cellules et d'organes impliqués (leucémie chronique *versus* leucémie aiguë, hémopathies malignes *versus* tumeurs solides) et de son interaction avec d'autres gènes intervenant dans la carcinogenèse (**Jakovljevic et al., 2012**). Ces différentes interactions gène-environnement et gène-gène, pourraient expliquer les résultats contradictoires rapportés par les différentes études en ce qui concerne l'association entre les polymorphismes 677C>T et 1298A>C et le risque de survenue de la LMC.

II. Etude de la distribution des fréquences du polymorphisme 3435C>T du gène ABCB1 chez les cas de LMC et les témoins

• **Résultats**

La distribution des fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme 3435C>T du gène ABCB1 chez 81 cas de LMC et 98 témoins sains est rapportée dans le tableau VIII.

Comme précédemment informé, lors du génotypage des polymorphismes du gène MTHFR, et aussi pour les mêmes raisons évoquées, à savoir des problèmes de manipulation, nous n'avons pas obtenu de résultats pour 9 cas et 2 témoins au cours du génotypage du polymorphisme 3435C>T du gène ABCB1.

Tableau VIII: Distribution des fréquences alléliques et génotypiques du SNP 3435C>T du gène ABCB1 chez les témoins et les patients LMC.

	Patients LMC		Témoins		OR (95% IC)	Valeur p
	(n=81)		(n=98)			
	n	(%)	n	(%)		
<i>Allèles</i>						
C	106	(65,5%)	129	(66%)	1 ^a	
T	56	(34,5%)	67	(34%)	1,01 [0,65-1,57]	0,93
<i>Génotypes</i>						
CC	34	(42)	44	(45)	1 ^a	
CT	38	(47)	41	(41)	1,19 [0,63-2,24]	0,57
TT	9	(11)	13	(13)	0,89 [0,34 - 2,34]	2,82
<i>Génotype groupés</i>						
CC	34	(42)	44	(45)	1 ^a	
CT+TT	47	(58)	54	(55)	1,12 [0,62-2,04]	0,69

n: nombre, %: fréquence, OR: odds ratio, IC: Intervalle de confiance, p: signification statistique, a: génotype ou allèle de référence.

L'analyse des distributions des fréquences allélique du polymorphisme 3435C>T du gène *ABCB1*, montre que l'allèle 3435C est majoritaire dans notre population d'étude avec une fréquence de 66% chez le groupe de contrôles. Les fréquences de l'allèle muté 3435T a été estimée à 34,5% dans le groupe des cas et à 34% dans le groupe des témoins.

Les fréquences des génotypes chez les cas étaient de 42% pour le génotype 3435CC, 47% pour le génotype 3435CT et 11% pour le génotype 3435TT. Les fréquences de ces mêmes génotypes dans l'ordre chez les contrôles étaient de 45%,41% et 13%. Concernant les génotypes groupés 3435CT et 3435TT, les fréquences étaient de 58% chez les cas et 55 % chez les témoins.

L'exploration statistique concernant les différences de distributions des fréquences entre cas et témoins, a démontré aucune différence significative entre les cas et les témoins ($p>0,05$).

- **Discussion**

L'analyse des résultats obtenus dans la distribution des fréquences alléliques a révélé que l'allèle 3435T est présent à une fréquence de 34% dans la population des témoins, ce qui signifie qu'il représente l'allèle mineur dans la population Algérienne; cette fréquence est similaire à celle retrouvée au Maroc (**Yaya et al., 2014**), mais reste inférieure aux fréquences caractérisant des populations Asiatiques comme la population Japonaise (48%) (**Horinouchi et al., 2002**) et Chinoise (54%) (**Balram et al., 2003**). La fréquence de cet allèle est également plus basse que celles retrouvées en Turquie (41%) (**Turgut et al., 2006**), en Inde (55%) (**Rao et al., 2010**), et au niveau de pays Européens tels que l'Espagne (48%) (**Bernal et al., 2003**), l'Angleterre (52%) (**Ameyaw et al., 2001**) et l'Allemagne (53%) (**Cascorbi et al., 2001**). Quant à la fréquence de l'allèle 3435T de notre population d'étude, celle-ci est supérieure à celles retrouvées dans certains pays d'Afrique tels que le Ghana (17%) (**Ameyaw et al., 2001**), et le Bénin (14%) (**Allabi et al., 2005**). La définition de l'allèle mineur du polymorphisme 3435C>T du gène *ABCB1* reste controversée, vu les différentes fréquences rapportées dans les différentes populations, cela laisserait croire qu'un possible facteur d'hétérogénéité ethnique pourrait exercer son effet.

L'ATP-binding-cassette (ABC), est une grande famille de transporteurs actifs, localisés principalement dans les tissus fonctionnant comme barrière ou ayant la fonction

d'excrétion (**Schinkel, 1997**). La plupart des transporteurs ABC jouent un rôle primordial dans les défenses cellulaires contre les attaques environnementales générées par les xénobiotiques et les métabolites intracellulaires. Physiologiquement, le gène *ABCB1* joue un rôle fondamental dans le transport des composants endogènes et exogènes nuisibles d'origines diverses dans la cellule (**Marzolini et al., 2004b**). Par conséquent, la leucémie peut survenir suite à une diminution de l'expression de la P-gp dans les cellules hématopoïétiques liées à une variation génétique avec une longue exposition aux radiation et/ou composants carcinogènes tels que le Benzène (**Jamroziak et al., 2004**).

Cependant, la mutation silencieuse 3435C>T ne résulte pas dans un changement d'acide aminé, et a été considérée comme n'ayant pas d'effet sur la fonction du gène *ABCB1*. Mais durant ces dernières années, il a été démontré que cette mutation silencieuse pourrait affecter l'expression du gène par l'altération de la stabilité de l'ARN messenger (**Hoffmeyer et al., 2000**). Par ailleurs, il a été rapporté récemment que cet SNP est lié à la susceptibilité à développer plusieurs cancers, tel que les tumeurs rénales-épithéliales, la leucémie aigue lymphoblastique, et le cancer colorectal (**Wang et al., 2013**). Il n'en demeure pas moins que les études menées sur l'activité P-gp dans les cellules hématopoïétiques restent controversées. En effet, Calado et son équipe ont démontré que les polymorphismes C>T2677 et 3435C>T du gène *ABCB1* ne présentaient aucun effet sur l'activité de la protéine P-gp au niveau des cellules souches hématopoïétiques (**Calado et al., 2002**). Alors que, Hitzl et ses collègues ont rapporté une augmentation de l'activité de P-gp et de l'expression de l'ARNm du gène *ABCB1* chez des sujets de génotype sauvage 3435CC, et hétérozygote 3435CT, et une diminution de cette activité chez les sujets avec le génotype homozygote muté 3435TT (**Hitzl et al., 2001**).

La présente étude n'a démontré aucune différence statistique dans la distribution des fréquences de l'allèle muté 3435T et du génotype homozygote muté 3435TT entre les cas et les témoins, ceci suggère une absence d'association entre le polymorphisme 3435C>T du gène *ABCB1* et le risque de survenue de la LMC dans notre population d'étude. Cette conclusion est la même que celle à laquelle a aboutit Vivona dans son étude, qui a rapporté qu'aucun effet particulier n'était exercé par le polymorphisme 3435C>T sur la survenue de la LMC. Néanmoins, dans cette dernière étude la population était multi ethnique : blancs, noirs, métisses et asiatiques (**Vivona et al., 2012**). Sailaja et ses collaborateurs avaient quant à eux rapporté que la fréquence du génotype 3435TT était plus élevée chez les cas (34%) que chez les contrôles (28,67%), sans présenter pour autant de différence statistiquement significative (**Sailaja et al., 2008**). Une étude récente menée par Yaya et son équipe n'a également montré

aucune association entre les polymorphisme du gène *ABCBI* et le risque de développer une LMC (Yaya et al., 2014).

Les résultats concernant la non association mise en évidence entre le génotype 3435C>TT du gène *ABCBI* et le risque d'émergence de la LMC dans notre population d'étude rejoint la plupart des résultats rapportés dans la littérature à ce sujet. Cependant, les études qui se sont penchées sur cette possible association restent limitées; en effet, la plupart des investigations menées sur la relation du gène *ABCBI* avec la LMC concernaient la pharmacogénétique de l'*Imatinib Mesylate* dans le traitement de cette pathologie. Car, de même que la P- gp pourrait réguler l'intrusion des agents xénobiotiques carcinogènes il semblerait qu'elle puisse également réguler l'extrusion de l'imatinib des cellules (Thomas et al., 2004). La pharmacogénétique de cette molécule thérapeutique (l'*Imatinib*) chez les cas LMC représentait le but initial de notre travail; malheureusement ce travail n'a pas pu être mené à bout à cause de la grande difficulté que représente le recueil des données concernant le suivi des patients sur le plan de la réponse thérapeutique. De plus, le suivi en question devrait se faire selon des règles strictes établies par la société médicale internationale à travers l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS); en effet les paramètres de suivi sont primordiaux pour la détermination des niveaux de réponses des malades pour le traitement, car il doit reposer sur trois paramètres: paramètre biologique, cytogénétique et moléculaire, à différentes étapes du traitement. Or, à ce jour, peu de malades ont accès aux analyses cytogénétiques et moléculaires, vu que les techniques requises pour ce type d'analyses ne sont pas encore mise en routine au niveau des plateformes hospitalières Algériennes et le peu de laboratoires privés qui offrent ces prestations sous-traitent avec des laboratoires étrangers d'où le surcout de ces examens, ce qui les rend inaccessibles à la majorité des patients.

III. Etude de la distribution des fréquences du polymorphisme 1196G>A du gène *XRCC1* chez les cas de LMC et les témoins

- Résultats de l'amplification de l'exon 10 du gène *XRCC1*

L'amplification de l'exon 10 du gène *XRCC1*, était positive pour 72 ADN. Elle a été confirmée par la présence d'une bande de 615 pb sur le gel d'agarose (**Figure 23**).

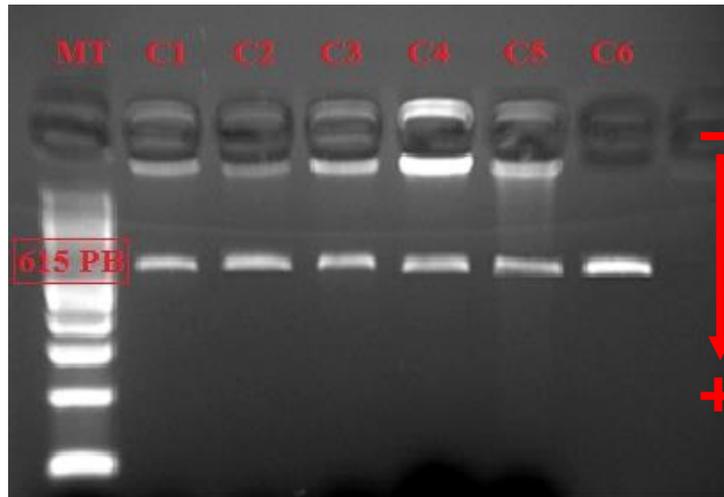


Figure 23: Test d'amplification de l'exon 10 du gène *XRCC1* de quelques ADN cas C1 à C6.
(MT: Marqueur de taille de 100 pb).

- Résultats de la digestion des ADN par l'enzyme de restriction *MspI*

Les résultats de digestion des amplimères par l'enzyme de restriction *MspI* ont montré 3 profils électrophorétiques différents (**Figure 24**):

28 sujets sur 72 sujets présentaient un profil électrophorétique montrant 3 bandes de 615 pb, 375 pb et 240 pb correspondant à l'hétérozygotie 1196GA. 31 sujets sur 72 présentaient un profil électrophorétique montrant 2 bandes de 375 pb et 240 pb correspondant à l'homozygotie 1196GG et enfin 13 sujets sur 72 présentaient un profil électrophorétique montrant une seule bande de 615 pb, correspondant à l'homozygotie 1196AA.

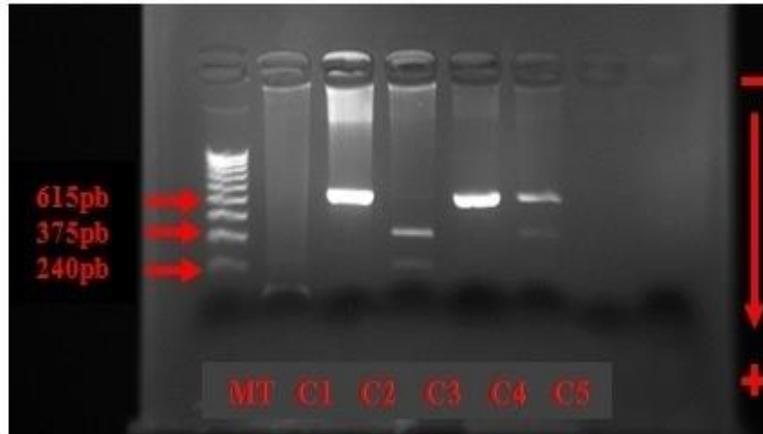


Figure 24: Test de digestion de quelques ADN cas (C1 à C5)
 C1 et C3: génotype homozygote normal 1196G/G, C2 et C4: génotype homozygote muté 1196A/A, C5: génotype hétérozygote 1196G/A. (MT: Marqueur de taille de 100 pb).

- **Résultats de la distribution des fréquences du polymorphisme 1196G>A du gène *XRCC1***

Les distributions des fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme 1196G>A du gène *XRCC1* chez les groupes de cas et de témoins, sont rapportées au niveau du tableau IX.

L'analyse de la distribution des allèles du polymorphisme 1196G>A du gène *XRCC1*, montre que l'allèle 1196G est l'allèle majeur dans notre population d'étude avec une fréquence de 67% chez les témoins. Par ailleurs, les fréquences de l'allèle 1196A étaient de 37.5% chez le groupe de cas et de 33% chez les témoins.

Les fréquences des génotypes 1196GG, 1196GA et 1196AA étaient de 43%, 39% et 18%, respectivement chez les cas, alors que chez les témoins les fréquences étaient de 55% pour le génotype 1196GG, 40% pour le génotype 1196GA et 5% pour le génotype 1196AA.

Par ailleurs, les fréquences des génotypes groupés 1196GA et 1196AA ont été évaluées à 57% chez les cas et 45% chez les témoins.

Tableau IX: Distribution des fréquences alléliques et génotypiques du SNP 1196G>A du gène *XRCC1* chez les témoins et les patients LMC.

	Patients LMC		Témoins		OR (95% IC)	Valeur <i>p</i>
	(n=72)		(n=148)			
	n	(%)	n	(%)		
<i>Allèles</i>						
G	90	(62,5)	222	(75)	1 ^a	
A	54	(37,5)	74	(25)	1,80 [1,17-2,76]	0,006
<i>Génotypes</i>						
GG	31	(43)	81	(55)	1 ^a	
GA	28	(39)	60	(40)	1,21 [0,66-2,24]	0,052
AA	13	(18)	7	(5)	4,85 [1,77-13,29]	0,001
<i>Génotype groupés</i>						
GG	31	(43)	81	(55)	1 ^a	
GA+AA	41	(57)	67	(45)	1,59 [0,9-2,82]	0,10

n: nombre, %: fréquence, OR: odds ratio, IC: Intervalle de confiance, *p*: signification statistique, a: génotype ou allèle de référence.

La comparaison statistique entre les distributions des fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme 1196G>A du gène *XRCC1* a montré une différence significative concernant les fréquences de l'allèle 1196A entre les cas et les témoins ($p=0,006$; OR= 1,80 [1,17-2,76]). Cette même différence statistiquement significative entre les fréquences a été retrouvée dans la distribution du génotype homozygote muté 1196AA ($p=0,001$ et OR= 4,85 [1,77-13,29]). Cependant, la distribution des fréquences du génotype hétérozygote 1196GA était homogène entre les cas et les témoins ($p>0,05$); la même observation a concerné la distribution des génotypes groupés 1196GA +1196AA

La distribution des allèles et des génotypes concernant le polymorphisme 1196G>A du gène *XRCCI* trouvées significative dans cette étude au seuil de $p < 0,05$, sont également significative au seuil corrigé $p < 0,0125$ (correction de Benforini)

- **Discussion**

Après analyse des résultats de la distribution des fréquences alléliques, la fréquence de l'allèle mineur 1196A du gène *XRCCI* de 25% caractérisant la population témoin de notre étude s'est révélée assez similaire à celle caractérisant la population asiatique ou celle-ci est de 27% (**Qu and Morimoto, 2005**) et la population Marocaine (26%) (**Laantri et al., 2011**). En revanche, cette fréquence est moins importante que celles retrouvée dans la population Tunisienne 36% (**Salah et al., 2012**), ou encore Turque (35%) (**Deligezer et al., 2007**). En effet, ces dernières populations ont une fréquence se rapprochant plus de celle de la population Caucasienne en général (34%) (**Deligezer et al., 2007**).

Par ailleurs, l'analyse de la distribution des fréquences alléliques du polymorphisme 1196G>A a montré une différence significative entre les cas et les témoins ($p=0,006$; OR= 1,80 [1,17-2,76]), suggérant ainsi une association de l'allèle 1196A avec le risque de survenue de la LMC dans notre population d'étude. De plus, la distribution des fréquences génotypiques est caractérisée par une fréquence du génotype homozygote muté 1196AA plus élevée chez les cas que chez les contrôles avec une différence de distribution statistiquement significative entre ces deux groupes d'individus ($p < 0,05$). Cependant, aucune différence entre ces derniers n'a été relevée concernant non seulement la distribution des fréquences du génotype hétérozygote 1196GA, mais aussi celle des génotypes groupés 1196GA+1196AA.

Notre étude est la première à avoir établi une association entre le polymorphisme 1196G>A du gène *XRCCI* et le risque de survenue de la LMC. Avant la notre, seules trois études ont recherché cette association; la première d'entre elles, une étude sur la population Turque menée par Deligezer et son équipe n'a retrouvé aucun lien entre ce polymorphisme et la LMC (**Deligezer et al., 2007**). La seconde, menée en Inde et qui avait exploré trois polymorphismes du gène *XRCCI*, incluant le polymorphisme 1196G>A, avait suggéré que le gène *XRCCI* pourrait avoir un rôle important dans l'évolution de la LMC mais non dans sa causalité (**Annamaneni et al., 2013**). Enfin, la dernière et la plus récente des recherches a été

menée sur la population Roumaine, et n'a mis en évidence aucune association entre le polymorphisme du gène *XRCCI* et la LMC (**Banescu et al., 2014**).

