

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DU MALI  
**Un Peuple – Un But – Une Foi**

Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako

**(USTT-B)**



Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie (FMOS)

Année universitaire 2022 – 2023

THESE N° : /

**THEME**

**DISTRIBUTION DU POLYMORPHISME *C677T* DU GÈNE  
*METHYLENE TETRAHYDROFOLATE REDUCTASE (MTHFR)* DANS  
LA POPULATION GÉNÉRALE AU MALI**

Présentée et Soutenue publiquement le 06 / 01 /2024 devant le jury de la Faculté de Médecine  
et d'Odontostomatologie par

**M. Amadou GARIKO**

**Pour l'obtention du grade de Docteur en Médecine (Diplôme d'Etat)**

**JURY**

**Président :** M. Guimogo DOLO, *Professeur*

**Membres :** M. Bourama COULIBALY *Maître de Conférences*

**Co-directeur :** M. Yaya KASSOGUÉ *Maître de Conférences*

**Directeur :** M. Bréhima DIAKITÉ *Maître de Conférences*

# DÉDICACES

## **DEDICACES**

A mes Parents : **Moussa dit Mohouna GARIKO** et **Salamata MAIGA**

Chers parents à chaque fois que je pense à vous, une fierté m'anime, chacun de vos regards posés sur moi me donne une sensation d'un trésor inestimable en votre possession.

Vous m'avez appris le respect, la responsabilité et la conduite.

Votre vision et sens de responsabilité sont les deux caractères qui font de vous les meilleurs parents au monde.

Grâce à l'éducation que vous m'avez donnée j'ai traversé ces longues années d'étude avec la tête haute.

Yaarabi qu'Allah vous accorde tout ce que vous désirez et qui est bien pour vous, qu'Allah vous protège et vous garde aussi longtemps que possible auprès de votre famille.

Amiina yaarabi ALLAH.

A ma Marâtre **Fanta Amadou**

Chère mère je retiens de toi une femme battante, courageuse, ta relation de coépouse avec ma maman n'a jamais été un frein pour l'amour que tu portes à mon égard.

Merci d'avoir été là pour moi !

# **REMERCIEMENTS**

## **REMERCIEMENTS**

A **Allah** le tout miséricordieux,

**Alhamdulillah rabbil alamin**

Louange à ALLAH, le seigneur de l'univers, celui par sa grâce, nous a permis de réaliser ce travail.

A mes **frères** et **sœurs** : Bouya, Ousmane, Soumeylou, Horsi, Maya, Safiatou, Roukiatou, Boye, Aissatou, Penda et Aminata.

Une grande famille unie et solidaire.

Merci d'avoir été là pour moi, vos encouragements et conseils ont été un facteur important dans mon cursus.

Qu'Allah nous garde les uns pour les autres, amine !

A la famille **Gariko** à sévaré : Harouna Gariko, Hamidou Gariko et Seydou Gariko ; merci de votre accueil, votre soutien moral, matériel et financier depuis mes études de second cycle jusqu'au Lycée.

A ma grand-mère **Adama MAIGA**

L'humanisme en personne, la mère et l'hôte de tous.

Vos conseils et bénédictions quotidiens m'ont rendu fort et résistant, vous voir à chaque instant me comblait et faisait disparaître la nostalgie de mes parents.

Je m'en souvenais encore de ce jour quand je vous ai passé le téléphone pour parler avec ma mère, d'une voix triste et désespérée, ma mère vous demanda si j'étudiais ou m'amusais car les rumeurs couraient sur moi, vous n'avez pas hésité ce jour à lui dire une vérité franche qui disait ceci : On ne pose pas ces genres de question à propos de son fils, cependant on lui fait des bénédictions et l'encourager.

Que Dieu le tout puissant vous garde aussi longtemps que possible auprès de nous avec votre sagesse et humanisme.

Chère grand-mère ce travail vous est dédié.