Il est bien clair que la LMC est caractérisée par le « chromosome Philadelphia ». Les résultats d'études récentes d'association génétique suggèrent que les polymorphismes nucléotidiques simples dans des gènes à différentes fonctions peuvent influencer sur le risque de la LMC (**Amirzargar et al., 2005; Hur et al., 2006**). Ceux-ci comprennent des gènes impliqués dans différents processus cellulaires, y compris le métabolisme du folate (*MTHFR*), la transduction du signal (*FLT3*), la désintoxication (*NQO1*), la réponse immunitaire (*cytokines*), la stabilité du génome (*p53*) et l'apoptose (*PDCD5*). Ce qui suggère que, en plus de la translocation t (9, 22), d'autres facteurs peuvent moduler la sensibilité à la LMC (**Deligezer et al., 2007**). Le gène *XRCCI* code pour une protéine impliquée dans la réparation des bases endommagées par des endogènes et des antioxydants exogènes, ce qui fait de lui actuellement un gène important et un sujet d'étude approfondi en cancérogénèse (**Hu et al., 2005b**). Vu l'impact possible qu'il puisse avoir sur l'altération des capacités de réparation de l'ADN, des études ont suggéré qu'il pourrait représenter un facteur de risque dans les hémopathies malignes telles que les leucémies (**Annamaneni et al., 2013; Du et al., 2013**). Les polymorphismes du gène *XRCCI* ont été assez explorés quant à leur implication dans le développement de la leucémie myéloïde aigue (**D'Andrea, 2010; El-Din et al., 2012; Kuptsova et al., 2007; Seedhouse and Russell, 2007**), la leucémie lymphoblastique aigue (**Joseph et al., 2005; Meza-Espinoza et al., 2009**), la leucémie lymphoblastique chronique (**Duman et al., 2012; Ganster et al., 2009**), et le lymphome (**Liu et al., 2009; Matsuo et al., 2004**); mais ces explorations restent limitées concernant la LMC.

L'activité altérante de Bcr-Abl kinase conduit à la leucémogénèse par la dérégulation de la prolifération, de l'apoptose, de la différenciation, et de l'adhésion cellulaire. L'expression de Bcr-Abl est aussi associée à une augmentation de production des dérivés réactifs de l'oxygène (ROS), et à des altérations d'ADN spontanées (**Koptyra et al., 2006**). Indépendamment du fait que Bcr-Abl puisse avoir un rôle direct ou indirect dans le développement de l'instabilité génomique, la majorité des patients LMC développent des anomalies chromosomiques additionnelles (**Johansson et al., 2002; Shet et al., 2002**). Ceci laisse penser que le gène *XRCCI* pourrait non seulement intervenir dans la survenue de la LMC mais également dans son acutisation. Cependant les résultats obtenus et les hypothèses émises concernant l'implication du polymorphisme 1196G>A du gène *XRCCI* dans cette pathologie restent à confirmer par des études plus approfondies et plus élargies.

V. Détection de la mutation FLT3/ITD chez des cas de LAM

Les LAM représentent un groupe hétérogène de leucémies associées à un pronostic variable, dont la prise en charge thérapeutique chez les patients est guidée autant par le profil moléculaire et cytogénétique que par le profil clinique du patient (Dohner et al., 2010).

Les mutations du gène *FLT3* font partie des altérations les plus souvent rencontrées dans les LAM, et la prise en charge clinique des patients atteints de LAM associées à ce type de mutations représente un vrai défi clinique pour les praticiens (Levis and Small, 2003).

Notre étude a consisté en la recherche de la mutation du gène *FLT3* la plus commune, qui est une duplication en tandem (FLT3-ITD) d'un motif de 3 pb à 400 pb, cette mutation est plus fréquente que la mutation D835 de ce même gène. La mutation FLT3/ITD est une mutation somatique, généralement retrouvée à une fréquence de 0,25 à 0,30 dans les cas de LAM à caryotype non déterminé et de 0,28 à 0,3 chez les cas à caryotype normal (Llopis et al., 2009).

La mutation FLT3-ITD dans les clones blastiques est souvent retrouvée à l'état hétérozygote; sa présence dans un allèle et sa suppression dans le second a été démontrée dans certaines LAM. Lorsque cette mutation est à l'état hétérozygote, elle est suffisante pour déterminer un mauvais pronostic de la pathologie (Whitman et al., 2001).

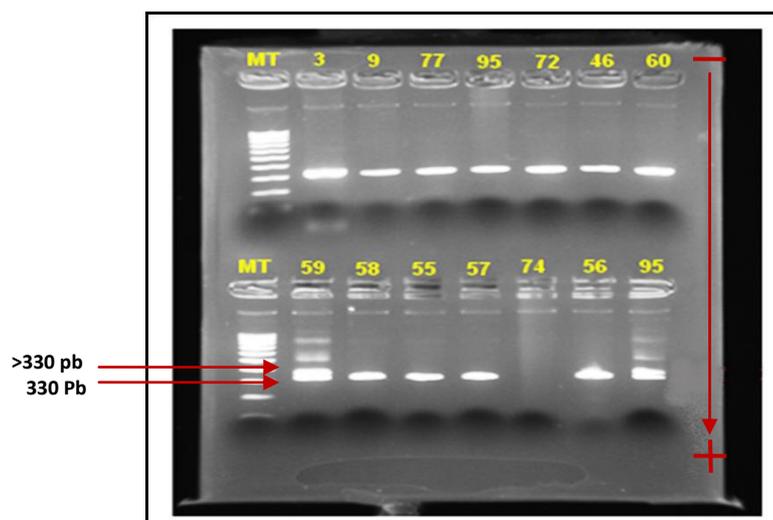


Figure 25: Résultats de l'amplification du gène *FLT3* chez quelques cas
 MT: marqueur de taille 100pb, La bande >330 pb correspond à l'allèle FLT3-ITD, la bande 330 correspond à l'allèle sauvage

Parmi les 50 cas de LAM recrutés dans cette étude, seuls 5 cas présentaient une duplication, ce qui représente une fréquence 0,1 dans notre échantillon d'étude. Les profils électrophorétiques présentent deux bandes, une bande caractérisant l'allèle normal avec une taille de 330 pb, et une bande caractérisant l'allèle muté de 30 à 50 pb de plus que la bande normale, qui représente la duplication en tandem (**Figure 25**).

La fréquence de la mutation retrouvée dans notre étude (0,1) est inférieure à celle décrite dans la littérature. En effet une étude réalisée au Maroc sur 33 malades a rapporté une fréquence de 0,3 (**Dehbi et al., 2013**). D'autres études réalisées sur trois échantillons d'individus Européens différents (51, 31, 159 malades) ont montré que la fréquence de cette mutation varie de 0,21 à 0,25 (**Boissel et al., 2002; Chillon et al., 2010; Tiesmeier et al., 2004**). Aux Etats-Unis, sur 82 malades, cette fréquence a été estimée à 0,28. La fréquence la plus importante (0,32) a été observée lors d'une étude réalisée en Iran sur 40 malades (**Emami et al., 2009**).

La mutation FLT3-ITD qui survient approximativement chez le quart des patients adultes nouvellement diagnostiqués, présente un grand défi clinique. Bien qu'environ 30% des patients atteints de LAM abritent une forme de mutation FLT3, la significativité clinique de ces altérations génétiques chez un patient donné, varie selon la nature de la mutation et le contexte dans lequel elle survient (**Levis, 2013**).

La mutation FLT3-ITD survient à proximité ou au niveau du domaine juxtamembranaire du récepteur, son incidence varie selon l'âge et le groupe de risque, tout en étant moins commune dans les LAM pédiatriques et les LAM survenant suite à un syndrome myélodysplasique (**Dicker et al., 2010; Kiyoi et al., 1999**).

Actuellement le dilemme auquel font face les praticiens dans le traitement des LAM portant la mutation ITD, est la conduite à tenir pour une meilleure induction et consolidation lors de la prise en charge chimiothérapeutique (**Levis, 2013**).

L'impact de la mutation FLT3-ITD peut varier considérablement selon les différents contextes; en effet la FLT3-ITD est plus commune dans le type de leucémie promyélocytaire aigue (APL) et bien qu'elle soit associée à une leucocytose, son impact est minime dans ce sous groupe de la maladie (**Barragan et al., 2011**). Mis à part le type LAM APL, l'impact de la mutation FLT3-ITD a généralement un impact négatif prononcé sur la prise en charge clinique pour tous les stades de la maladie (**Mead et al., 2007**).

Ceci rend nécessaire la détection de la mutation FLT3-ITD chez tous les patients LAM au moment du diagnostic dans le but d'établir le pronostic, bon ou mauvais qui permettra de guider la prise en charge thérapeutique.

*Conclusion et
perspectives*

Actuellement, les recherches sur la leucémie sont en plein essor; durant ces dernières décennies le traitement et les connaissances sur les leucémies ont connu de grandes avancées grâce aux travaux consacrés à cette pathologie qui est en plein accroissement.

Cette présente étude rejoint de nombreuses autres études cas-témoins qui se sont intéressées aux gènes qui peuvent intervenir dans le risque de survenue des différents types de leucémies.

La première partie de cette étude qui est l'exploration de l'implication des gènes *MTHFR*, *ABCB1*, et *XRCC1* dans le risque de survenue de la LMC, représente la première étude de ce type réalisée sur la population Algérienne.

Les résultats obtenus dans cette étude rapportent une association des polymorphismes 677C>T et A1298T du gène *MTHFR* et le polymorphisme 1196G>A du gène *XRCC1* avec la LMC et excluent son association avec le polymorphisme 3435C>T du gène *ABCB1*.

L'étude d'association de la LMC avec les polymorphismes du gène *MTHFR* vient s'ajouter à plusieurs autres études menées visant le même objectif. Cependant, elle représente une des rares études qui rapporte l'association de la pathologie avec ces deux polymorphismes simultanément. Par ailleurs, il serait intéressant d'élargir la taille de notre cohorte, tout en renseignant le statut du folate chez tous les individus. Cela permettrait d'une part de confirmer cette corrélation et d'autre part de situer le rôle exact des folates dans cette association. Il serait également intéressant d'explorer d'autres gènes intervenants dans le même cycle que le *MTHFR*, comme les gènes *DHFR* (Dihydrofolate réductase) et *TS* (Thymidylate synthase) ainsi que les gènes intervenant dans la méthylation de l'ADN pour mettre en évidence la part de responsabilité du gène *MTHFR* dans ce processus.

L'association de la LMC avec le polymorphisme du gène *XRCC1*, représente la première association rapportée dans la littérature, même si les études menées sur ce même sujet restent rares. Cependant, il serait important d'augmenter l'échantillon d'étude afin de confirmer cette association et d'explorer d'autres gènes qui contribuent dans d'autres systèmes de réparation de l'ADN.

Les résultats concernant le polymorphisme du gène *ABCB1*, semblent exclure son association avec l'apparition de la LMC dans notre population. Sachant que ce gène code pour

une pompe d'efflux cellulaire, nous envisageons de mener une étude pharmacogénétique le concernant, en stratifiant les génotypes selon la réponse au traitement à base d'Imatinib chez les cas de LMC. Ceci permettrait aux cliniciens un meilleur suivi et une prise en charge plus précise de leurs patients. La confrontation de nos résultats aux résultats d'autres études menées sur d'autres populations à travers le monde, nous a permis de situer et de définir notre population sur le plan génétique par rapport à la population mondiale. Enfin, toutes les données obtenues concernant la distribution allélique de chacun des gènes explorés dans notre population témoin, pourraient servir pour la recherche d'associations avec d'autres pathologies qui font intervenir ces mêmes gènes.

La seconde partie de cette étude, qui se résume dans la détection de la mutation ITD du gène *FLT3*, a permis de mettre en évidence cette dernière chez quelques cas de LAM de la population Algérienne; tout comme la première partie de notre étude, cette partie représente une première sur le territoire Algérien.

La mutation *FLT3*-ITD représente un marqueur pronostic important dans les LAM. Suite à cette étude nous avons réussi à implanter cette technique au niveau du service de cytogénétique et de biologie moléculaire de l'Etablissement Hospitalier Universitaire (EHU) d'Oran, ce qui permet aujourd'hui la détection de cette mutation en routine pour les cas de LAM afin d'envisager le traitement approprié. Cependant, les cliniciens dans leur pronostic s'appuient sur des données rapportées par des études menées sur des populations autres qu'Algériennes. Donc, nous envisageons d'entreprendre dans un futur proche une étude de corrélation entre la présence et l'absence de la mutation *FLT3*-ITD et la réponse à la chimiothérapie mise en route, afin d'optimiser ces traitements et de mieux évaluer l'impact de la mutation chez les cas de LAM dans la population Algérienne. Par ailleurs, cette analyse moléculaire permet l'enrichissement des connaissances concernant les leucémies en Algérie, vu l'absence quasi totale de données épidémiologique.

Annexes

Annexe1: Fiche patient LMC

Identification

Centre coordinateur :

Médecin traitant :

Numéro du dossier :

Nom et prénom :

Sexe :

Age :

N° de téléphone :

Donnée épidémiologiqueFumeur Oui NonExposition à des radiations Oui Non**Données cliniques**

Date de recrutement :

Stade de la LMC :

Score de sokal :

Date du début de traitement :

Dose initiale (d'attaque) d'imatinib : Durée

Dose (secondaire) d'entretien d'imatinib : Durée

Médicaments associés :

Effets secondaire observés**NB : si oui précisez la date de l'évaluation durant laquelle été recensé l'effet secondaire**

Douleur abdominale	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Diarrhée	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Indigestion	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Nausées	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Vomissements	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Anorexie	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Douleurs aux os, muscles, articulation	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Fatigue	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Crampes musculaire	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Rétention liquidienne	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Bouffées vasomotrice	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Hémorragie	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Dyspnée	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Epistaxis	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Toux	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Céphalées	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Elévation des enzymes hépatiques	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Œdème	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Dermatite	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Rash	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non

Prurit	Oui	<input type="checkbox"/>	Non	<input type="checkbox"/>
Hémorragie		<input type="checkbox"/>	Oui	<input type="checkbox"/>
Pétéchie		<input type="checkbox"/>	Oui	<input type="checkbox"/>
Cytopénie		<input type="checkbox"/>	Oui	<input type="checkbox"/>
Neutropénie		<input type="checkbox"/>	Oui	<input type="checkbox"/>
Thrombopénie		<input type="checkbox"/>	Oui	<input type="checkbox"/>
Anémie		<input type="checkbox"/>	Oui	<input type="checkbox"/>

Efficacité de l'imatinib

	Après 1 mois du traitement	Après 3 mois du traitement	Après 6 mois du traitement	Après 9 mois de traitement	Après 12 mois du traitement
Réponse à l'imatinib					
Type de réponse					

- Rechute du patients Oui Non

Si oui : après une période desous une doses de d'imatinib.

- Le patient a présenté une certaine résistance et/ou toxicité envers l'imatinib il a été mis sous un autre traitement Oui Non

Observation:.....

Signature du médecin traitant

Annexe 2: Fiche patient LAM

Identification

Centre coordinateur :

Médecin traitant :

Numéro du dossier :

Nom et prénom :

Sexe :

Age :

N° de téléphone :

Donnée épidémiologique

Fumeur	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Exposition à des radiations	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Antécédents de chimiothérapie	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
L'existence préalable de myélodysplasie	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
L'existence préalable de polyglobulie	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
L'existence préalable de LMC	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non

Données cliniques

Date de recrutement :

Stade de la LAM :

Date du début de traitement :

Médicaments associés :

Effets secondaire observés

NB : si oui précisez la date de l'évaluation durant laquelle a été recensé l'effet secondaire

Nausée	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Vomissements	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Stomatite	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Ulcération de la bouche	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Diarrhée	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Fièvre	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Alopécie	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Rash	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Leucopénie	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Thrombopénie	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Anémie	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Aplasie médullaire	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Toxicité cardiaque	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Tachycardie sinusale	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Troubles de la repolarisation	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Insuffisance cardiaque aiguë	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Extrasystole	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Myocardite	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Insuffisance cardiaque chronique	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>

Péricardite	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Fibrillation ventriculaire	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Bloc auriculoventriculaire	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Coloration de la peau	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Coloration des ongles	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Phlébite au point d'injection	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Insuffisance rénale aigue	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Douleur (Dos et poitrine)	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>

Etape de l'induction

Date.....

Dose de la rubidomycine.....

Médicament associés.....

Durée

	Avant traitement	Après le 1er cycle d'induction
Erythrocytes		
Hémoglobine		
Hématocrite		
VGM		
CCMH		
TCMH		
Plaquettes		
Leucocytes		
Neutrophiles		
Lymphocytes		
Monocytes		
Eosinophiles		
Basophiles		
Réticulocytes		
Taux de blastes dans le sang		
Taux des Blastes médullaire		

Annexe 3: Consentement de prélèvement

Identité du Médecin :

Consentement de prélèvement dans un but d'étude génétique et / ou de conservation dans une banque d'ADN chez une personne MAJEURE**Consentement établi en deux exemplaires dont un a été remis à l'intéressé(e).**

Je soussigné(e).....né(e) le :

Demeurant à.....

accepte que soit effectué chez moi un prélèvement sanguin afin de faire réaliser une étude de génétique moléculaire, qui peut aider au diagnostic ou à la prévention de la maladie : pour moi-même ou des membres de ma famille, selon la proposition du Docteur

Dans certains cas, la connaissance de mon origine géographique est nécessaire pour orienter les études génétiques.

J'en autorise le recueil.

Je n'en autorise pas le recueil.

(rayer la mention inutile)

Cette étude sera faite à partir de l'ADN extrait du sang prélevé, qui sera conservé dans la banque d'ADN du Laboratoire de Génétique Moléculaire et Cellulaire de l'USTO. Dans certains cas, cette étude peut s'étendre sur plusieurs années. A tout moment je peux demander que mon ADN me soit restitué ou détruit.

Je déclare avoir été pleinement informé(e) de la nature des études qui seront effectuées et des conséquences éventuelles des résultats qui peuvent m'être donnés.

Ces résultats seront transmis uniquement au Docteur

.....

Je souhaite

Je ne souhaite pas

(rayer la mention inutile)

en être informé(e) par lui.

Je consens au recueil, à la saisie et au traitement des données contenues dans mon dossier médical par des personnes tenues au secret professionnel. Les données qui me concernent resteront strictement confidentielles. Je n'en autorise la consultation qu'aux personnes qui collaborent à l'analyse. Je pourrai à tout moment demander que mon dossier soit détruit.

Conformément à la loi Informatique et Libertés, je peux exercer mon droit d'accès aux données qui me concernent par l'intermédiaire d'un médecin de mon choix.

L'utilisation éventuelle de mon ADN à des fins de recherche médicale, pour une étude non directement liée à celle à laquelle je consens ce jour, nécessitera un nouveau consentement de ma part.

Fait à : le :

**Signature du
médecin recueillant
le consentement**

**Signature de
L'intéressé(e)**

أخذ العينات من أجل الموافقة على الدراسة الجينية و / أو الحفظي مكتبة الحمض النووي

أدلى الموافقة في مكررة وأعطيت نسخة واحدة إلى المحتملين
 أنا الممضي اسفله..... ولد (ه) :
 مقيم في.....
 قبول تنفيذ كما هو الحال في عينة دم لي لإجراء دراسة علم الوراثة الجزيئية ، والتي يمكن أن تساعد التشخيص أو الوقاية
 من الأمراض..... لنفسي أو أفراد عائلتي ، وفقا لاقتراح من
 الدكتور..... في بعض الحالات ، المعرفة بلدي المنشأ الجغرافي اللازمة لتوجيه الدراسات الجينية.

أنا أذن للجمع. أنا لم أذن للجمع.

(حذف حسب مقتضى الحال)
 هذه الدراسة تتطلب الدم استخراج وستتاح الحمض النووي التي جمعت من دمي ، والتي سيتم الاحتفاظ بها في بنك
 الحمض النووي في مختبر علم الوراثة الجزيئية والخلوية USTO. في بعض الحالات ، قد هذه الدراسة تمتد على عدة
 سنوات. أي وقت يمكن ان أطلب إعادة أو تدمير الحمض النووي خاصتي.
 أعلن أنني على علم تام طبيعة الدراسات المتخذة والنتائج المحتملة لنتائج وستتاح هذه النتائج فقط للدكتور

أنا أذن أنا لم أذن .

(حذف حسب مقتضى الحال)

أنا موافقة على جمع ومعالجة البيانات في سجلاتي الطبية من قبل أشخاص اقساموا على التكم المهنية. وستبقى البيانات
 المتعلقة بي سرية. أنا لا اسمح الا للأشخاص الذين يتعاونون في التحليل. ويمكنني أن اطلب في أي وقت أن يتم إتلاف
 السجل.

وفقا لقانون حماية البيانات، أود أن أمارس حق الوصول إلى البيانات من خلال طبيب المختار
 إمكانية استخدام الحمض النووي للبحوث الطبية الا لهذه دراسة أي دراسة اخري تتطلب موافقة جديدة مني

حررت في..... على ما يلي :
 توقيع الطبيب التوقيع بالشخص

Annexe 4 : Article

Article original
Original article

Bulletin du Cancer Volume 101 • N° 9 • septembre 2014
©John Libbey Eurotext

Association des polymorphismes du gène méthylène-tétrahydrofolate réductase avec la leucémie myéloïde chronique

Association between methylene-tetrahydrofolate reductase gene polymorphisms and chronic myeloid leukemia

Samia Dorgham¹, Meriem Aberkane^{1,2}, Wifa Boughrara¹, Badra Antar Soltan³, Nemra Mehalhal⁴, Hadj Touhami⁵, Noureddine Sidimansour⁶, Nadia Merad Boudia⁶, Lotfi Louhibi¹, Abdallah Boudjema^{1,2}

¹ Université des sciences et de la technologie d'Oran, Mohamed-Boudiaf (USTO-MB), Laboratoire de génétique moléculaire et cellulaire, BO 1505 El-Mnaouer, 31000 Oran, Algérie
«dorghsam@gmail.com»

² Établissement hospitalier universitaire d'Oran, Service de biologie moléculaire et cytogénétique, Oran, Algérie

³ Établissement hospitalo-universitaire d'Oran, Service d'hématologie, Oran, Algérie

⁴ Centre hospitalo-universitaire de Mascara, Service d'hématologie, Mascara, Algérie

⁵ Centre hospitalo-universitaire Constantine, Service d'hématologie, Constantine, Algérie

⁶ Centre hospitalo-universitaire de Tiencen, Service d'hématologie et de transfusions sanguines, Tiencen, Algérie

Article reçu le 24 septembre 2014,
accepté le 21 février 2014
Tirés à part : S. Dorgham

Pour citer cet article : Dorgham S, Aberkane M, Boughrara W, Antar Soltan B, Mehalhal N, Touhami H, Sidimansour N, Merad Boudia N, Louhibi L, Boudjema A. Association des polymorphismes du gène méthylène-tétrahydrofolate réductase avec la leucémie myéloïde chronique. Bull Cancer 2014; 101 : 803-7.
doi : 10.1684/bdc.2014.1953.

Résumé. MTHFR est une enzyme clé du métabolisme des folates. Peu d'études ont été rapportées à propos de sa corrélation avec le risque de leucémie myéloïde chronique (LMC). Dans le but de rechercher l'association entre les polymorphismes C677T et A1298C du gène *MTHFR* et la LMC, nous avons mené une étude cas-témoins dans un échantillon de 90 cas et 100 témoins originaires d'Algérie. Le génotypage a été réalisé par discrimination allélique TaqMan®, les résultats obtenus sont analysés par le test χ^2 . Les fréquences de l'allèle 677T et des génotypes 677TT et 677CT étaient significativement plus élevées chez les cas par rapport aux contrôles (respectivement $P=1E-6$; OR=6,77 et $P=1E-6$; OR=10,38). De même, a été observé pour les fréquences de l'allèle 1298C et des génotypes 1298AC et 1298CC (respectivement $P=9 E-6$; OR=2,65 et $P=0,008$; OR=2,22). Nous avons également observé une association significative des haplotypes 677T/1298A et 677T/1298C avec la LMC (respectivement $P=0,007$; OR=2,57 et $P=5 E-6$, OR=6,91). Nos résultats démontrent, que les allèles 677T et 1298C sont associés à un risque accru de LMC en Algérie. ▲

Mots clés : MTHFR, LMC, Algérie

Introduction

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est un syndrome myéloprolifératif monoclonal, évoluant en trois phases : chronique, accélérée, et blastique ; durant cette transformation, les cellules clonales deviennent moins différenciées

Abstract. Methylene-tetrahydrofolate reductase (MTHFR) is a key enzyme of folate metabolism. Few studies were reported about its relationship with chronic myeloid leukemia (CML). We conducted a case-control study analyzing the prevalence of the polymorphisms MTHFR C677T and MTHFR A1298C in Algerians CML patients. Using TaqMan® allelic discrimination assay, we investigate MTHFR C677T and A1298C polymorphism distribution in 90 cases of CML and 100 healthy subjects. The frequencies of 677T alleles and genotypes 677TT and 677CT were significantly higher in cases than in control ($P=1E-6$; OR=6.77 [4.22-10.86]) and ($P=1E-6$; OR=10.38 [4.56-23.6]) respectively. Also, the frequencies of 1298C alleles and genotypes 1298CC and 1298AC were higher in cases ($P=9 E-6$; OR=2.65 [1.71-4.10]) and ($P=0.008$; OR=2.22 [1.21-4.06]) respectively. We report also the higher significance of the haplotype 677T/1298A and 677T/1298C in cases ($P=0.007$; OR=2.57 [1.26-5.24]) and ($P=5 E-6$, OR=6.91 [2.7646-17.2899]) respectively. Our results demonstrate that 677T and 1298C alleles are both associated with an increased risk of CML in Algeria. ▲

Key words: MTHFR, CML, Algeria

et acquièrent des aberrations chromosomiques [1]. La LMC est associée à un marqueur chromosomique spécifique, le chromosome philadelphia qui résulte de la translocation des chromosomes 9 et 22 [t(9 ; 22) (q34 ; q11)], cette translocation induit la fusion du proto-oncogène c-abl sur le

S. Dorgham, et al.

chromosome 9 et le gène *bcr* sur le chromosome 21, engendrant ainsi le gène hybride *Bcr-Abl* qui code une protéine à activité tyrosine kinase constitutivement active [2]. Même si l'aspect clinique et biologique de la LMC est bien connu, peu de travaux ont exploré la susceptibilité individuelle de cette maladie [3] ; des études d'association ont été menées afin d'identifier les variants génétiques associés au risque de la LMC, parmi lesquels, le gène méthylène-tétrahydrofolate réductase (MTHFR) [4]. Enzyme clé du cycle des folates, MTHFR convertit le 5,10-méthylène-tétrahydrofolate (5,10-méthylène THF) en 5-méthyl-tétrahydrofolate (5-méthyl THF), élément principal dans la conversion de l'homocystéine en méthionine dans la voie de méthylation de l'ADN ; le 5-méthyl THF favorise aussi la provision des nucléotides puriques et pyrimidiques pour la synthèse de l'ADN [5].

Deux polymorphismes génétiques connus sur le gène *MTHFR*, le C677T et le A1298C ont été rapportés comme étant corrélés à une diminution de l'activité enzymatique de l'enzyme. Le premier polymorphisme réside au niveau de l'exon 4 (ALA 222 VAL), altérant ainsi la base du site de fixation de la flavine adénine dinucléotide (FAD) cofacteur du MTHFR. Le second polymorphisme siège au niveau de l'exon 7 (GLU 429 ALA) ; il est situé dans le domaine S-Adénosyl-méthionine-régulateur de l'enzyme [6]. La baisse de l'activité de MTHFR engendre une disponibilité importante du substrat 5,10-méthylène THF, permettant par conséquent une synthèse adéquate des pyrimidines et des purines. Cependant, cette même diminution pourrait engendrer des altérations oncogéniques potentielles dans la méthylation de l'ADN menant ainsi à un processus carcinogène [7].

Des études précédentes ont décrit les polymorphismes du gène *MTHFR* comme étant associés à un risque élevé de développement du cancer du sein [8], du cancer colorectal [9], endométrial [10], cervical [11], et gastrique [12]. Des associations ont été rapportées entre les polymorphismes génétiques de MTHFR et le risque de développer une leucémie, mais la plupart concernait la leucémie lymphoblastique aiguë [13] ; et celles qui ont été menées sur la LMC étaient contradictoires [14-17]. Notre but était de rechercher par le biais d'une étude cas-témoin une éventuelle association entre les variants du gène *MTHFR* et le risque de survenue de la LMC dans la population algérienne.

Patients et méthodes

Population d'étude

Cette présente étude a concerné 100 témoins sains (homme/femme : 1,15 âge moyen 47,3 ; S.D ± 15,3), et 90 patients atteints de LMC (homme/femme : 1,23 âge moyen 45,9 ; S.D ± 14,7), tous d'origine algérienne. Les patients suivis dans des services d'hématologie de différents hôpitaux algériens (Établissement hospitalier d'Oran, Centre hospitalo-universitaire d'Oran, Centre hospitalo-universitaire de Constantine, Centre hospitalo-universitaire de Mascara, Centre hospitalo-universitaire de Tlemcen), ont été diagnos-

tiqués en phase chronique de la LMC selon les critères cytologiques et hématologiques de l'Organisation mondiale de la santé (OMS 2008). Un consentement éclairé pour la participation à cette étude a été recueilli au préalable auprès de chacun des patients.

Extraction d'ADN et génotypage

L'ADN génomique a été extrait à partir des leucocytes du sang périphérique par la technique *Salting out* [18]. Le génotypage a été réalisé par discrimination allélique TaqMan® (Applied Biosystems, Foster City, CA).

Analyse statistique

Dans cette étude, la signification de la distribution des génotypes et des allèles, a été évaluée par Chi² en utilisant le programme CONTING Version 2.80 ; l'analyse des distributions des fréquences des haplotypes chez les cas par rapport aux témoins a été réalisée par le logiciel THESIAS [19] ; l'odds ratio a été calculé avec un intervalle de confiance de 95 %.

Résultats

L'étude de distribution des fréquences alléliques des deux polymorphismes C677T et A1298C a montré une forte augmentation de la fréquence des allèles 677T et 1298C chez les patients par rapport aux témoins (69,27 % versus 24,71 % ; $p=1E-6$; OR = 6,77 [4,22-10,86]) et (49,40 % versus 26,80 % ; $p=9E-6$; OR = 2,65 [1,71-4,10]) respectivement. Cette même augmentation chez les cas a été retrouvée dans la distribution des fréquences des génotypes comportant l'allèle 677T (677TT et 677CT) (90,36 % versus 46,06 % ; $p=1E-6$; OR = 10,38 [4,56-23,6]), et des génotypes comportant l'allèle 1298C (1298CC et 1298AC) (67,85 % versus 48,45 % ; $p=0,008$; OR = 2,22).

Cette étude a montré également une augmentation significative des fréquences des haplotypes 677T/1298A ($p=0,007$; OR = 2,57 [1,26-5,24]) et 677T/1298C ($p=5E-6$, OR = 6,91 [2,76-17,28]). Cependant, on remarque aussi une hausse significative de la fréquence de l'haplotype portant les allèles 677C et 1298A chez les témoins par rapport au cas ($p=1E-6$; OR = 0,14 [0,06-0,30]).

Les distributions des fréquences des allèles, génotypes et haplotypes sont calculées et rapportées dans le tableau 1.

Il est à noter que nous n'avons pas obtenu de résultats pour sept cas et 11 témoins dans le génotypage du polymorphisme C677T, et six cas et trois témoins dans le génotypage du polymorphisme A1298C.

Discussion

Selon nos résultats, la présence de l'allèle 677T à 24,71 % chez les témoins suggère que celui-ci représente l'allèle mineur dans la population algérienne, résultats similaires à ceux caractérisant d'autres populations comme le Maroc 26,5 % [20] et la Turquie 25,37 % [21]. En revanche, la fréquence de cet allèle varie entre 26,5 % et 46 % en Italie, 25,7 % au Moyen-Orient et 44,2 % en Chine [22].

Susceptibilité à la leucémie myéloïde chronique

Tableau 1. Distribution des fréquences alléliques, génotypiques et haplotypiques des polymorphismes C677T et A1298C du gène *MTHFR* chez les groupes de patients LMC et les témoins

Polymorphismes	Allèles Génotypes Haplotypes	LMC n (%)	Témoins n (%)	p (Valeur)	odd ratio (% CI)
C677T	C	51 (30,72)	134 (75,25)	1 E-6	6,77 [4,22-10,86]
	T	115 (69,27)	44 (24,71)		
	Total	166	178		
	CC	8 (9,63)	48 (53,93)	1 E-6	10,38 [4,56-23,6]
	CT + TT	75 (90,36)	41 (46,06)		
Total	83	89			
A1298C	A	85 (50,59)	142 (73,19)	9 E-6	2,65 [1,71-4,10]
	C	83 (49,40)	52 (26,80)		
	Total	168	194		
	AA	27 (32,14)	50 (51,54)	0,008	2,22 [1,21-4,06]
	AC + CC	57 (67,85)	47 (48,45)		
Total	84	97			
Haplotypes	677C/1298A	12 (14,63)	48 (47,79)	1 E-6	0,14 [0,06-0,30]
	677C/1298C	12 (14,63)	18 (18,2)	0,3	
	677T/1298A	29 (35,36)	15 (15,2)	0,007	2,57 [1,26-5,24]
	677T/1298C	29 (35,36)	6 (5,79)	5 E-6	6,91 [2,76-28]

LMC : leucémie myéloïde chronique ; n : nombre ; CI : intervalle de confiance.

Concernant le polymorphisme A1298C, l'allèle 1298C a été retrouvé minoritaire (26,80 %) dans la population témoins de notre étude. Ce pourcentage reste relativement proche de celui caractérisant la population marocaine ou turque 24,42 % [23] et 24,26 % [21] respectivement. Pendant qu'elle varie entre 28,1 % en Italie, 35,7 % en France [24] et 55 % au Pakistan [25]. Cela pourrait résulter de la différence ethnique et de la localisation géographique de chaque population.

Nos résultats montrent une association claire entre les deux polymorphismes du gène *MTHFR* et la survenue de la LMC chez notre population d'étude. L'association s'est avérée être significative pour les allèles mineurs des deux polymorphismes C677T et A1298C, avec une plus forte association de l'allèle 677T par rapport à l'allèle 1298A. Cela a été parallèlement confirmé par l'analyse de distribution des haplotypes ; nos résultats font également ressortir le fait que pour les haplotypes portant l'allèle 677T, le risque de développer une LMC est plus élevé en comparaison aux haplotypes ne portant pas cet allèle. Cette étude est la première étude d'association entre polymorphismes génétiques et risque de survenue de la LMC dans la population algérienne ; elle est aussi une des rares études à rapporter une association significative entre les polymorphismes explorés et cette pathologie. La taille de notre cohorte est suffisamment importante pour extrapoler nos résultats à toute la population algérienne puisque notre recrutement a été entrepris dans des Services d'hématologie de différents centres hospitaliers algériens (Établissement hospitalier d'Oran, Centre

hospitalo-universitaire d'Oran, Centre hospitalo-universitaire de Constantine, Centre hospitalo-universitaire de Mascara, Centre hospitalo-universitaire de Tlemcen). Ce large échantillonnage a été ainsi envisagé afin de limiter le risque éventuel de biais dans les résultats.

Dans les études précédentes, Smail *et al.* ont été les seuls à retrouver cette même association entre les deux polymorphismes C677T et A1298C et la LMC chez la population jordanienne [26]. Par ailleurs, deux études menées en Corée ont rapporté des résultats contradictoires concernant le polymorphisme A1298C ; En effet, Moon *et al.* ont démontré une association entre le génotype homozygote de l'allèle muté 1298CC et la LMC [15], alors que Hur *et al.* ont observé un effet protecteur pour le génotype hétérozygote de l'allèle muté 1298AC [14]. Deux autres études venues du Brésil se contredisent aussi sur l'implication du polymorphisme A1298C ; une première étude confirme la non-association du polymorphisme [16] alors qu'une étude plus récente rapporte que le génotype 1298AA augmenterait le risque de survenue de la LMC [17].

Parallèlement, Hussain *et al.* avaient établi une corrélation entre le génotype homozygote de l'allèle muté du polymorphisme C677T (677TT) et la LMC en Inde [27]. D'autres études menées sur des populations serbe [28], iranienne [29], et turque [30] confirment que le gène *MTHFR* n'exerce aucun effet sur le risque de développer une LMC. De telles contradictions dans les résultats pourraient être dues à la taille assez réduite de l'échantillon exploré dans certaines études

S. Dorgham, et al.

d'où l'absence de significativité statistique dans les résultats. D'autres interprétations de ces conclusions contradictoires seraient la variabilité ethnique et raciale des populations d'études et les facteurs environnementaux tels que l'apport de folate alimentaire.