A la famille **feu Col Hamadoun Maiga** à Quinzambougou, une famille d'hospitalité, solidaire avec des valeurs humaines incroyables, avec mes pères et mères j'ai grandi en culture, en personnalité et bien-sûr en intégration.

Evoluer dans cette famille a été pour moi la plus grande bénédiction, merci à vous !

À tout le personnel du centre de recherche et de formation sur les pathologies moléculaires (**CREFPAM**) :

**À mes chefs :** Pr Guimogo DOLO, Pr Cheick Bougadari TRAORE, Pr Bakarou KAMATE, Pr Mamoudou MAIGA, Pr Bréhima DIAKITE, Pr Yaya KASSOGUE, Pr Bourama Coulibaly, Dr Aissata COULIBALY

**À mes chers aînés :** Dr Oumar KASSOGUE, Dr Modibo DIARRA, Dr Fousseyni DIARRA, Dr Haby KONATE, Dr Soungou BORE, Dr Aissata COULIBALY, Dr Aissata MAIGA, Dr Idriss DJONOUMA, Dr Mahamane Talphi DIAKITE, Ban TRAORE, Kadidiatou CISSE, Assitan KONE

**A mes collègues :** Dr Mamadou BOLY, Dr Seydou SOUMOUNOU, Youssef TANGARA, Mariama GAKOU, Elvire BOTOKOU, Herve KOUMBEDJE, Legrand AKPADJA

**Aux personnels de l'administration du CREFPAM :** Dr Aissata COULIBALY, Lalla Fatima DIALLO, Mariam DIALLO

Plus qu'un centre c'est une famille, vous avez été le garant de mon évolution, merci à tous !

**A mes amis :** Aboubacar Sidiki TRAORE, Pofinet KEBKIBA, Sory Ibrahim MAIGA, Cheick oumar KONE, Ismail DIAKITE, Saouti Konaté, Idriss DJONOUMA, Mamadou BOLY, Issiaka SENE, Bilali Issa TOURE, Mohamed Ousmane MAIGA

Vous m'avez tous marqué avec vos qualités inestimables, qu'aurait été ma vie sans vous ?

Merci beaucoup qu'Allah vous accorde une longue vie et nous garde les uns pour les autres.

**A mes cousins :** Dr Kolado MAIGA, Ousmane MAIGA, Moussa Amadou MAIGA, Sory Ibrahim Maiga, Abdoulaye MAIGA, Abba MAIGA, merci pour les conseils et encouragements.

A toi **Dr Aissata MAIGA :** On s'est réellement côtoyé au point g et tu as été la parfaite grande sœur pour moi, je mangeais et buvais chez toi sans jamais faire attention à comment tu te débrouillais pour apporter tout ça.

Merci beaucoup pour tout, il n'y a pas de Gariko sans toi.

A toi **Dr Aissata COULIBALY :** Ma maman au CREFPAM, l'infatigable, l'optimisme et dynamisme en personne, merci pour les conseils et d'avoir été celle qui a su canaliser ma personne.

A toi **Lalla Fatima DIALLO :** Ma petite grande sœur, spécimen du bonheur scintillant et énergie débordante, on ne choisit pas ses cousines mais tu es l'une de mes meilleures cousines, ta sensibilité et compassion face aux problèmes des autres m'éblouies, merci de contribuer chaque jour à mon bonheur quotidien.

A toi **Fatoumata Agna DOUMBIA :** tu es l'une des rares personnes à me comprendre, tu m'as toujours conseillé dans le bon sens et souvent même si ça me blesse. Merci d'être toujours là pour moi.

A vous de la **Happy Family** : Oumou FANE, Fatoumata BARRY, Fatoumata FANE, Kamissa SANGARE, Moussa Diallo.

D'une rencontre fortuite on est devenu une famille, merci pour tous ces merveilleux moments.

A toi **Maimouna SISSOKO** : Tu es une merveilleuse personne, gentille et serviable. Merci pour tout cet amour que tu me portes. Qu'Allah t'accorde ce qu'il y'a du mieux pour toi.