Notre étude suggère que l'altération de la distribution intracellulaire des métabolites du folate induit par les différents formes de MTHFR pourrait jouer un rôle dans le risque de survenue de la LMC. Des études diverses ont associé MTHFR à différents type de cancer tel que ceux cités précédemment. Actuellement, il semblerait qu'un déséquilibre au niveau du cycle du folate pourrait affecter la stabilité de l'ADN par les deux voies dans lesquelles il intervient. Le 5,10-méthylène-tétrahydrofolate est un donneur de groupes méthyle pour l'uracile afin que celui-ci soit converti en thymine, utilisé alors pour la synthèse et la réparation de l'ADN. Si le taux de folate est limité, un déséquilibre dans le panel des précurseurs de l'ADN pourrait mener à l'incorporation de l'uracile à la place du thymine au niveau de l'ADN, ce qui pourrait par conséquent engendrer des cassures dans les deux brins de l'ADN ; cela pourrait être à l'origine des dommages chromosomiques et du cancer. D'un autre côté, le folate affecte l'expression des gènes par la régulation cellulaire de S-adenosyl-méthionine (SAM). Le 5-méthyl-tétrahydrofolate est un donneur de méthyle pour la méthylation de l'homocystéine en méthionine, qui à son tour est converti en SAM. Le SAM méthyle des cytosines spécifiques au niveau de l'ADN, régulant ainsi la transcription des gènes. Par conséquent, une diminution cellulaire de SAM, suite à une défaillance au niveau du folate, induirait une hypométhylation de l'ADN et potentiellement l'expression de proto-oncogènes responsables de la survenue du cancer [31]. Mais il semblerait que les polymorphismes C677T et A1298C réduisent l'activité de MTHFR ; cela pourrait exercer un rôle protecteur contre l'incorporation de l'uracile mais favoriserait l'hypométhylation de l'ADN. De ce fait, il semblerait que l'impact du métabolisme des folates dans le risque de survenue de la LMC pourrait varier suite aux interactions spécifiques gène-environnement, essentiellement due à cette influence de l'apport en folates sur la régulation des gènes impliqués dans ce même métabolisme. Cet impact pourrait également être la conséquence de certaines interactions gène-gène. En effet, des variations dans d'autres protéines impliquées dans la médiation de la voie de métabolisation des folates, comme la méthionine synthase, thymidylate synthase, serine hydroxy-méthyltransférase et dihydrofolate réductase pourraient elles aussi contribuer dans le risque de l'instabilité de l'ADN et dans la survenue du cancer [6]. De plus, le rôle des polymorphismes du gène *MTHFR* dans la carcinogenèse semble dépendre des types de cellules et d'organes impliqués (leucémie chronique versus leucémie aiguë, hémopathies malignes versus tumeurs solides) et de son interaction avec d'autres gènes intervenant dans la carcinogenèse [28]. Ces différentes interactions gène-environnement et gène-gène, pourraient expliquer le cas des patients qui ne possèdent pas les allèles causaux des polymorphismes C677T et A1298C du gène *MTHFR* et qui ont toutefois développé une LMC. Il serait

donc intéressant qu'une étude explorant cette influence des interactions environnementales et génétiques sur la survenue de la LMC dans notre contexte, soit entreprise pour confirmer cette association retrouvée. De plus, des études plus approfondies sur MTHFR et d'autres gènes associés à la même voie métabolique seraient souhaitables pour mieux comprendre le rôle exact des folates et de MTHFR dans l'hématopoïèse et les transformations malignes.

En conclusion, notre étude est la première à établir une association entre les polymorphismes C677T et A1298C et la susceptibilité à la LMC dans la population algérienne. Cependant, il reste indispensable d'élargir les échantillons des cas et des témoins pour confirmer ces résultats. Il est également intéressant d'étudier des gènes intervenant dans la méthylation de l'ADN pour mettre en évidence la part de l'intervention du gène *MTHFR* dans ce processus. ▼

Remerciements. Cette étude a été financée par PCU/USTC-MB (projet espagnol de collaboration internationale, Université des sciences et de la technologie, Oran). Nous remercions le Dr Baba Ahmed Boy (Département de biochimologie de l'Université d'Oran, Algérie) pour nous avoir fourni le support technique afin de mener cette étude, nous tenons également à remercier l'ensemble des patients et leurs familles, les volontaires témoins, et les hématologues pour leur aimable collaboration à ce travail.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt en rapport avec l'article.

Références

- Johansson B, Fianetto T, Mittleman F. Cytogenetic and molecular genetic evolution of chronic myeloid leukemia. *Acta Haematol* 2002; 107: 7.
- Quintas-Cardama A, Cortés JE. Chronic myeloid leukemia: diagnosis and treatment. *Mayo Clin Proc* 2006; 81: 973-88.
- Miranda-Vilela AL, Lordelo GS. Role of methylenetetrahydrofolate reductase (*Mthfr*), glutathione S-transferases (*Cts M1* and *T1*) and haptoglobin (*Hpl*) gene polymorphisms in susceptibility to chronic myeloid leukemia (CML). *J Hematol Thromb Dis* 2013; 1: 1000103.
- Lordelo GS, Miranda-Vilela AL, Akimoto AK, et al. Association between methylene tetrahydrofolate reductase and glutathione S-transferase M1 gene polymorphisms and chronic myeloid leukemia in a Brazilian population. *Genet Mol Res* 2012; 2: 1013-26.
- Bloant BC, Mack MM, Wehr CM, et al. Folate deficiency causes uracil misincorporation into human DNA and chromosome breakage: implications for cancer and neuronal damage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94: 3290-5.
- Robian K, Ulrich CM. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and leukemia risk: a huge mini review. *Am J Epidemiol* 2003; 157: 571-82.
- Ulrich CM, Kampman E, Bigler J, et al. Colorectal adenomas and the C677T MTHFR polymorphism: evidence for gene-environment interaction? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999; 8: 659-68.
- Semenza JC, Dellino RJ, Ziogas A, Anton-Culver H. Breast cancer risk and methylene-tetrahydrofolate reductase polymorphism. *Breast Cancer Res Treat* 2003; 7: 217-23.
- Ryan BM, Weir DG. Relevance of folate metabolism in the pathogenesis of colorectal cancer. *J Lab Clin Med* 2001; 138: 164-76.
- Esteller M, Garcia A, Martínez-Palones JM, Xircavins J, Revonts J. Germ line polymorphisms in cytochrome-P450 1A1 (C4887 CYP1A1) and methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*) genes and endometrial cancer susceptibility. *Carcinogenesis* 1997; 18: 2307-11.

Susceptibilité à la leucémie myéloïde chronique

11. Piyathilake CJ, Macaluso M, Johanning GL, Whiteside M, Heimbarger DC, Giuliano A. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphism increases the risk of cervical intraepithelial neoplasia. *Anticancer Res* 2000;20:1751-7.
12. Shen H, Xu Y, Zheng Y, et al. Polymorphisms of 5,10-methylenetetrahydrofolate methylenetetrahydrofolate reductase and risk of gastric cancer in a Chinese population: a case-control study. *Int J Cancer* 2001;95:332-6.
13. Skibola CF, Smith MT, Kane E, et al. Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene are associated with susceptibility to acute leukemia in adults. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;22:12810-5.
14. Hur M, Park JY, Cho HC, Lee KM, Shin HY, Cho HI. Methylenetetrahydrofolate reductase A1298C genotypes are associated with the risks of acute lymphoblastic leukaemia and chronic myelogenous leukaemia in the Korean population. *Clin Lab Haematol* 2006;28:154-9.
15. Moon HW, Kim TY, Oh BR, et al. MTHFR 677CC/1298CC genotypes are highly associated with chronic myelogenous leukemia: a case-control study in Korea. *Leuk Res* 2007;31:1213-7.
16. Barbosa CG, Souza CL, Pereira de Moura Neto J, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms in myeloid leukemia patients from North Eastern Brazil. *Gen Mol Biol* 2008;31:29-32.
17. Lorteló GS, Miranda-Vilela AL, Akimoto AK, et al. Association between methylene tetrahydrofolate reductase and glutathione S-transferase M1 gene polymorphisms and chronic myeloid leukemia in a Brazilian population. *Gen Mol Res* 2012;2:1013-26.
18. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988;3:1215.
19. Tregouet DA, Tiret L. Cox proportional hazards survival regression in haplotype-based association analysis using the Stochastic-EM algorithm. *Eur J Hum Genet* 2004;12:971-4.
20. Paluku They-They T, Hamzi K, Mazabaud A, Nadifi S. Fréquence du polymorphisme C677T du gène de la méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR) dans les populations arabe et berbère du Maroc. *Anthropology* 2009;20:11-7.
21. Karaa I, Sazcib A, Ergulb E, Kayaa C, Kilic G. Association of the C677T and A1298C polymorphisms in the 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase gene in patients with migraine risk. *Mol Brain Res* 2003;111:84-90.
22. Almawi WY, Finan RR, Tamim H, Daccache JL, Irani-Hakime N. Differences in the frequency of the C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene among the Lebanese population. *Am J Hematol* 2004;76:85-7.
23. Eloualid A, Abid O, Charif M, et al. Association of the MTHFR A1298C variant with unexplained severe male infertility. *PLoS One* 2012;3:e34111.
24. Guàrdia-Rodríguez RM, Guàrdia JL, Debará R, et al. Prevalence of methylenetetrahydrofolate reductase 677T and 1298C alleles and folate status: a comparative study in Mexican, West African, and European populations. *Am J Clin Nutr* 2006;83:701-7.
25. Yakub M, Moti N, Parveen S, Chaudhry B, Azam I, Iqbal MP. Polymorphisms in MTHFR, MS and CBS genes and homocysteine levels in a Pakistani population. *PLoS One* 2012;3:e33222.
26. Ismail SI, Ababneh NA, Awadi A. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) genotype association with the risk of chronic myelogenous leukemia. *J Med J* 2009;1:8-14.
27. Hussain SR, Naqvi H, Raza ST, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T genetic polymorphisms and risk of leukemia among the North Indian population. *Cancer Epidemiol* 2012;36:227-31.
28. Jakovljevic K, Malisic E, Covic M, Radulovic S, Jankovic R. Association between methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism C677T and risk of chronic myeloid leukemia in Serbian population. *Leuk Lymphom* 2012;7:1327-30.
29. Vahid P, Farnaz R, Zaker F, Farzaneh A, Parisa R. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms and risk of myeloid leukemia. *Lab Med* 2010;8:490-4.
30. Delligizer U, Akisik E, Dalay N. Genotyping of the MTHFR gene polymorphism C677T in patients with leukemia by melting curve analysis. *Mol Diagn* 2004;3:181-5.
31. Duthie SJ. Folate and cancer: how DNA damage, repair and methylation impact on colon carcinogenesis. *J Inher Metab Dis* 2011;34:101-9.

*Références
Bibliographiques*



-A-

- Abu-Duhier, F. M., Goodeve, A. C., Wilson, G. A., Care, R. S., Peake, I. R., and Reilly, J. T. (2001). Identification of novel FLT-3 Asp835 mutations in adult acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol* 113, 983-988.
- Al-Achkar, W., Azeiz, G., Moassass, F., and Wafa, A. (2014). Influence of CYP1A1, GST polymorphisms and susceptibility risk of chronic myeloid leukemia in Syrian population. *Med Oncol* 31, 889.
- Allabi, A. C., Horsmans, Y., Issaoui, B., and Gala, J. L. (2005). Single nucleotide polymorphisms of ABCB1 (MDR1) gene and distinct haplotype profile in a West Black African population. *Eur J Clin Pharmacol* 61, 97-102.
- Almawi, W. Y., Finan, R. R., Tamim, H., Daccache, J. L., and Irani-Hakime, N. (2004). Differences in the frequency of the 677C>T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene among the Lebanese population. *Am J Hematol* 76, 85-87.
- Aly, R. M., Taalab, M. M., and Ghazy, H. F. (2014). MTHFR 1298A>C and 677C>T gene polymorphisms and susceptibility to chronic myeloid leukemia in Egypt. *International journal of clinical and experimental pathology* 7, 2571-2578.
- Alzoubi, K. H., Khabour, O. F., Al-Azzam, S. I., and Mayyas, F. (2013). The role of multidrug resistance-1 (MDR1) variants in response to fexofenadine among Jordanians. *Int J Clin Pharmacol Ther* 51, 880-887.
- Ambudkar, S. V., Kim, I. W., and Sauna, Z. E. (2006). The power of the pump: mechanisms of action of P-glycoprotein (ABCB1). *Eur J Pharm Sci* 27, 392-400.
- Ameyaw, M. M., Regateiro, F., Li, T., Liu, X., Tariq, M., Mobarek, A., Thornton, N., Folayan, G. O., Githang'a, J., Indalo, A., *et al.* (2001). MDR1 pharmacogenetics: frequency of the 3435C>T mutation in exon 26 is significantly influenced by ethnicity. *Pharmacogenetics* 11, 217-221.
- Amirzargar, A. A., Bagheri, M., Ghavamzadeh, A., Alimoghdam, K., Khosravi, F., Rezaei, N., Moheydin, M., Ansaripour, B., Moradi, B., and Nikbin, B. (2005). Cytokine gene polymorphism in Iranian patients with chronic myelogenous leukaemia. *International journal of immunogenetics* 32, 167-171.
- Annamaneni, S., Gorre, M., Kagita, S., Addepalli, K., Digumarti, R. R., Satti, V., and Battini, M. R. (2013). Association of XRCC1 gene polymorphisms with chronic myeloid leukemia in the population of Andhra Pradesh, India. *Hematology* 18, 163-168.
- Annese, V., Valvano, M. R., Palmieri, O., Latiano, A., Bossa, F., and Andriulli, A. (2006). Multidrug resistance 1 gene in inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *World J Gastroenterol* 12, 3636-3644.
- Arinami, T., Yamada, N., Yamakawa-Kobayashi, K., Hamaguchi, H., and Toru, M. (1997). Methylenetetrahydrofolate reductase variant and schizophrenia/depression. *Am J Med Genet* 74, 526-528.
- Au, W. W., Salama, S. A., and Sierra-Torres, C. H. (2003). Functional characterization of polymorphisms in DNA repair genes using cytogenetic challenge assays. *Environmental health perspectives* 111, 1843-1850.

**-B-**

- Bagley, P. J., and Selhub, J. (1998). A common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is associated with an accumulation of formylated tetrahydrofolates in red blood cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95, 13217-13220.
- Balram, C., Sharma, A., Sivathasan, C., and Lee, E. J. (2003). Frequency of 3435C>T single nucleotide MDR1 genetic polymorphism in an Asian population: phenotypic-genotypic correlates. *Br J Clin Pharmacol* 56, 78-83.
- Banescu, C., Trifa, A. P., Demian, S., Benedek Lazar, E., Dima, D., Duicu, C., and Dobreanu, M. (2014). Polymorphism of XRCC1, XRCC3, and XPD genes and risk of chronic myeloid leukemia. *Biomed Res Int* 213790, 15.
- Barbosa, C. G., Souza, C. L., Moura Neto, J. P. d., Arruda, M. d. G. B., Barreto, J. H., Reis, M. G., and Goncalves, M. S. (2008). Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms in myeloid leukemia patients from Northeastern Brazil. *Genetics and Molecular Biology* 31, 29-32.
- Barragan, E., Montesinos, P., Camos, M., Gonzalez, M., Calasanz, M. J., Roman-Gomez, J., Gomez-Casares, M. T., Ayala, R., Lopez, J., Fuster, O., *et al.*(2011). Prognostic value of FLT3 mutations in patients with acute promyelocytic leukemia treated with all-trans retinoic acid and anthracycline monochemotherapy. *Haematologica* 96, 1470-1477.
- Bayle, Julie, Dubreuil, and Patrice (2004). La famille des récepteurs hématopoïétiques à activité tyrosine kinase, Vol 10, (Montrouge, FRANCE: John Libbey Eurotext).
- Benakli, M. Approche épidémiologique des leucémies aiguës myéloïdes en Algérie. 2009. *Revue Algérienne d'hématologie* 01, 22-55.
- Bennett, J. M., Catovsky, D., Daniel, M. T., Flandrin, G., Galton, D. A., Gralnick, H. R., and Sultan, C. (1976). Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. *Br J Haematol* 33, 451-458.
- Bergamaschi, G., Merante, S., Orlandi, E., Galli, A., Bernasconi, P., and Cazzola, M. (2004). TP53 codon 72 polymorphism in patients with chronic myeloid leukemia. *Haematologica* 89, 868-869.
- Bernal, M. L., Sinues, B., Fanlo, A., and Mayayo, E. (2003). Frequency distribution of 3435C>T mutation in exon 26 of the MDR1 gene in a Spanish population. *Ther Drug Monit* 25, 107-111.
- Bhat, G., Bhat, A., Wani, A., Sadiq, N., Jeelani, S., Kaur, R., Masood, A., and Ganai, B. (2012). Polymorphic variation in glutathione-S-transferase genes and risk of chronic myeloid leukaemia in the Kashmiri population. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP* 13, 69-73.
- Biernaux, C., Loos, M., Sels, A., Huez, G., and Stryckmans, P. (1995). Detection of major bcr-abl gene expression at a very low level in blood cells of some healthy individuals. *Blood* 86, 3118-3122.
- Blount, B. C., Mack, M. M., Wehr, C. M., MacGregor, J. T., Hiatt, R. A., Wang, G., Wickramasinghe, S. N., Everson, R. B., and Ames, B. N. (1997). Folate deficiency causes



uracil misincorporation into human DNA and chromosome breakage: implications for cancer and neuronal damage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94, 3290-3295.

- Bodor, M., Kelly, E. J., and Ho, R. J. (2005). Characterization of the human MDR1 gene. *Aaps J* 7, E1-5.

- Boissel, N., Cayuela, J. M., Preudhomme, C., Thomas, X., Grardel, N., Fund, X., Tigaud, I., Raffoux, E., Rousselot, P., Sigaux, F., *et al.* (2002). Prognostic significance of FLT3 internal tandem repeat in patients with de novo acute myeloid leukemia treated with reinforced courses of chemotherapy. *Leukemia* 16, 1699-1704.

- Bose, S., Deininger, M., Gora-Tybor, J., Goldman, J. M., and Melo, J. V. (1998). The presence of typical and atypical BCR-ABL fusion genes in leukocytes of normal individuals: biologic significance and implications for the assessment of minimal residual disease. *Blood* 92, 3362-3367.

- Bostom, A. G., and Culleton, B. F. (1999). Hyperhomocysteinemia in chronic renal disease. *J Am Soc Nephrol* 10, 891-900.

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

- Brennan, P. (2002). Gene-environment interaction and aetiology of cancer: what does it mean and how can we measure it? *Carcinogenesis* 23, 381-387.

- Burke, V. P., and Startzell, J. M. (2008). The leukemias. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am* 20, 597-608.

- C -

- Calabretta, B., and Perrotti, D. (2004). The biology of CML blast crisis. *Blood* 103, 4010-4022.

- Calado, R. T., Falcao, R. P., Garcia, A. B., Gabellini, S. M., Zago, M. A., and Franco, R. F. (2002). Influence of functional MDR1 gene polymorphisms on P-glycoprotein activity in CD34+ hematopoietic stem cells. *Haematologica* 87, 564-568.

- Caldecott, K. W. (2007). Mammalian single-strand break repair: mechanisms and links with chromatin. *DNA Repair (Amst)* 6, 443-453.

- Caldecott, K. W., McKeown, C. K., Tucker, J. D., Ljungquist, S., and Thompson, L. H. (1994). An interaction between the mammalian DNA repair protein XRCC1 and DNA ligase III. *Mol Cell Biol* 14, 68-76.

- Cascorbi, I. (2006). Role of pharmacogenetics of ATP-binding cassette transporters in the pharmacokinetics of drugs. *Pharmacol Ther* 112, 457-473.

- Cascorbi, I., Gerloff, T., Johne, A., Meisel, C., Hoffmeyer, S., Schwab, M., Schaeffeler, E., Eichelbaum, M., Brinkmann, U., and Roots, I. (2001). Frequency of single nucleotide polymorphisms in the P-glycoprotein drug transporter MDR1 gene in white subjects. *Clin Pharmacol Ther* 69, 169-174.



- Cavazzana-Calvo, M., Lagresle, C., Andre-Schmutz, I., and Hacein-Bey-Abina, S. (2004). [The bone marrow: a reserve of stem cells able to repair various tissues?]. *Annales de biologie clinique* 62, 131-138.
- Chen, J., Giovannucci, E., Kelsey, K., Rimm, E. B., Stampfer, M. J., Colditz, G. A., Spiegelman, D., Willett, W. C., and Hunter, D. J. (1996). A methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism and the risk of colorectal cancer. *Cancer Res* 56, 4862-4864.
- Chillon, M. C., Santamaria, C., Garcia-Sanz, R., Balanzategui, A., Sarasquete, M. E., Alcoceba, M., Marin, L., Caballero, M. D., Vidriales, M. B., Ramos, F., *et al.*(2010). Long FLT3 internal tandem duplications and reduced PML-RARalpha expression at diagnosis characterize a high-risk subgroup of acute promyelocytic leukemia patients. *Haematologica* 95, 745-751.
- Chinn, L. W., and Kroetz, D. L. (2007). ABCB1 pharmacogenetics: progress, pitfalls, and promise. *Clin Pharmacol Ther* 81, 265-269.
- Czeizel, A. E., and Dudas, I. (1992). Prevention of the first occurrence of neural-tube defects by periconceptional vitamin supplementation. *The New England journal of medicine* 327, 1832-1835.

-D-

- D'Andrea, A. D. (2010). Targeting DNA repair pathways in AML. *Best Practice & Research Clinical Haematology* 23, 469-473.
- D'Angelo, A., Coppola, A., Madonna, P., Fermo, I., Pagano, A., Mazzola, G., Galli, L., and Cerbone, A. M. (2000). The role of vitamin B12 in fasting hyperhomocysteinemia and its interaction with the homozygous 677C>T mutation of the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene. A case-control study of patients with early-onset thrombotic events. *Thromb Haemost* 83, 563-570.
- Dean, J. C., Moore, S. J., Osborne, A., Howe, J., and Turnpenny, P. D. (1999). Fetal anticonvulsant syndrome and mutation in the maternal MTHFR gene. *Clin Genet* 56, 216-220.
- Dehbi, H., Kassogue, Y., Nasserddine, S., Quessar, A., and Nadifi, S. (2013). FLT3-ITD Incidence and FLT-D835 Mutations in Acute Myeloid Leukemia Patients with Normal Karyotype in Morocco: A Preliminary Study, Vol 4).
- Deininger, M. W., Goldman, J. M., and Melo, J. V. (2000). The molecular biology of chronic myeloid leukemia. *Blood* 96, 3343-3356.
- Deligezer, U., Akisik, E., and Dalay, N. (2003). Genotyping of the MTHFR gene polymorphism, 677C>T in patients with leukemia by melting curve analysis. *Mol Diagn* 7, 181-185.
- Deligezer, U., Akisik, E. E., and Dalay, N. (2007). Lack of association of XRCC1 codon 399Gln polymorphism with chronic myelogenous leukemia. *Anticancer Res* 27, 2453-2456.
- Deltour, S., Chopin, V., and Leprince, D. (2005). [Epigenetics and cancer]. *Med Sci* 21, 405-411.
- Deschler, B., and Lubbert, M. (2006). Acute myeloid leukemia: epidemiology and etiology. *Cancer* 107, 2099-2107.



- Dey, S. (2006). Single nucleotide polymorphisms in human P-glycoprotein: its impact on drug delivery and disposition. *Expert Opin Drug Deliv* 3, 23-35.
- Dick, J. E. (2008). Stem cell concepts renew cancer research. *Blood* 112, 4793-4807.
- Dicker, F., Haferlach, C., Sundermann, J., Wendland, N., Weiss, T., Kern, W., Haferlach, T., and Schnittger, S. (2010). Mutation analysis for RUNX1, MLL-PTD, FLT3-ITD, NPM1 and NRAS in 269 patients with MDS or secondary AML. *Leukemia* 24, 1528-1532.
- Dingli, D., Traulsen, A., and Pacheco, J. M. (2007). Compartmental architecture and dynamics of hematopoiesis. *PLoS one* 2, e345.
- Dorgham, S., Aberkane, M., Boughrara, W., Antar Soltan, B., Mehalhal, N., Touhami, T., Sidimansour, N., Merad Boudia, N., Louhibi, L., and Boudjema, B. Association des polymorphismes du gène méthylène-tétrahydrofolate réductase avec la leucémie myéloïde chronique. (2014). *Bulletin du Cancer* 101, 803-807.
- Dohner, H., Estey, E. H., Amadori, S., Appelbaum, F. R., Buchner, T., Burnett, A. K., Dombret, H., Fenaux, P., Grimwade, D., Larson, R. A., *et al.*(2010). Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood* 115, 453-474.
- Döhner, K., and Döhner, H. (2008). Molecular characterization of acute myeloid leukemia. *Haematologica* 93, 976-982.
- Dong, S., Liu, Y., and Chen, J. (2014). MTHFR gene polymorphism and risk of myeloid leukemia: a meta-analysis. *Tumour Biol* 35, 8913-8919.
- Drozdziak, M., Bialecka, M., Mysliwiec, K., Honczarenko, K., Stankiewicz, J., and Sych, Z. (2003). Polymorphism in the P-glycoprotein drug transporter MDR1 gene: a possible link between environmental and genetic factors in Parkinson's disease. *Pharmacogenetics* 13, 259-263.
- Du, J., Lu, C., Cui, G., Chen, Y., and He, J. (2013). DNA repair gene XRCC1 polymorphisms and susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia: a meta-analysis. *Chin J Cancer Res* 25, 405-415.
- Duman, N., Aktan, M., Ozturk, S., Palanduz, S., Cakiris, A., Ustek, D., Ozbek, U., Nalcaci, M., and Cefle, K. (2012). Investigation of Arg399Gln and Arg194Trp polymorphisms of the XRCC1 (x-ray cross-complementing group 1) gene and its correlation to sister chromatid exchange frequency in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Genet Test Mol Biomarkers* 16, 287-291.
- Duthie, S. J. (2011). Folate and cancer: how DNA damage, repair and methylation impact on colon carcinogenesis. *J Inherit Metab Dis* 34, 101-109.
- E-**
- Ebstein, W. (1889). Über die acute Leukämie und Pseudoleukämie: Verlag von J.F. Bergmann).
- El-Din, #160, Salah, M., Raslan, Hanan, Abdel-Hamid, Samah, Makhlof, and Manal (2012). Detection of XRCC1 gene polymorphisms in Egyptian patients with acute myeloid leukemia, Vol 21, (Heidelberg, ALLEMAGNE: Springer).



- Eloualid, A., Abidi, O., Charif, M., El Houate, B., Benrahma, H., Louanjli, N., Chadli, E., Ajjemami, M., Barakat, A., Bashamboo, A., *et al.* (2012). Association of the MTHFR 1298A>C variant with unexplained severe male infertility. *PloS one* 7, 23.

- Emami, A. H., Shekarriz, R., Meysamie, A., Sharifian, R., Safaei, R., Toogheh, G., Keihani, M., and Shekarriz, R. (2009). *fms* Like Tyrosine kinase3- Internal Tandem Duplication (FLT3-ITD) in Acute Myeloid Leukemia, Mutation Frequency and its Relation with Complete Remission, 2007- 2008. *International Journal of Hematology-Oncology and Stem Cell Research* 3, 14-20.

- Esteller, M., Garcia, A., Martinez-Palones, J. M., Xercavins, J., and Reventos, J. (1997). Germ line polymorphisms in cytochrome-P450 1A1 (C4887 CYP1A1) and methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) genes and endometrial cancer susceptibility. *Carcinogenesis* 18, 2307-2311.

-F-

- Faderl, S., Talpaz, M., Estrov, Z., O'Brien, S., Kurzrock, R., and Kantarjian, H. M. (1999). The biology of chronic myeloid leukemia. *The New England journal of medicine* 341, 164-172.

- Fard-Esfahani, P., Fard-Esfahani, A., Fayaz, S., Ghanbarzadeh, B., Saidi, P., Mohabati, R., Bidoki, S. K., and Majdi, M. (2011). Association of Arg194Trp, Arg280His and Arg399Gln polymorphisms in X-ray repair cross-complementing group 1 gene and risk of differentiated thyroid carcinoma in Iran. *Iran Biomed J* 15, 73-78.

- Fialkow, P. J., Jacobson, R. J., and Papayannopoulou, T. (1977). Chronic myelocytic leukemia: clonal origin in a stem cell common to the granulocyte, erythrocyte, platelet and monocyte/macrophage. *The American journal of medicine* 63, 125-130.

- Flott-Rahmel, B., Schurmann, M., Schluff, P., Fingerhut, R., Musshoff, U., Fowler, B., and Ullrich, K. (1998). Homocysteic and homocysteine sulphinic acid exhibit excitotoxicity in organotypic cultures from rat brain. *Eur J Pediatr* 157, S112-117.

- Fodinger, M., Mannhalter, C., Wolfl, G., Pabinger, I., Muller, E., Schmid, R., Horl, W. H., and Sunder-Plassmann, G. (1997). Mutation (677 C to T) in the methylenetetrahydrofolate reductase gene aggravates hyperhomocysteinemia in hemodialysis patients. *Kidney Int* 52, 517-523.

- Frelet, A., and Klein, M. (2006). Insight in eukaryotic ABC transporter function by mutation analysis. *FEBS Lett* 580, 1064-1084.

- Frosst, P., Blom, H. J., Milos, R., Goyette, P., Sheppard, C. A., Matthews, R. G., Boers, G. J., den Heijer, M., Kluijtmans, L. A., van den Heuvel, L. P., and *et al.* (1995). A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase: *Nat Genet* 10, 111-113.

- Furuno, T., Landi, M. T., Ceroni, M., Caporaso, N., Bernucci, I., Nappi, G., Martignoni, E., Schaeffeler, E., Eichelbaum, M., Schwab, M., and Zanger, U. M. (2002). Expression polymorphism of the blood-brain barrier component P-glycoprotein (MDR1) in relation to Parkinson's disease. *Pharmacogenetics* 12, 529-534.



-G-

- Gagyí, E., Horváth, E., Bodor, C., Timar, B., Matolcsy, A., and Pavaí, Z. (2006). Prognostic significance and detection of the internal tandem duplication of the FLT3 gene in acute myeloid leukemia. *Rom J Morphol Embryol* 47, 331-337.
- Ganster, C., Neesen, J., Zehetmayer, S., Jager, U., Esterbauer, H., Mannhalter, C., Kluge, B., and Fonatsch, C. (2009). DNA repair polymorphisms associated with cytogenetic subgroups in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Genes Chromosomes Cancer* 48, 760-767.
- Gardemann, A., Weidemann, H., Philipp, M., Katz, N., Tillmanns, H., Hehrlein, F. W., and Haberbosch, W. (1999). The TT genotype of the methylenetetrahydrofolate reductase 677C>T gene polymorphism is associated with the extent of coronary atherosclerosis in patients at high risk for coronary artery disease. *Eur Heart J* 20, 584-592.
- Gershoni-Baruch, R., Dagan, E., Israeli, D., Kasinets, L., Kadouri, E., and Friedman, E. (2000). Association of the 677C>T polymorphism in the MTHFR gene with breast and/or ovarian cancer risk in Jewish women. *Eur J Cancer* 36, 2313-2316.
- Gilliland, D. G., and Tallman, M. S. (2002). Focus on acute leukemias. *Cancer Cell* 1, 417-420.
- Goode, E. L., Ulrich, C. M., and Potter, J. D. (2002). Polymorphisms in DNA repair genes and associations with cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 11, 1513-1530.
- Goyette, P., Pai, A., Milos, R., Frosst, P., Tran, P., Chen, Z., Chan, M., and Rozen, R. (1998). Gene structure of human and mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). *Mammalian genome : official journal of the International Mammalian Genome Society* 9, 652-656.
- Goyette, P., Sumner, J. S., Milos, R., Duncan, A. M., Rosenblatt, D. S., Matthews, R. G., and Rozen, R. (1994). Human methylenetetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA, mapping and mutation identification. *Nat Genet* 7, 195-200.
- Griffith, J., Black, J., Faerman, C., Swenson, L., Wynn, M., Lu, F., Lippke, J., and Saxena, K. (2004). The structural basis for autoinhibition of FLT3 by the juxtamembrane domain. *Mol Cell* 13, 169-178.
- Gueant-Rodriguez, R. M., Gueant, J. L., Debard, R., Thirion, S., Hong, L. X., Bronowicki, J. P., Namour, F., Chabi, N. W., Sanni, A., Anello, G., *et al.* (2006). Prevalence of methylenetetrahydrofolate reductase 677T and 1298C alleles and folate status: a comparative study in Mexican, West African, and European populations. *Am J Clin Nutr* 83, 701-707.
- Guenther, B. D., Sheppard, C. A., Tran, P., Rozen, R., Matthews, R. G., and Ludwig, M. L. (1999). The structure and properties of methylenetetrahydrofolate reductase from *Escherichia coli* suggest how folate ameliorates human hyperhomocysteinemia. *Nat Struct Biol* 6, 359-365.
- Gueven, N., Becherel, O. J., Kijas, A. W., Chen, P., Howe, O., Rudolph, J. H., Gatti, R., Date, H., Onodera, O., Taucher-Scholz, G., and Lavin, M. F. (2004). Aprataxin, a novel protein that protects against genotoxic stress. *Hum Mol Genet* 13, 1081-1093.

**-H-**

- Hanahan, D., and Weinberg, R. A. (2000). The hallmarks of cancer. *Cell* 100, 57-70.
- Hannum, C., Culpepper, J., Campbell, D., McClanahan, T., Zurawski, S., Bazan, J. F., Kastelein, R., Hudak, S., Wagner, J., Mattson, J., and et al. (1994). Ligand for FLT3/FLK2 receptor tyrosine kinase regulates growth of haematopoietic stem cells and is encoded by variant RNAs. *Nature* 368, 643-648.
- Hanssen-Bauer, A., Solvang-Garten, K., Akbari, M., and Otterlei, M. (2012). X-ray repair cross complementing protein 1 in base excision repair. *Int J Mol Sci* 13, 17210-17229.
- Harmon, D. L., Woodside, J. V., Yarnell, J. W., McMaster, D., Young, I. S., McCrum, E. E., Gey, K. F., Whitehead, A. S., and Evans, A. E. (1996). The common 'thermolabile' variant of methylene tetrahydrofolate reductase is a major determinant of mild hyperhomocysteinaemia. *Qjm* 89, 571-577.
- Haslam, S. (2005). Dasatinib: the emerging evidence of its potential in the treatment of chronic myeloid leukemia. *Core Evid* 1, 1-12.
- He, H., He, G., Wang, T., Cai, J., Wang, Y., Zheng, X., Dong, Y., and Lu, J. (2014). Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms contribute to acute myeloid leukemia and chronic myeloid leukemia susceptibilities: Evidence from meta-analyses. *Cancer Epidemiol* 38, 471-478.
- Hehlmann, R., Hochhaus, A., and Baccarani, M. (2007). Chronic myeloid leukaemia. *Lancet* 370, 342-350.
- Heidel, F., Solem, F. K., Breitenbuecher, F., Lipka, D. B., Kasper, S., Thiede, M. H., Brandts, C., Serve, H., Roesel, J., Giles, F., et al. (2006). Clinical resistance to the kinase inhibitor PKC412 in acute myeloid leukemia by mutation of Asn-676 in the FLT3 tyrosine kinase domain. *Blood* 107, 293-300.
- Hennessy, M., and Spiers, J. P. (2007). A primer on the mechanics of P-glycoprotein the multidrug transporter. *Pharmacol Res* 55, 1-15.
- Hishida, A., Terakura, S., Emi, N., Yamamoto, K., Murata, M., Nishio, K., Sekido, Y., Niwa, T., Hamajima, N., and Naoe, T. (2005). GSTT1 and GSTM1 deletions, NQO1 C609T polymorphism and risk of chronic myelogenous leukemia in Japanese. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP* 6, 251-255.
- Hitzl, M., Drescher, S., van der Kuip, H., Schaffeler, E., Fischer, J., Schwab, M., Eichelbaum, M., and Fromm, M. F. (2001). The 3435C>T mutation in the human MDR1 gene is associated with altered efflux of the P-glycoprotein substrate rhodamine 123 from CD56+ natural killer cells. *Pharmacogenetics* 11, 293-298.
- Hobbs, C. A., Sherman, S. L., Yi, P., Hopkins, S. E., Torfs, C. P., Hine, R. J., Pogribna, M., Rozen, R., and James, S. J. (2000). Polymorphisms in genes involved in folate metabolism as maternal risk factors for Down syndrome. *Am J Hum Genet* 67, 623-630.
- Hoffmeyer, S., Burk, O., von Richter, O., Arnold, H. P., Brockmoller, J., Johne, A., Cascorbi, I., Gerloff, T., Roots, I., Eichelbaum, M., and Brinkmann, U. (2000). Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and



correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97, 3473-3478.

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

- Horinouchi, M., Sakaeda, T., Nakamura, T., Morita, Y., Tamura, T., Aoyama, N., Kasuga, M., and Okumura, K. (2002). Significant genetic linkage of MDR1 polymorphisms at positions 3435 and 2677: functional relevance to pharmacokinetics of digoxin. *Pharm Res* 19, 1581-1585.

- Hu, X. B., Feng, Z., Fan, Y. C., Xiong, Z. Y., and Huang, Q. W. (2011). Polymorphisms in DNA repair gene XRCC1 and increased genetic susceptibility to glioma. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP* 12, 2981-2984.

- Hu, Z., Ma, H., Chen, F., Wei, Q., and Shen, H. (2005a). XRCC1 Polymorphisms and Cancer Risk: A Meta-analysis of 38 Case-Control Studies. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* 14, 1810-1818.

- Hu, Z., Ma, H., Chen, F., Wei, Q., and Shen, H. (2005b). XRCC1 polymorphisms and cancer risk: a meta-analysis of 38 case-control studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 14, 1810-1818.

- Hung, R. J., Brennan, P., Canzian, F., Szeszenia-Dabrowska, N., Zaridze, D., Lissowska, J., Rudnai, P., Fabianova, E., Mates, D., Foretova, L., *et al.* (2005a). Large-scale investigation of base excision repair genetic polymorphisms and lung cancer risk in a multicenter study. *J Natl Cancer Inst* 97, 567-576.

- Hung, R. J., Hall, J., Brennan, P., and Boffetta, P. (2005b). Genetic polymorphisms in the base excision repair pathway and cancer risk: a HuGE review. *Am J Epidemiol* 162, 925-942.