A toi **Oumou FANE** : Je ne sais pas quoi dire, la vie est souvent injuste et sans pitié, si j'avais des pouvoirs tu n'allais plus souffrir, je mettrai fin à tes douleurs et tu pourras faire toutes ces choses dont t'as l'ambition, mais hélas, je ne suis qu'un faible.

Je prie le Bon Dieu de t'apaiser, merci pour tout, tu es une personne spéciale.

A Dr. **Kadidiatou TAMBOURA** : Merci pour les efforts fournis, sans toi il n'y a pas des données et sans données, pas d'étude.

A toi ma chère et bien aimée **Mariam Amadou TRAORE**, que dire de cette merveilleuse rencontre, une bénédiction.

En si peu de temps tu es devenu pour moi un havre de paix, le centre de mon monde.

On dit quand Dieu te donne un être inattendu, ne cherche pas à connaître la date de péremption, il faut profiter de chaque instant.

Tu es rentré dans ma vie à un moment que m'y attendais pas du tout, en m'apportant tout ce qui y manquait, la stabilité, la paix du cœur et joie de vivre.

Tes actions humaines, ton cœur en or et l'excellente éducation que tu as font de toi un être exceptionnel, je remercie tes parents : **Amadou Cheick TRAORE** et **Mah Assanatou KONE** pour la bonne éducation.

Merci d'être là à chaque instant de ma vie.

Je prie le bon Dieu de faire que l'on soit l'un pour l'autre la source du bonheur éternel.

A mes parents adoptifs : **Mamadou MAIGA** et **Fatoumata COULIBALY**, vous m'avez accueilli et traité comme votre propre fils, merci pour votre soutien inconditionnel et l'amour que vous me portez.

A mon Oncle, Professeur **Mamoudou MAIGA** : cher professeur vous m'avez inspiré, ouvert la porte à un monde fascinant qui est le domaine de recherche scientifique, votre réputation vous précède, comment suivre les pas d'un homme avec tant des réalisations, voilà la source de mon désir de faire mieux et de vous rendre fier.

Merci beaucoup pour tout, que Dieu vous récompense de tout le bien que vous faites.

A mon maître et Professeur **Bréhima DIAKITE** : Cher maître je n'ai jamais vu un homme aussi passionné que vous par son travail, votre rigueur, pragmatisme font de vous quelqu'un d'incompris, cher maître ces années passés avec vous m'ont forgé.

Merci de vos encouragements et enseignements.

A mon maître et Professeur **Yaya KASSOGUE** : cher maître je suis ébloui par votre sagesse, votre tact, votre accessibilité et votre simplicité.

Vous nous avez toujours pousser à nous surpasser, votre façon d'enseigner fait de vous un maître admirable.

Merci beaucoup cher maître de votre disponibilité, et de vos enseignements.



**HOMMAGES AUX  
MEMBRES DU JURY**

## **Hommages aux membres du jury**

### **A NOTRE MAITRE ET PRÉSIDENT DU JURY**

#### **Professeur Guimogo DOLO**

- PhD en Entomologie-Parasitologie Médicale ;
- Responsable de l'enseignement de la génétique à la FMOS,
- Chef de l'unité de la biologie moléculaire du MRTC ;
- Membre du Comité Sahélien des Pesticides ;
- Membre du Comité « *Vector Control Working Group* » (VCWG) de *Roll Back Malaria* ;
- Consultant du Programme Santé de « *Earth Institut* » de l'Université de Columbia ;
- Assistant technique des PNLP en Afrique de l'Ouest et du Centre ;
- Consultant du ministère de la Santé du Mali ;
- Expert du paludisme avec les PNLP et les villages du millénaire en Afrique de l'Ouest et du Centre.
- Chercheur au Centre de recherche et de formation sur les pathologies moléculaires (CREFPAM).

Cher Maître, vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce travail malgré vos nombreuses occupations. Votre parcours, votre simplicité et vos qualités pédagogiques imposent respect et admiration. Cher Maître, trouvez en ces mots, l'expression de notre profonde reconnaissance.