- Hur, M., Park, J. Y., Cho, H. C., Lee, K. M., Shin, H. Y., and Cho, H. I. (2006). Methylenetetrahydrofolate reductase 1298A>C genotypes are associated with the risks of acute lymphoblastic leukaemia and chronic myelogenous leukaemia in the Korean population. *Clin Lab Haematol* 28, 154-159.

- Hussain, S. R., Naqvi, H., Raza, S. T., Ahmed, F., Babu, S. G., Kumar, A., Zaidi, Z. H., and Mahdi, F. (2012). Methylenetetrahydrofolate reductase 677C>T genetic polymorphisms and risk of leukaemia among the North Indian population. *Cancer Epidemiol* 36, 20.

- Hustad, S., Ueland, P. M., Vollset, S. E., Zhang, Y., Bjorke-Monsen, A. L., and Schneede, J. (2000). Riboflavin as a determinant of plasma total homocysteine: effect modification by the methylenetetrahydrofolate reductase 677C>T polymorphism. *Clin Chem* 46, 1065-1071.

-I-

- Irons, R. D., and Stillman, W. S. (1996). The process of leukemogenesis. *Environmental health perspectives* 104 Suppl 6, 1239-1246.

- Ismail, S.I., Ababneh, N.A., and Awidi, A. Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) genotype association with the risk of chronic myelogenous leukemia. (2009). *Medical journal of Jordan* 43, 7-8.



- Iwasaki, H., and Suda, T. (2009). Cancer stem cells and their niche. *Cancer science* 100, 1166-1172.

-J-

- Jacques, P. F., Bostom, A. G., Williams, R. R., Ellison, R. C., Eckfeldt, J. H., Rosenberg, I. H., Selhub, J., and Rozen, R. (1996). Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase, and plasma homocysteine concentrations. *Circulation* 93, 7-9.

- Jain, P. P., Parihar, M., Ahmed, R., Abraham, A., Vishwabandya, A., George, B., Mathews, V., Srivastava, A., and Srivastava, V. M. (2012). Fluorescence in situ hybridization patterns of BCR/ABL1 fusion in chronic myelogenous leukemia at diagnosis. *Indian journal of pathology & microbiology* 55, 347-351.

- Jakovljevic, K., Malisic, E., Cavic, M., Radulovic, S., and Jankovic, R. (2012). Association between methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism 677C>T and risk of chronic myeloid leukemia in Serbian population. *Leuk Lymphoma* 53, 1327-1330.

- James, S. J., Pogribna, M., Pogribny, I. P., Melnyk, S., Hine, R. J., Gibson, J. B., Yi, P., Tafoya, D. L., Swenson, D. H., Wilson, V. L., and Gaylor, D. W. (1999). Abnormal folate metabolism and mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene may be maternal risk factors for Down syndrome. *Am J Clin Nutr* 70, 495-501.

- Jamroziak, K., Mlynarski, W., Balcerzak, E., Mistygacz, M., Trelinska, J., Mirowski, M., Bodalski, J., and Robak, T. (2004). Functional 3435C>T polymorphism of MDR1 gene: an impact on genetic susceptibility and clinical outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Eur J Haematol* 72, 314-321.

- Jemal, A., Siegel, R., Ward, E., Murray, T., Xu, J., Smigal, C., and Thun, M. J. (2006). Cancer statistics, 2006. *CA Cancer J Clin* 56, 106-130.

- Jiang, J., Liang, X., Zhou, X., Huang, R., Chu, Z., Zhan, Q., and Lin, H. (2010). DNA repair gene X-ray repair cross complementing group 1 Arg194Trp polymorphism on the risk of lung cancer: a meta-analysis on 22 studies. *J Thorac Oncol* 5, 1741-1747.

- Johansson, B., Fioretos, T., and Mitelman, F. (2002). Cytogenetic and molecular genetic evolution of chronic myeloid leukemia. *Acta haematologica* 107, 76-94.

- Joseph, T., Kusumakumary, P., Chacko, P., Abraham, A., and Pillai, M. R. (2005). DNA repair gene XRCC1 polymorphisms in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Lett* 217, 17-24.

- Juliano, R. L., and Ling, V. (1976). A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants. *Biochim Biophys Acta* 455, 152-162.

-K-

- Kafka, A., Sauer, G., Jaeger, C., Grundmann, R., Kreienberg, R., Zeillinger, R., and Deissler, H. (2003). Polymorphism 3435C>T of the MDR-1 gene predicts response to preoperative chemotherapy in locally advanced breast cancer. *Int J Oncol* 22, 1117-1121.

- Kantarjian, H., Giles, F., Wunderle, L., Bhalla, K., O'Brien, S., Wassmann, B., Tanaka, C., Manley, P., Rae, P., Mietlowski, W., Bochinski, K., Hochhaus, A., Griffin, J. D., Hoelzer, D.,



- Albitar, M., Dugan, M., Cortes, J., Alland, L., Ottmann, O. G. (2006). Nilotinib in imatinib-resistant CML and Philadelphia chromosome-positive ALL. *N Engl J Med* 354, 2542-2551.
- Kara, I., Sazci, A., Ergul, E., Kaya, G., and Kilic, G. (2003). Association of the 677C>T and 1298A>C polymorphisms in the 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase gene in patients with migraine risk. *Brain Res Mol Brain Res* 111, 84-90.
- Kato, M., Fukuda, T., Serretti, A., Wakeno, M., Okugawa, G., Ikenaga, Y., Hosoi, Y., Takekita, Y., Mandelli, L., Azuma, J., and Kinoshita, T. (2008). ABCB1 (MDR1) gene polymorphisms are associated with the clinical response to paroxetine in patients with major depressive disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 32, 398-404.
- Khorshied, M. M., Shaheen, I. A., Abu Khalil, R. E., and Sheir, R. E. (2014). Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene polymorphisms in chronic myeloid leukemia: an Egyptian study. *Med Oncol* 31, 794.
- Kim, D. H., Xu, W., Ma, C., Liu, X., Siminovitch, K., Messner, H. A., and Lipton, J. H. (2009). Genetic variants in the candidate genes of the apoptosis pathway and susceptibility to chronic myeloid leukemia. *Blood* 113, 2517-2525.
- Kim, Y. I. (2000). Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms, folate, and cancer risk: a paradigm of gene-nutrient interactions in carcinogenesis. *Nutr Rev* 58, 205-209.
- Kimchi-Sarfaty, C., Oh, J. M., Kim, I. W., Sauna, Z. E., Calcagno, A. M., Ambudkar, S. V., and Gottesman, M. M. (2007). A "silent" polymorphism in the MDR1 gene changes substrate specificity. *Science* 315, 525-528.
- Kiyoi, H., Naoe, T., Nakano, Y., Yokota, S., Minami, S., Miyawaki, S., Asou, N., Kuriyama, K., Jinnai, I., Shimazaki, C., *et al.* (1999). Prognostic implication of FLT3 and N-RAS gene mutations in acute myeloid leukemia. *Blood* 93, 3074-3080.
- Kluijtmans, L. A., van den Heuvel, L. P., Boers, G. H., Frosst, P., Stevens, E. M., van Oost, B. A., den Heijer, M., Trijbels, F. J., Rozen, R., and Blom, H. J. (1996). Molecular genetic analysis in mild hyperhomocysteinemia: a common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is a genetic risk factor for cardiovascular disease. *Am J Hum Genet* 58, 35-41.
- Knapper, S. (2007). FLT3 inhibition in acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol* 138, 687-699.
- Koptyra, M., Falinski, R., Nowicki, M. O., Stoklosa, T., Majsterek, I., Nieborowska-Skorska, M., Blasiak, J., and Skorski, T. (2006). BCR/ABL kinase induces self-mutagenesis via reactive oxygen species to encode imatinib resistance. *Blood* 108, 319-327.
- Kowa, H., Yasui, K., Takeshima, T., Urakami, K., Sakai, F., and Nakashima, K. (2000). The homozygous 677C>T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is a genetic risk factor for migraine. *Am J Med Genet* 96, 762-764.
- Kubota, Y., and Horiuchi, S. (2003). Independent roles of XRCC1's two BRCT motifs in recovery from methylation damage. *DNA Repair* 2, 407-415.
- Kubota, Y., Nash, R. A., Klungland, A., Schar, P., Barnes, D. E., and Lindahl, T. (1996). Reconstitution of DNA base excision-repair with purified human proteins: interaction between DNA polymerase beta and the XRCC1 protein. *Embo J* 15, 6662-6670.



- Kuptsova, N., Kopecky, K. J., Godwin, J., Anderson, J., Hoque, A., Willman, C. L., Slovak, M. L., and Ambrosone, C. B. (2007). Polymorphisms in DNA repair genes and therapeutic outcomes of AML patients from SWOG clinical trials. *Blood* 109, 3936-3944.

-L-

- Laantri, N., Jalbout, M., Khyatti, M., Ayoub, W. B., Dahmoul, S., Ayad, M., Bedadra, W., Abdoun, M., Mesli, S., Kandil, M., *et al.* (2011). XRCC1 and hOGG1 genes and risk of nasopharyngeal carcinoma in North African countries. *Mol Carcinog* 50, 732-737.

- Ladiges, W., Wiley, J., and MacAuley, A. (2003). Polymorphisms in the DNA repair gene XRCC1 and age-related disease. *Mech Ageing Dev* 124, 27-32.

- Ladiges, W. C. (2006). Mouse models of XRCC1 DNA repair polymorphisms and cancer. *Oncogene* 25, 1612-1619.

- Lamerdin, J. E., Montgomery, M. A., Stilwagen, S. A., Scheidecker, L. K., Tebbs, R. S., Brookman, K. W., Thompson, L. H., and Carrano, A. V. (1995). Genomic sequence comparison of the human and mouse XRCC1 DNA repair gene regions. *Genomics* 25, 547-554.

- Lan, L., Nakajima, S., Oohata, Y., Takao, M., Okano, S., Masutani, M., Wilson, S. H., and Yasui, A. (2004). In situ analysis of repair processes for oxidative DNA damage in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101, 13738-13743.

- Laneuville, P. (1995). Abl tyrosine protein kinase. *Seminars in immunology* 7, 255-266.

- Lee, G., and Bendayan, R. (2004). Functional expression and localization of P-glycoprotein in the central nervous system: relevance to the pathogenesis and treatment of neurological disorders. *Pharm Res* 21, 1313-1330.

- Lee, J. M., Lee, Y. C., Yang, S. Y., Yang, P. W., Luh, S. P., Lee, C. J., Chen, C. J., and Wu, M. T. (2001). Genetic polymorphisms of XRCC1 and risk of the esophageal cancer. *Int J Cancer* 95, 240-246.

- Leschziner, G. D., Andrew, T., Pirmohamed, M., and Johnson, M. R. (2007). ABCB1 genotype and PGP expression, function and therapeutic drug response: a critical review and recommendations for future research. *Pharmacogenomics J* 7, 154-179.

- Levis, M. (2013). FLT3 mutations in acute myeloid leukemia: what is the best approach in 2013? *Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology American Society of Hematology Education Program*, 220.

- Levis, M., and Small, D. (2003). FLT3: ITDoes matter in leukemia. *Leukemia* 17, 1738-1752.

- Levis, M., and Small, D. (2005). FLT3 tyrosine kinase inhibitors. *International journal of hematology* 82, 100-107.

- Li, B., Zhang, J., Wang, L., Li, Y., Jin, J., Ai, L., Li, C., Li, Z., and Mao, S. (2014). MTHFR genetic polymorphisms may contribute to the risk of chronic myelogenous leukemia in adults: a meta-analysis of 12 genetic association studies. *Tumour Biol* 35, 4233-4245.

- Lindahl, T., Wood, R.D. (1999). Quality control by DNA repair. *Science* 286, 1897-1905.



- Liu, J., Song, B., Wang, Z., Song, X., Shi, Y., Zheng, J., and Han, J. (2009). DNA repair gene XRCC1 polymorphisms and non-Hodgkin lymphoma risk in a Chinese population. *Cancer Genet Cytogenet* 191, 67-72.
- Liu, M., Li, Y., Citterio, L., Huang, Q. F., Zeng, W. F., Sheng, C. S., Wei, F. F., Dong, Q., Li, G. L., Kang, Y. Y., Zhang, L., Xu, T. Y., Li, J. J., Song, J., Manunta, P., Wang, J. G. (2013). A functional common polymorphism of the ABCB1 gene is associated with chronic kidney disease and hypertension in Chinese. *Am J Hypertens* 26, 1428-1436.
- Livak, K. J. (1999). Allelic discrimination using fluorogenic probes and the 5' nuclease assay. *Genet Anal* 14, 143-149.
- Llopis, L., Boissel, N., Nibourel, O., Wemeau, M., Renneville, A., Dombret, H., and Preudhomme, C. (2009). acute myeloid leukemia, mutations, prognostic value, molecular biology. *Hématologie* 15, 17.
- Loizou, J. I., El-Khamisy, S. F., Zlatanou, A., Moore, D. J., Chan, D. W., Qin, J., Sarno, S., Meggio, F., Pinna, L. A., and Caldecott, K. W. (2004). The protein kinase CK2 facilitates repair of chromosomal DNA single-strand breaks. *Cell* 117, 17-28.
- Lordelo, G. S., Miranda-Vilela, A. L., Akimoto, A. K., Alves, P. C., Hiragi, C. O., Nonino, A., Daldegan, M. B., Klautau-Guimaraes, M. N., and Grisolia, C. K. (2012). Association between methylene tetrahydrofolate reductase and glutathione S-transferase M1 gene polymorphisms and chronic myeloid leukemia in a Brazilian population. *Genet Mol Res* 11, 1013-1026.
- Lowenberg, B., Downing, J. R., and Burnett, A. (1999). Acute Myeloid Leukemia. *New England Journal of Medicine* 341, 1051-1062.
- Lucock, M., Daskalakis, I., Briggs, D., Yates, Z., and Levene, M. (2000). Altered folate metabolism and disposition in mothers affected by a spina bifida pregnancy: influence of 677c > t methylenetetrahydrofolate reductase and 2756a --> g methionine synthase genotypes. *Mol Genet Metab* 70, 27-44.
- Lunn, M.R., Langlois, R., Hsieh, L., Thompson, C., and Bell, D. XRCC1 Polymorphisms: Effects on Aflatoxin B1-DNA Adducts and Glycophorin A Variant Frequency. (1999). *CANCER RESEARCH* 59, 2557-2561.
- Lyman, S. D., James, L., Vanden Bos, T., de Vries, P., Brasel, K., Gliniak, B., Hollingsworth, L. T., Picha, K. S., McKenna, H. J., Splett, R. R., and et al. (1993). Molecular cloning of a ligand for the flt3/flk-2 tyrosine kinase receptor: a proliferative factor for primitive hematopoietic cells. *Cell* 75, 1157-1167.

-M-

- Ma, J., Stampfer, M. J., Giovannucci, E., Artigas, C., Hunter, D. J., Fuchs, C., Willett, W. C., Selhub, J., Hennekens, C. H., and Rozen, R. (1997). Methylene tetrahydrofolate reductase polymorphism, dietary interactions, and risk of colorectal cancer. *Cancer Res* 57, 1098-1102.
- Ma, X., Ruan, G., Wang, Y., Li, Q., Zhu, P., Qin, Y. Z., Li, J. L., Liu, Y. R., Ma, D., and Zhao, H. (2005). Two single-nucleotide polymorphisms with linkage disequilibrium in the



- human programmed cell death 5 gene 5' regulatory region affect promoter activity and the susceptibility of chronic myelogenous leukemia in Chinese population. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 11, 8592-8599.
- Malinow, M. R. (1994). Homocyst(e)ine and arterial occlusive diseases. *J Intern Med* 236, 603-617.
- Malinow, M. R., Nieto, F. J., Kruger, W. D., Duell, P. B., Hess, D. L., Gluckman, R. A., Block, P. C., Holzgang, C. R., Anderson, P. H., Seltzer, D., *et al.* (1997). The effects of folic acid supplementation on plasma total homocysteine are modulated by multivitamin use and methylenetetrahydrofolate reductase genotypes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 17, 1157-1162.
- Margaglione, M., D'Andrea, G., d'Addetta, M., Giuliani, N., Cappucci, G., Iannaccone, L., Vecchione, G., Grandone, E., Brancaccio, V., and Di Minno, G. (1998). The methylenetetrahydrofolate reductase TT677 genotype is associated with venous thrombosis independently of the coexistence of the FV Leiden and the prothrombin A20210 mutation. *Thromb Haemost* 79, 907-911.
- Marsin, S., Vidal, A. E., Sossou, M., Menissier-de Murcia, J., Le Page, F., Boiteux, S., de Murcia, G., and Radicella, J. P. (2003). Role of XRCC1 in the coordination and stimulation of oxidative DNA damage repair initiated by the DNA glycosylase hOGG1. *J Biol Chem* 278, 44068-44074.
- Martinelli, M., Scapoli, L., Pezzetti, F., Carinci, F., Carinci, P., Stabellini, G., Bisceglia, L., Gombos, F., and Tognon, M. (2001). 677C>T variant form at the MTHFR gene and CL/P: a risk factor for mothers? *Am J Med Genet* 98, 357-360.
- Maru, Y. (2001). Molecular biology of chronic myeloid leukemia. *International journal of hematology* 73, 308-322.
- Marugame, T., Tsuji, E., Inoue, H., Shinomiya, S., Kiyohara, C., Onuma, K., Hamada, H., Koga, H., Handa, K., Hayabuchi, H., and Kono, S. (2000). Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism and risk of colorectal adenomas. *Cancer Lett* 151, 181-186.
- Marzolini, C., Paus, E., Buclin, T., and Kim, R. B. (2004). Polymorphisms in human MDR1 (P-glycoprotein): recent advances and clinical relevance. *Clin Pharmacol Ther* 75, 13-33.
- Masson, M., Niedergang, C., Schreiber, V., Muller, S., Menissier-de Murcia, J., and de Murcia, G. (1998). XRCC1 is specifically associated with poly(ADP-ribose) polymerase and negatively regulates its activity following DNA damage. *Mol Cell Biol* 18, 3563-3571.
- Mathijssen, R. H., Marsh, S., Karlsson, M. O., Xie, R., Baker, S. D., Verweij, J., Sparreboom, A., and McLeod, H. L. (2003). Irinotecan pathway genotype analysis to predict pharmacokinetics. *Clin Cancer Res* 9, 3246-3253.
- Matsuo, K., Hamajima, N., Suzuki, R., Andoh, M., Nakamura, S., Seto, M., Morishimae, Y., and Tajima, K. (2004). Lack of association between DNA base excision repair gene XRCC1 Gln399Arg polymorphism and risk of malignant lymphoma in Japan. *Cancer Genet Cytogenet* 149, 77-80.
- Matsuo, K., Suzuki, R., Hamajima, N., Ogura, M., Kagami, Y., Taji, H., Kondoh, E., Maeda, S., Asakura, S., Kaba, S., *et al.* (2001). Association between polymorphisms of folate- and



methionine-metabolizing enzymes and susceptibility to malignant lymphoma. *Blood* 97, 3205-3209.