## **A NOTRE MAITRE ET MEMBRE DU JURY**

### **MC Bourama COULIBALY**

- Maître de conférences en Anatomie et cytologie pathologiques à la FMOS ;
- Praticien hospitalier au CHU Point G ;
- Collaborateur du registre national des cancers du Mali ;
- Secrétaire général adjoint de la Société Malienne de Pathologie (SMP) ;
- Chercheur au Centre de recherche et de formation sur les pathologies moléculaires (CREFPAM).

Cher Maître, nous sommes honorés par votre présence dans ce jury. Votre rigueur dans le travail et vos qualités d'homme de science font de vous un maître apprécier de tous. Permettez-nous, Cher Maître, de vous adresser l'expression de nos sentiments les plus distingués.

## **A NOTRE MAÎTRE ET CO-DIRECTEUR DE THESE :**

### **MC Yaya KASSOGUÉ**

- Maître de conférences en Génétique et Pathologie Moléculaire à la FMOS ;
- PhD en Génétique et Pathologie Moléculaire ;
- Lauréat du prix de thèse Pharo 2009, Marseille, France ;
- Investigateur principal du projet « Étude de la pharmacogénétique des ARVs au Mali, Afrique de l'Ouest » ;
- Lauréat de Seed Award, Liver cancer 2022, USA;
- Chercheur au Centre de recherche et de formation sur les pathologies moléculaires (CREFPAM).

Cher Maître, C'est un honneur de vous avoir comme enseignant et formateur durant ce travail que vous nous avez confié. Vous n'avez ménagé aucun effort pour que ce travail soit réalisé. Nous avons été fascinés par votre sociabilité, votre leadership, votre humilité et votre rigueur scientifique.

Veillez accepter, cher Maître, tous nos remerciements et notre profonde reconnaissance.

## **A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THÈSE**

### **MC Bréhima DIAKITÉ**

- PhD en Génétique et Pathologie Moléculaire
- Membre du comité scientifique de l'organisation africaine pour la recherche et la formation sur le cancer (AORTIC) ;
- Prix meilleur abstract 2023, Institute of Global Health, NU, USA ;
- Lauréat Big Cat 2023, American Association for Cancer Research;
- Lauréat de Harvard, Boston University, and University of New Mexico (HBNU) ;
- Lauréat 2019 Catalyser project of Northwestern University de la recherche génétique et épigénétique sur le cancer du sein au Mali ;
- Maître de conférences en Génétique et Pathologie Moléculaire à la FMOS ;
- Chercheur au Centre de recherche et de formation sur les pathologies moléculaires (CREFPAM).

Cher Maître, Ce travail est le fruit de votre abnégation et de votre patience, nous vous remercions pour cet immense honneur que vous nous avez fait en nous acceptant dans votre centre de recherche tout au long de cette aventure, votre sagesse, vos qualités pédagogiques et intellectuelles font de vous un exemple à suivre. Trouvez en ces quelques mots, l'expression de notre grand respect.

# **LISTE DES ABRÉVIATIONS**

## Listes des sigles et abréviations

<b>ADN</b>	Acide Désoxyribonucléique
<b>ARN</b>	Acide Ribonucléique
<b>Cbl</b>	Cobalamine
<b>CBS</b>	La cystathione- $\beta$ -synthase
<b>DHF</b>	Dihydrofolate
<b>FAD</b>	Flavine adenine dinucleotide
<b>Hcy</b>	Homocystéine
<b>Hhcy</b>	L'hyperhomocystéinémie
<b>MAT</b>	La méthionine adénosyl transférase
<b>MET</b>	Méthionine
<b>MS</b>	La méthionine synthase
<b>MSR</b>	La Méthionine synthase réductase
<b>MTHFR</b>	Méthylène tétrahydrofolate réductase
<b>NADPH</b>	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
<b>NO</b>	Nitric oxide
<b>PCR</b>	« <i>Polymerase chain reaction</i> »
<b>PCR RFLP</b>	Polymorphisme de longueur des fragments de restriction “ <i>Restriction fragment length polymorphism</i> ”
<b>PLP</b>	Le pyridoxal 5'-phosphate
<b>SAH</b>	S-Adenosyl homocysteine
<b>SAM</b>	La S-adenosyl methionine
<b>SHMT</b>	La sérine hydroxy-méthyltransférase
<b>SNP</b>	<i>single-nucleotide polymorphism</i>
<b>tHcy</b>	Total homocystéine
<b>THF</b>	Tétrahydrofolate
<b>5-10 MTHF</b>	La 5,10-méthylène tétrahydrofolate réductase

# **TABLE DES MATIERES**



## Table des matières

1.	Introduction .....	1
2	Objectifs .....	5
2.1	Objectif général .....	5
2.2	Objectifs spécifiques .....	5
3	Généralités.....	7
3.1	Gène méthylène tétrahydrofolate-réductase ( <i>MTHFR</i> ).....	7
3.1.1	Structure et localisation.....	7
3.1.2	Transcrits du gène <i>MTHFR</i> .....	7
3.2	Protéine <i>MTHFR</i> .....	8
3.2.1	Structure et fonction .....	8
3.3	Polymorphismes du gène <i>MTHFR</i> .....	10
3.3.1	Polymorphisme <i>C677T</i> du gène <i>MTHFR</i> .....	11
3.3.2	Polymorphisme <i>C677T</i> de la <i>MTHFR</i> et l'hyperhomocystéinémie.....	12
3.3.3	Polymorphisme <i>A1298C</i> du gène <i>MTHFR</i> .....	12
3.4	Polymorphisme <i>C677T</i> et maladies.....	13
3.5	Autres polymorphismes.....	14
4	Matériel et méthodes .....	17
4.1	Recrutement des participants .....	17
4.1.1	Critère d'inclusion .....	17
4.1.2	Critères de non-inclusion .....	17
4.2	Collecte des données .....	17
4.3	Prélèvement sanguin .....	17
4.4	Analyse moléculaire.....	18
4.4.1	Extraction de l'ADN génomique .....	18
4.4.2	Principe .....	18
4.4.3	Protocole .....	18
a.	La lyse des globules rouges .....	18
b.	Elimination des globules blancs et des protéines .....	18
4.5	Détermination de la qualité et de la concentration d'ADN.....	19
4.5.1	Critères d'évaluation de la qualité de l'ADN.....	19
4.6	Génotypage du polymorphisme <i>C677T</i> du gène <i>MTHFR</i> .....	20
4.6.1	Principe de la PCR ( <i>Polymerase Chain Reaction</i> ).....	20

4.6.2	Préparation du produit de <i>PCR</i> .....	20
4.6.3	Conditions d'amplification .....	21
4.6.4	Analyse des produits d'amplification .....	21
4.6.5	Digestion des produits de <i>PCR</i> .....	21
4.6.6	Digestion par l'enzyme de restriction <i>Hinf I</i> .....	21
4.6.7	Migration par électrophorèse sur gel d'agarose .....	22
4.6.8	Interprétation Profils <i>RFLP</i> obtenus .....	22
4.7	Gestion des données .....	22
5.1	Etudes des caractéristiques sociodémographiques .....	23
5.2	Études de distribution génotypiques et alléliques du polymorphisme <i>C677T</i> du gène <i>MTHFR</i> .....	27
6.	Commentaires et discussion .....	31
6.1	Caractéristiques sociodémographiques .....	31
6.2	Distribution génotypique et allélique du polymorphisme <i>C677T</i> du gène <i>MTHFR</i> .....	31
7.	Conclusion et recommandations .....	34
8.	References .....	37
9.	Annexe .....	44