- McWhirter, J. R., Galasso, D. L., Wang, J. Y. (1993). A coiled-coil oligomerization domain of Bcr is essential for the transforming function of Bcr-Abl oncoproteins. *Molecular and Cellular Biology* 13, 7587-7595.

- Mead, A. J., Linch, D. C., Hills, R. K., Wheatley, K., Burnett, A. K., and Gale, R. E. (2007). FLT3 tyrosine kinase domain mutations are biologically distinct from and have a significantly more favorable prognosis than FLT3 internal tandem duplications in patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 110, 1262-1270.

- Meggyesi, N., Kozma, A., Halm, G., Nahajevszky, S., Batai, A., Fekete, S., Barta, A., Ujj, G., Lueff, S., Sipos, A., *et al.* (2012). Additional chromosome abnormalities, BCR-ABL tyrosine kinase domain mutations and clinical outcome in Hungarian tyrosine kinase inhibitor-resistant chronic myelogenous leukemia patients. *Acta haematologica* 127, 34-42.

- Meisel, C., Cascorbi, I., Gerloff, T., Stangl, V., Laule, M., Muller, J. M., Wernecke, K. D., Baumann, G., Roots, I., and Stangl, K. (2001). Identification of six methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) genotypes resulting from common polymorphisms: impact on plasma homocysteine levels and development of coronary artery disease. *Atherosclerosis* 154, 651-658.

- Melo, J. V. (1997). BCR-ABL gene variants. *Baillieres Clin Haematol* 10, 203-222.

- Melo, J. V., Hughes, T. P., and Apperley, J. F. (2003). Chronic Myeloid Leukemia. *ASH Education Program Book 2003*, 132-152.

- Meza-Espinoza, J. P., Peralta-Leal, V., Gutierrez-Angulo, M., Macias-Gomez, N., Ayala-Madrigal, M. L., Barros-Nunez, P., Duran-Gonzalez, J., and Leal-Ugarte, E. (2009). XRCC1 polymorphisms and haplotypes in Mexican patients with acute lymphoblastic leukemia. *Genet Mol Res* 8, 1451-1458.

- Miller, S. A., Dykes, D. D., and Polesky, H. F. (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 16.

- Mohrenweiser, H. W., Carrano, A. V., Fertitta, A., Perry, B., Thompson, L. H., Tucker, J. D., and Weber, C. A. (1989). Refined mapping of the three DNA repair genes, ERCC1, ERCC2, and XRCC1, on human chromosome 19. *Cytogenet Cell Genet* 52, 11-14.

- Monaco, R., Rosal, R., Dolan, M. A., Pincus, M. R., and Brandt-Rauf, P. W. (2007). Conformational effects of a common codon 399 polymorphism on the BRCT1 domain of the XRCC1 protein. *Protein J* 26, 541-546.

- Moon, H. W., Kim, T. Y., Oh, B. R., Min, H. C., Cho, H. I., Bang, S. M., Lee, J. H., Yoon, S. S., and Lee, D. S. (2007). MTHFR 677CC/1298CC genotypes are highly associated with chronic myelogenous leukemia: a case-control study in Korea. *Leuk Res* 31, 1213-1217.

- Morita, H., Kurihara, H., Tsubaki, S., Sugiyama, T., Hamada, C., Kurihara, Y., Shindo, T., Oh-hashii, Y., Kitamura, K., and Yazaki, Y. (1998). Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism and ischemic stroke in Japanese. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 18, 1465-1469.



- Mrozek, K., Heerema, N. A., and Bloomfield, C. D. (2004). Cytogenetics in acute leukemia. *Blood Rev 18*, 115-136.

-N-

- Nakao, M., Yokota, S., Iwai, T., Kaneko, H., Horiike, S., Kashima, K., Sonoda, Y., Fujimoto, T., and Misawa, S. (1996). Internal tandem duplication of the *flt3* gene found in acute myeloid leukemia. *Leukemia 10*, 1911-1918.

- Nash, R. A., Caldecott, K. W., Barnes, D. E., and Lindahl, T. (1997). XRCC1 protein interacts with one of two distinct forms of DNA ligase III. *Biochemistry 36*, 5207-5211.

- Nelson, H. H., Kelsey, K. T., Mott, L. A., and Karagas, M. R. (2002). The XRCC1 Arg399Gln polymorphism, sunburn, and non-melanoma skin cancer: evidence of gene-environment interaction. *Cancer Res 62*, 152-155.

- Nimmanapalli, R., and Bhalla, K. (2002). Mechanisms of resistance to imatinib mesylate in Bcr-Abl-positive leukemias. *Current opinion in oncology 14*, 616-620.

-O-

Orkin, S. H., and Zon, L. I. (2008). Hematopoiesis: an evolving paradigm for stem cell biology. *Cell 132*, 631-644.

Ozeki, K., Kiyoi, H., Hirose, Y., Iwai, M., Ninomiya, M., Kodera, Y., Miyawaki, S., Kuriyama, K., Shimazaki, C., Akiyama, H., *et al.* (2004). Biologic and clinical significance of the FLT3 transcript level in acute myeloid leukemia. *Blood 103*, 1901-1908.

-P-

- Paluku They-They, T., Hamzi, K., Mazabraud, A., and Nadifi, S. (2009). Fréquence du polymorphisme 677C>T du gène de la méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR) dans les populations arabe et berbère du Maroc. *Antropo 20*, 7.

- Park, S. H., Chi, H. S., Min, S. K., Cho, Y. U., Jang, S., Park, C. J., Lee, J. H., Lee, K. H., Im, H. J., and Seo, J. J. (2011). Prognostic significance of the FLT3 ITD mutation in patients with normal-karyotype acute myeloid leukemia in relapse. *Korean J Hematol 46*, 88-95.

- Passweg, J. R., Chalando, Y., Matthes, T., and Beris, P. 2008. Les leucémies aiguës. *Rev Med Suisse 4*, 1272-1278.

- Pepe, G., Camacho Vanegas, O., Giusti, B., Brunelli, T., Marcucci, R., Attanasio, M., Rickards, O., De Stefano, G. F., Prisco, D., Gensini, G. F., and Abbate, R. (1998). Heterogeneity in world distribution of the thermolabile 677C>T mutation in 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase: *Am J Hum Genet.* 1998 Sep;63(3):917-20.

- Petermann, E., Keil, C., and Oei, S. L. (2006). Roles of DNA ligase III and XRCC1 in regulating the switch between short patch and long patch BER. *DNA Repair 5*, 544-555.

- Piloto, O., Wright, M., Brown, P., Kim, K. T., Levis, M., and Small, D. (2007). Prolonged exposure to FLT3 inhibitors leads to resistance via activation of parallel signaling pathways. *Blood 109*, 1643-1652.

- Pinheiro, R. F., de Sá Moreira, E., Silva, M. R. R., Alberto, F. L., and Chauffaille, M. d. L. L. F. (2008). FLT3 internal tandem duplication during myelodysplastic syndrome follow-up:



a marker of transformation to acute myeloid leukemia. *Cancer Genetics and Cytogenetics* 183, 89-93.

- Piyathilake, C. J., Macaluso, M., Johanning, G. L., Whiteside, M., Heimburger, D. C., and Giuliano, A. (2000). Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphism increases the risk of cervical intraepithelial neoplasia. *Anticancer Res* 20, 1751-1757.

- Pourquier, P. (2006). La réparation de l'ADN, cible potentielle d'un développement thérapeutique en cancérologie. *Bull Cancer*: 124-144.

-Q-

- Qian, X., Cao, S., Yang, G., Dong, J., Jin, G., Shen, Y., and Hu, Z. (2012). Variant genotypes of MDR1 3435C>T increase the risk of leukemia: evidence from 10 case-control studies. *Leuk Lymphoma* 53, 1183-1187.

- Qiao, W., Wang, T., Zhang, L., Tang, Q., Wang, D., and Sun, H. (2013). Association between single genetic polymorphisms of MDR1 gene and gastric cancer susceptibility in Chinese. *Med Oncol* 30, 013-0643.

- Qu, T., and Morimoto, K. (2005). X-ray repair cross-complementing group 1 polymorphisms and cancer risks in Asian populations: a mini review. *Cancer Detect Prev* 29, 215-220.

-R-

- Radich, J. P. (2007). The Biology of CML blast crisis. *Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology American Society of Hematology Education Program*, 384-391.

- Rady, P. L., Szucs, S., Grady, J., Hudnall, S. D., Kellner, L. H., Nitowsky, H., Tyring, S. K., and Matalon, R. K. (2002). Genetic polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and methionine synthase reductase (MTRR) in ethnic populations in Texas; a report of a novel MTHFR polymorphic site, G1793A. *American Journal of Medical Genetics* 107, 162-168.

- Rao, D. N., Anuradha, C., Vishnupriya, S., Sailaja, K., Surekha, D., Raghunadharao, D., and Rajappa, S. (2010). Association of an MDR1 gene (3435C>T) polymorphism with acute leukemia in India. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP* 11, 1063-1066.

- Regland, B., Germgard, T., Gottfries, C. G., Grenfeldt, B., and Koch-Schmidt, A. C. (1997). Homozygous thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase in schizophrenia-like psychosis. *J Neural Transm* 104, 931-941.

- Regland, B., Johansson, B. V., Grenfeldt, B., Hjelmgren, L. T., and Medhus, M. (1995). Homocysteinemia is a common feature of schizophrenia. *J Neural Transm Gen Sect* 100, 165-169.

- Reikvam, H., Hatfield, K. J., Fredly, H., Nepstad, I., Mosevoll, K. A., and Bruserud, O. (2012). The angioregulatory cytokine network in human acute myeloid leukemia - from leukemogenesis via remission induction to stem cell transplantation. *European cytokine network* 23, 140-153.



- Riordan, J. R., Deuchars, K., Kartner, N., Alon, N., Trent, J., and Ling, V. (1985). Amplification of P-glycoprotein genes in multidrug-resistant mammalian cell lines. *Nature* 316, 817-819.
- Robertson, A. B., Klungland, A., Rognes, T., and Leiros, I. (2009). DNA repair in mammalian cells: Base excision repair: the long and short of it. *Cell Mol Life Sci* 66, 981-993.
- Robien, K., and Ulrich, C. M. (2003). 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and leukemia risk: a HuGE minireview. *Am J Epidemiol* 157, 571-582.
- Robins, A. J., Milewczyk, B. K., Booth, E. M., and Mallick, N. P. (1972). Plasma amino acid abnormalities in chronic renal failure. *Clin Chim Acta* 42, 215-217.
- Rosenberg, M. F., Callaghan, R., Ford, R. C., and Higgins, C. F. (1997). Structure of the multidrug resistance P-glycoprotein to 2.5 nm resolution determined by electron microscopy and image analysis. *J Biol Chem* 272, 10685-10694.
- Ryan, B. M., and Weir, D. G. (2001). Relevance of folate metabolism in the pathogenesis of colorectal cancer. *J Lab Clin Med* 138, 164-176.

-S-

- Saab, F. (2006). Inhibiteurs de la voie Raf/MEK/ERK : Synthèse de composés à structure 4-azaindolique et évaluation de leur efficacité par la mise au point de tests TR-FRET. Domain other. Université d'Orléans. French <tel-00503901v1>.
- Sailaja, K., Rao, D. N., Rao, D. R., and Vishnupriya, S. (2010). Analysis of CYP3A5*3 and CYP3A5*6 gene polymorphisms in Indian chronic myeloid leukemia patients. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP* 11, 781-784.
- Sailaja, K., Surekha, D., Nageswara Rao, D., Raghunadha Rao, D., and Vishnupriya, S. (2008). ABCB1 (MDR1, P-glycoprotein) 3435C>T gene polymorphism and its possible association with chronic myeloid leukemia prognosis. *Curr Trends Biotechnol Pharmacy* 2, 514.
- Sakaeda, T., Nakamura, T., and Okumura, K. (2003). Pharmacogenetics of MDR1 and its impact on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of drugs. *Pharmacogenomics* 4, 397-410.
- Salah, G. B., Ayadi, I., Fendri-Kriaa, N., Kallabi, F., Mkaouar-Rebai, E., Fourati, A., Fakhfakh, F., Ayadi, H., and Kamoun, H. (2012). DNA repair gene polymorphisms at XRCC1 (Arg194Trp, Arg280His, and Arg399Gln) in a healthy Tunisian population: interethnic variation and functional prediction. *Genet Test Mol Biomarkers* 16, 1218-1225.
- Salomon, O., Moisseiev, J., Rosenberg, N., Vidne, O., Yassur, I., Zivelin, A., Treister, G., Steinberg, D. M., and Seligsohn, U. (1998). Analysis of genetic polymorphisms related to thrombosis and other risk factors in patients with retinal vein occlusion. *Blood Coagul Fibrinolysis* 9, 617-622.
- Sanz, M. A. (2006). Treatment of acute promyelocytic leukemia. *Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology American Society of Hematology Education Program*, 147-155.



- Sargent, T., 3rd, Kusubov, N., Taylor, S. E., and Budinger, T. F. (1992). Tracer kinetic evidence for abnormal methyl metabolism in schizophrenia. *Biol Psychiatry* 32, 1078-1090.
- Sauer, G., Kafka, A., Grundmann, R., Kreienberg, R., Zeillinger, R., and Deissler, H. (2002). Basal expression of the multidrug resistance gene 1 (MDR-1) is associated with the TT genotype at the polymorphic site 3435C>T in mammary and ovarian carcinoma cell lines. *Cancer Lett* 185, 79-85.
- Sauna, Z. E., and Ambudkar, S. V. (2007). About a switch: how P-glycoprotein (ABCB1) harnesses the energy of ATP binding and hydrolysis to do mechanical work. *Mol Cancer Ther* 6, 13-23.
- Savage, D. G., and Antman, K. H. (2002). Imatinib mesylate--a new oral targeted therapy. *The New England journal of medicine* 346, 683-693.
- Savage, D. G., Szydlo, R. M., Chase, A., Apperley, J. F., and Goldman, J. M. (1997). Bone marrow transplantation for chronic myeloid leukaemia: the effects of differing criteria for defining chronic phase on probabilities of survival and relapse. *British journal of haematology* 99, 30-35.
- Sawyers, C. L. (1999). Chronic myeloid leukemia. *The New England journal of medicine* 340, 1330-1340.
- Schinkel, A. H. (1997). The physiological function of drug-transporting P-glycoproteins. *Semin Cancer Biol* 8, 161-170.
- Schinkel, A. H., Smit, J. J., van Tellingen, O., Beijnen, J. H., Wagenaar, E., van Deemter, L., Mol, C. A., van der Valk, M. A., Robanus-Maandag, E. C., te Riele, H. P., and et al. (1994). Disruption of the mouse *mdr1a* P-glycoprotein gene leads to a deficiency in the blood-brain barrier and to increased sensitivity to drugs. *Cell* 77, 491-502.
- Schlenk, R. F., Dohner, K., Krauter, J., Frohling, S., Corbacioglu, A., Bullinger, L., Habdank, M., Spath, D., Morgan, M., Benner, A., et al. (2008). Mutations and treatment outcome in cytogenetically normal acute myeloid leukemia. *The New England journal of medicine* 358, 1909-1918.
- Schnittger, S., Kohl, T. M., Leopold, N., Schoch, C., Wichmann, H. E., Kern, W., Lohse, P., Hiddemann, W., Haferlach, T., and Spiekermann, K. (2006). D324N single-nucleotide polymorphism in the FLT3 gene is associated with higher risk of myeloid leukemias. *Genes, chromosomes & cancer* 45, 332-337.
- Schwab, M., Eichelbaum, M., and Fromm, M. F. (2003a). Genetic polymorphisms of the human MDR1 drug transporter. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 43, 285-307.
- Schwab, M., Schaeffeler, E., Marx, C., Fromm, M. F., Kaskas, B., Metzler, J., Stange, E., Herfarth, H., Schoelmerich, J., Gregor, M., et al. (2003b). Association between the 3435C>T MDR1 gene polymorphism and susceptibility for ulcerative colitis. *Gastroenterology* 124, 26-33.
- Schwahn, B., and Rozen, R. (2001). Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: clinical consequences. *Am J Pharmacogenomics* 1, 189-201.
- Seeberg, E., Eide, L., and Bjoras, M. (1995). The base excision repair pathway. *Trends in biochemical sciences* 20, 391-397.



-
- Seedhouse, C., and Russell, N. (2007). Advances in the understanding of susceptibility to treatment-related acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol* 137, 513-529.
- Semenza, J. C., Delfino, R. J., Ziogas, A., and Anton-Culver, H. (2003). Breast cancer risk and methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism. *Breast Cancer Res Treat* 77, 217-223.
- Shaw, G. M., Rozen, R., Finnell, R. H., Todoroff, K., and Lammer, E. J. (1998). Infant 677C>T mutation in MTHFR, maternal periconceptional vitamin use, and cleft lip. *Am J Med Genet* 80, 196-198.
- Shen, H., Xu, Y., Zheng, Y., Qian, Y., Yu, R., Qin, Y., Wang, X., Spitz, M. R., and Wei, Q. (2001). Polymorphisms of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase and risk of gastric cancer in a Chinese population: A case-control study. *International Journal of Cancer* 95, 332-336.
- Shet, A. S., Jahagirdar, B. N., and Verfaillie, C. M. (2002). Chronic myelogenous leukemia: mechanisms underlying disease progression. *Leukemia* 16, 1402-1411.
- Siddiqui, A., Kerb, R., Weale, M. E., Brinkmann, U., Smith, A., Goldstein, D. B., Wood, N. W., and Sisodiya, S. M. (2003). Association of multidrug resistance in epilepsy with a polymorphism in the drug-transporter gene ABCB1. *The New England journal of medicine* 348, 1442-1448.
- Siegmund, W., Ludwig, K., Giessmann, T., Dazert, P., Schroeder, E., Sperker, B., Warzok, R., Kroemer, H. K., and Cascorbi, I. (2002). The effects of the human MDR1 genotype on the expression of duodenal P-glycoprotein and disposition of the probe drug talinolol. *Clin Pharmacol Ther* 72, 572-583.
- Siegmund, M., Brinkmann, U., Schaffeler, E., Weirich, G., Schwab, M., Eichelbaum, M., Fritz, P., Burk, O., Decker, J., Alken, P., *et al.* (2002). Association of the P-glycoprotein transporter MDR1(3435C>T) polymorphism with the susceptibility to renal epithelial tumors. *J Am Soc Nephrol* 13, 1847-1854.
- Skibola, C. F., Smith, M. T., Kane, E., Roman, E., Rollinson, S., Cartwright, R. A., and Morgan, G. (1999). Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene are associated with susceptibility to acute leukemia in adults. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96, 12810-12815.
- Slattery, M. L., Potter, J. D., Samowitz, W., Schaffer, D., and Leppert, M. (1999). Methylenetetrahydrofolate reductase, diet, and risk of colon cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 8, 513-518.
- Small, D. (2006). FLT3 Mutations: Biology and Treatment. *ASH Education Program Book 2006*, 178-184.
- Sokal, J. E., Baccarani, M., Russo, D., Turas, S. (1988). Staging and prognosis in chronic myelogenous leukemia. *Seminars in hematology* 25, 49-51.
- Song, C., Xing, D., Tan, W., Wei, Q., and Lin, D. (2001). Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms increase risk of esophageal squamous cell carcinoma in a Chinese population. *Cancer Res* 61, 3272-3275.



- Spirio, L., Olschwang, S., Groden, J., Robertson, M., Samowitz, W., Joslyn, G., Gelbert, L., Thliveris, A., Carlson, M., Otterud, B., et al. (1993). Alleles of the APC gene: an attenuated form of familial polyposis. *Cell* 75, 951-957.
- Stern, L. L., Mason, J. B., Selhub, J., and Choi, S. W. (2000). Genomic DNA hypomethylation, a characteristic of most cancers, is present in peripheral leukocytes of individuals who are homozygous for the 677C>T polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 9, 849-853.
- Sterpone, S., and Cozzi, R. (2010). Influence of XRCC1 Genetic Polymorphisms on Ionizing Radiation-Induced DNA Damage and Repair.
- Stevenson, R. E., Schwartz, C. E., Du, Y. Z., and Adams, M. J., Jr. (1997). Differences in methylenetetrahydrofolate reductase genotype frequencies, between Whites and Blacks: *Am J Hum Genet.* 1997 Jan;60(1):229-30.
- Stirewalt, D. L., and Radich, J. P. (2003). The role of FLT3 in haematopoietic malignancies. *Nat Rev Cancer* 3, 650-665.
- Stone, R. M., O'Donnell, M. R., and Sekeres, M. A. (2004). Acute Myeloid Leukemia. *ASH Education Program Book 2004*, 98-117.
- Szczeklik, A., Sanak, M., Jankowski, M., Dropinski, J., Czachor, R., Musial, J., Axenti, I., Twardowska, M., Brzostek, T., and Tendera, M. (2001). Mutation 1298A>C of methylenetetrahydrofolate reductase: risk for early coronary disease not associated with hyperhomocysteinemia. *Am J Med Genet* 101, 36-39.

-T-

- Tanabe, M., Ieiri, I., Nagata, N., Inoue, K., Ito, S., Kanamori, Y., Takahashi, M., Kurata, Y., Kigawa, J., Higuchi, S., et al. (2001). Expression of P-glycoprotein in human placenta: relation to genetic polymorphism of the multidrug resistance (MDR)-1 gene. *J Pharmacol Exp Ther* 297, 1137-1143.
- Tang, K., Ngoi, S. M., Gwee, P. C., Chua, J. M., Lee, E. J., Chong, S. S., and Lee, C. G. (2002). Distinct haplotype profiles and strong linkage disequilibrium at the MDR1 multidrug transporter gene locus in three ethnic Asian populations. *Pharmacogenetics* 12, 437-450.
- Taspinar, M., Aydos, S. E., Comez, O., Elhan, A. H., Karabulut, H. G., and Sunguroglu, A. (2008). CYP1A1, GST gene polymorphisms and risk of chronic myeloid leukemia. *Swiss medical weekly* 138, 12-17.
- Taylor, R. M., Wickstead, B., Cronin, S., and Caldecott, K. W. (1998). Role of a BRCT domain in the interaction of DNA ligase III-alpha with the DNA repair protein XRCC1. *Curr Biol* 8, 877-880.
- Tiesmeier, J., Muller-Tidow, C., Westermann, A., Czwalinna, A., Hoffmann, M., Krauter, J., Heil, G., Ganser, A., Serve, H., and Verbeek, W. (2004). Evolution of FLT3-ITD and D835 activating point mutations in relapsing acute myeloid leukemia and response to salvage therapy. *Leuk Res* 28, 1069-1074.
- Thomas, J., Wang, L., Richard, C. E., and Pirmohamed, M. (2004). Active transport of imatinib into and out of cells: implications for drug resistance. *Blood* 104, 3739-3745.



- Tonstad, S., Refsum, H., Ose, L., and Ueland, P. M. (1998). The 677C>T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene predisposes to hyperhomocysteinemia in children with familial hypercholesterolemia treated with cholestyramine. *J Pediatr* 132, 365-368.
- Tregouet, D. A., and Tiret, L. (2004). Cox proportional hazards survival regression in haplotype-based association analysis using the Stochastic-EM algorithm. *European journal of human genetics* : *EJHG* 12, 971-974.
- Tuimala, J., Szekely, G., Gundy, S., Hirvonen, A., and Norppa, H. (2002). Genetic polymorphisms of DNA repair and xenobiotic-metabolizing enzymes: role in mutagen sensitivity. *Carcinogenesis* 23, 1003-1008.
- Turgut, S., Turgut, G., and Atalay, E. O. (2006). Genotype and allele frequency of human multidrug resistance (MDR1) gene 3435C>T polymorphism in Denizli province of Turkey. *Mol Biol Rep* 33, 295-300.

-U-

- Ueland, P. M., Refsum, H., Beresford, S. A., and Vollset, S. E. (2000). The controversy over homocysteine and cardiovascular risk. *Am J Clin Nutr* 72, 324-332.
- Ulrich, C. M., Kampman, E., Bigler, J., Schwartz, S. M., Chen, C., Bostick, R., Fosdick, L., Beresford, S. A., Yasui, Y., and Potter, J. D. (1999). Colorectal adenomas and the 677C>T MTHFR polymorphism: evidence for gene-environment interaction? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 8, 659-668.
- Ulrich, C. M., Kampman, E., Bigler, J., Schwartz, S. M., Chen, C., Bostick, R., Fosdick, L., Beresford, S. A., Yasui, Y., and Potter, J. D. (2000). Lack of association between the 677C>T MTHFR polymorphism and colorectal hyperplastic polyps. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 9, 427-433.

-V-

- Vahid, P., Farnaz, R., Zaker, F., Farzaneh, A., and Parisa, R. (2010). Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene Polymorphisms and Risk of Myeloid Leukemia. *Lab Medicine* 41, 490-494.
- Van der Put, N. M., Gabreels, F., Stevens, E. M., Smeitink, J. A., Trijbels, F. J., Eskes, T. K., van den Heuvel, L. P., and Blom, H. J. (1998). A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural-tube defects? *Am J Hum Genet* 62, 1044-1051.
- Van Guldener, C., and Robinson, K. (2000). Homocysteine and renal disease. *Semin Thromb Hemost* 26, 313-324.
- Vardiman, J. W., Harris, N. L., and Brunning, R. D. (2002). The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms. *Blood* 100, 2292-2302.
- Verstuyft, C., Morin, S., Yang, J., Lorient, M. A., Barbu, V., Kerb, R., Brinkmann, U., Beaune, P., Jaillon, P., and Becquemont, L. (2003). A new, rapid and robust genotyping method for CYP2C9 and MDR1. *Annales de biologie clinique* 61, 305-309.



- Vigneri, P., and Wang, J. Y. (2001). Induction of apoptosis in chronic myelogenous leukemia cells through nuclear entrapment of BCR-ABL tyrosine kinase. *Nature medicine* 7, 228-234.
- Vivona, D., Bueno, C. T., Lima, L. T., Hirata, R. D., Hirata, M. H., Luchessi, A. D., Zanichelli, M. A., Chiattoni, C. S., and Guerra-Shinohara, E. M. (2012). ABCB1 haplotype is associated with major molecular response in chronic myeloid leukemia patients treated with standard-dose of imatinib. *Blood Cells Mol Dis* 48, 132-136.
- Von Bubnoff, N., Schneller, F., Peschel, C., and Duyster, J. (2002). BCR-ABL gene mutations in relation to clinical resistance of Philadelphia-chromosome-positive leukaemia to STI571: a prospective study. *Lancet* 359, 487-491.
- Voncken, J. W., Kaartinen, V., Groffen, J., and Heisterkamp, N. (1998). Bcr/Abl associated leukemogenesis in bcr null mutant mice. *Oncogene* 16, 2029-2032.

-W-

- Wang, L. H., Song, Y. B., Zheng, W. L., Jiang, L., and Ma, W. L. (2013). The association between polymorphisms in the MDR1 gene and risk of cancer: a systematic review and pooled analysis of 52 case-control studies. *Cancer Cell Int* 13, 1475-2867.
- Wang, Q., Jin, Y. Z., Zhou, S. B., Wang, L. J., Lei, M. M., Wang, Y., and Miao, C. (2014). ABCB1 C3435T polymorphism and the risk of ischemic heart disease: a meta-analysis. *Genet Test Mol Biomarkers* 18, 636-645.
- Wang, Y., Spitz, M. R., Zhu, Y., Dong, Q., Shete, S., and Wu, X. (2003). From genotype to phenotype: correlating XRCC1 polymorphisms with mutagen sensitivity. *DNA Repair* 2, 901-908.
- Ward, M., McNulty, H., McPartlin, J., Strain, J. J., Weir, D. G., and Scott, J. M. (1997). Plasma homocysteine, a risk factor for cardiovascular disease, is lowered by physiological doses of folic acid. *Qjm* 90, 519-524.
- Weisberg, I., Tran, P., Christensen, B., Sibani, S., and Rozen, R. (1998). A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. *Mol Genet Metab* 64, 169-172.
- Weisberg, I. S., Jacques, P. F., Selhub, J., Bostom, A. G., Chen, Z., Curtis Ellison, R., Eckfeldt, J. H., and Rozen, R. (2001). The 1298A->C polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): in vitro expression and association with homocysteine. *Atherosclerosis* 156, 409-415.
- Wetzler, M., Talpaz, M., Yee, G., Stass, S. A., Van Etten, R. A., Andreeff, M., Goodacre, A. M., Kleine, H. D., Mahadevia, R. K., and Kurzrock, R. (1995). Cell cycle-related shifts in subcellular localization of BCR: association with mitotic chromosomes and with heterochromatin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 92, 3488-3492
- Whitehouse, C. J., Taylor, R. M., Thistlethwaite, A., Zhang, H., Karimi-Busheri, F., Lasko, D. D., Weinfeld, M., and Caldecott, K. W. (2001). XRCC1 stimulates human polynucleotide kinase activity at damaged DNA termini and accelerates DNA single-strand break repair. *Cell* 104, 107-117.



- Whitman, S. P., Archer, K. J., Feng, L., Baldus, C., Becknell, B., Carlson, B. D., Carroll, A. J., Mrozek, K., Vardiman, J. W., George, S. L., *et al.* (2001). Absence of the wild-type allele predicts poor prognosis in adult de novo acute myeloid leukemia with normal cytogenetics and the internal tandem duplication of FLT3: a cancer and leukemia group B study. *Cancer Res* 61, 7233-7239.
- Wiemels, J. L., Smith, R. N., Taylor, G. M., Eden, O. B., Alexander, F. E., and Greaves, M. F. (2001). Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphisms and risk of molecularly defined subtypes of childhood acute leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98, 4004-4009.
- Wilcken, B., Bamforth, F., Li, Z., Zhu, H., Ritvanen, A., Renlund, M., Stoll, C., Alembik, Y., Dott, B., Czeizel, A. E., *et al.* (2003). Geographical and ethnic variation of the 677C>T allele of 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): findings from over 7000 newborns from 16 areas world wide. *J Med Genet* 40, 619-625.
- Woodahl, E. L., and Ho, R. J. (2004). The role of MDR1 genetic polymorphisms in interindividual variability in P-glycoprotein expression and function. *Curr Drug Metab* 5, 11-19.
- Wu, K., Su, D., Lin, K., Luo, J., and Au, W. W. (2011). XRCC1 Arg399Gln gene polymorphism and breast cancer risk: a meta-analysis based on case-control studies. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP* 12, 2237-2243.

-X-

Xiao, Y., Deng, T. R., Su, C. L., and Shang, Z. (2014). Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and susceptibility to acute lymphoblastic leukemia in a chinese population: a meta-analysis. *Oncol Res Treat* 37, 576-582.

-Y-

- Yakub, M., Moti, N., Parveen, S., Chaudhry, B., Azam, I., and Iqbal, M. P. (2012). Polymorphisms in MTHFR, MS and CBS genes and homocysteine levels in a Pakistani population. *PloS one* 7, 21.
- Yamauchi, A., Ieiri, I., Kataoka, Y., Tanabe, M., Nishizaki, T., Oishi, R., Higuchi, S., Otsubo, K., and Sugimachi, K. (2002). Neurotoxicity induced by tacrolimus after liver transplantation: relation to genetic polymorphisms of the ABCB1 (MDR1) gene. *Transplantation* 74, 571-572.
- Yanada. M., Matsuo, K., Suzuki, T., Kiyoi, H., and Naoe, T. (2005). Prognostic significance of FLT3 internal tandem duplication and tyrosine kinase domain mutations for acute myeloid leukemia: a meta-analysis. *Leukemia* 19, 1345-1349.
- Yaya, K., Hind, D., Meryem, Q., Asma, Q., Said, B., and Sellama, N. (2014). Single nucleotide polymorphisms of multidrug resistance gene 1 (MDR1) and risk of chronic myeloid leukemia. *Tumour Biol* 5, 5.
- Yoo, J. H., Choi, G. D., and Kang, S. S. (2000). Pathogenicity of thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase for vascular dementia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20, 1921-1925.



- Yu, J., Huang, J., Liang, Y., Qin, B., He, S., Xiao, J., Wang, H., and Zhong, R. (2011). Lack of association between apolipoprotein C3 gene polymorphisms and risk of coronary heart disease in a Han population in East China. *Lipids in health and disease* 10, 200.
- Yu, Z., Chen, J., Ford, B.N., Brackley, M.E., and Glickman, B.W. (1999). Human DNA repair systems: an overview. *Environmental and molecular mutagenesis* 33, 3-20.

-Z-

- Zarrinkar, P. P., Gunawardane, R. N., Cramer, M. D., Gardner, M. F., Brigham, D., Belli, B., Karaman, M. W., Pratz, K. W., Pallares, G., Chao, Q., *et al.* (2009). AC220 is a uniquely potent and selective inhibitor of FLT3 for the treatment of acute myeloid leukemia (AML). *Blood* 114, 2984-2992.
- Zhang, X., Morera, S., Bates, P. A., Whitehead, P. C., Coffey, A. I., Hainbucher, K., Nash, R. A., Sternberg, M. J., Lindahl, T., and Freemont, P. S. (1998). Structure of an XRCC1 BRCT domain: a new protein-protein interaction module. *Embo J* 17, 6404-6411.
- Zheng, H., Webber, S., Zeevi, A., Schuetz, E., Zhang, J., Lamba, J., Bowman, P., and Burckart, G. J. (2002). The MDR1 polymorphisms at exons 21 and 26 predict steroid weaning in pediatric heart transplant patients. *Hum Immunol* 63, 765-770.
- Zhou, X., Xu, L., and Yin, J. (2014). Association between the c.3073A>C genetic polymorphism of the MDR1 gene and susceptibility to gastric cancer in the Chinese Han population. *Genet Test Mol Biomarkers* 18, 66-69.
- Zintzaras, E. (2009). Glutathione S-transferase M1 and T1 genes and susceptibility to chronic myeloid leukemia: a meta-analysis. *Genetic testing and molecular biomarkers* 13, 791-797.

Résumé

Les leucémies sont des proliférations malignes des cellules souches hématopoïétiques et elles sont réparties en différentes classes dont la leucémie myéloïde chronique (LMC) qui est un syndrome myéloprolifératif caractérisé par une translocation chromosomique t (9, 22). Certains polymorphismes génétiques ont été incriminés dans la susceptibilité génétique individuelle à développer cette pathologie bien que les études qui s'y sont intéressées ne soient pas nombreuses.

Dans la première partie de notre étude, trois gènes ont été explorés dans cette même optique : *MTHFR* qui code pour une protéine clé du métabolisme des folates, *ABCBI* qui code pour une glycoprotéine régulant l'intrusion et l'extrusion des agents carcinogènes de la cellule et enfin *XRCCI* codant pour une protéine intervenant dans le système de réparation de l'ADN par excision de base. Par le biais d'une étude cas/ témoin englobant 148 témoins sains et 90 cas LMC, nous avons recherché des associations entre les polymorphismes de ces trois gènes et le risque de survenue de la LMC. Le génotypage a été réalisé par discrimination allélique TaqMan concernant les polymorphismes 677C>T et 1298A>C de *MTHFR* et 3435C>T de *ABCBI*, et par technique PCR-RFLP pour le polymorphisme 1196G>A de *XRCCI*. L'évaluation de l'association a été estimée en calculant l'odds ratio (OR) avec un intervalle de confiance de 95%. Des associations significatives ont été rapportées concernant l'allèle 677T du polymorphisme 677C>T et l'allèle 1298C du polymorphisme 1298C>A du gène *MTHFR* (respectivement, $p=1 \times 10^{-6}$; OR= 6,77 [4,22-10,86] et $p=9 \times 10^{-6}$; OR= 2,65 [1,71- 4,10]). De plus, une augmentation du risque de LMC a été relevée pour les haplotypes: 677T/1298A ($p=0,007$; 2,57 [1,26-5,24]), et 677T/1298C ($p=5 \times 10^{-6}$; OR =6,91[2,76-17,28]). Une association a été également retrouvée avec l'allèle 1196A du polymorphisme 1196G>A de *XRCCI* ($p=0,006$; OR=1,80 [1,17- 2,76]). Par ailleurs, aucune différence significative n'a été observée entre les cas et les témoins pour le polymorphisme 3435C>T de *ABCBI*.

La seconde partie de cette étude, s'intéresse à la leucémie myéloïde aigue (LAM), qui représente un groupe hétérogène dans lesquelles des mutations sont responsables d'altérations de la croissance, de la différenciation et de la prolifération d'une cellule primitive. Parmi ces altérations, la duplication en tandem (ITD) du gène *FLT3* qui code pour un récepteur de tyrosine kinase qui est un marqueur indispensable pour la classification des LAM selon les critères de l'OMS et l'établissement du diagnostic. Cette mutation a été recherchée par PCR chez 50 cas de LAM dans le but de mettre au point en routine cette détection indispensable au pronostic des LAM au niveau d'une structure hospitalière. Seuls 5 cas présentaient cette duplication parmi les malades. Une étude de corrélation entre présence de la FLT3-ITD et pronostic de la maladie est dorénavant possible dans cette structure et permettra à l'avenir une meilleure prise en charge clinique des patients.

Mots clés: LMC, *MTHFR*, *ABCBI*, *XRCCI*, LAM, *FLT3*, polymorphisme, mutation, pronostic, Algérie.