# **LISTE DES TABLEAUX**

## Liste des Tableaux

Tableau I : Amorces utilisées pour l'amplification du gène <i>MTHFR</i> .....	20
Tableau II : Préparation de la solution de digestion enzymatique des produits <i>PCR</i> .....	21
Tableau III : La distribution des participants selon les intervalles d'âge .....	24
Tableau IV : Répartition des participants selon le niveau d'instruction.....	25
Tableau V : Répartition des participants en fonction de leurs professions.....	26
Tableau VI : Répartition de la population d'étude en fonction du statut matrimonial .....	26
Tableau VII : Distribution génotypique et allélique du gène <i>MTHFR</i> dans notre population d'étude .....	27
Tableau VIII : Répartition des génotypes du gène <i>MTHFR</i> en fonction des intervalles d'âge	27
Tableau IX : Distribution génotypique du polymorphisme <i>C677T</i> en fonction du sexe.....	28
Tableau X : Distribution des génotypes en fonction de l'ethnie .....	28
Tableau XI: Distribution générale du gène <i>MTHFR</i> dans la population Africaine .....	29

# **LISTE DES FIGURES**

## Liste des figures :

Figure 1 : Différents transcrits du gène <i>MTHFR</i> (Hombberger et al., (2000)).....	8
Figure 2 : Représentation schématique et structurale du <i>MTHFR</i> humain .....	9
Figure 3 : Un modèle de la structure du <i>MTHFR</i> humain.....	10
Figure 4 : Représentation schématique de 41 mutations du gène <i>MTHFR</i> et les deux polymorphismes particulièrement étudiés.....	11
Figure 5 : Répartition de la population d'étude en fonction du sexe .....	24
Figure 6 : Répartition des participants en fonction de l'ethnie .....	25

# **INTRODUCTION**

## 1. Introduction

Les micronutriments et les vitamines jouent un rôle essentiel dans la synthèse et la réparation de l'ADN, ainsi que dans le maintien des modèles de méthylation de l'ADN. Le folate a particulièrement retenu l'attention en raison de sa fonction unique en tant que donneur de méthyle pour la synthèse des nucléotides et la méthylation chez les êtres vivants(1).

Cette contribution peut varier en fonction du polymorphisme du gène de la méthylène tétrahydrofolate réductase (*MTHFR*). La méthylène tétrahydrofolate réductase (*MTHFR*) est une enzyme régulatrice clé dans le métabolisme des folates, participant à la régulation et à la conversion de l'homocystéine en méthionine. Elle catalyse la réduction irréversible du 5,10-méthylènetétrahydrofolate (5,10-méthylène-THF) en 5-méthyl-THF, la principale forme circulante de folate. Le 5-méthyl-THF sert de substrat pour la méthylation de l'homocystéine en méthionine, en utilisant la méthionine synthase avec la vitamine B12 comme cofacteur. La méthionine permet la biosynthèse de novo de la S-adénosyl méthionine (SAM), qui est le principal donneur de radicaux méthyle chez l'homme (2).

Environ soixante mutations ont été identifiées dans le gène *MTHFR*, mais les deux les plus étudiées sont *A1298C* et *C677T*. Les répercussions fonctionnelles des autres polymorphismes ont été peu caractérisées ou demeurent inconnues (3). A l'état homozygote ou hétérozygote, cette mutation est corrélée avec une réduction de l'activité enzymatique et une augmentation de sa thermolabilité (3,4).

Les individus homozygotes pour cette mutation présentent une forte élévation de la concentration d'homocystéine plasmatique, associée à une diminution du taux de folates (5). Cependant, des taux élevés en folates plasmatiques semblent neutraliser les effets de la mutation *C677T* du gène *MTHFR* (6).

De plus, le polymorphisme *C677T* du gène *MTHFR* influence l'état de méthylation de l'ADN génomique par son interaction avec le métabolisme des folates (1).

Plusieurs études, souvent controversées en raison des différences géographiques et des caractéristiques de la population, ont rapporté la corrélation entre la mutation *C677T* du gène *MTHFR* et plusieurs maladies, en particulier celles liées au métabolisme des folates(7).

Il s'agit notamment de la schizophrénie (8); des maladies cardiovasculaires (9) ; des cancers (10) et des anomalies de développement embryonnaire dont le défaut de fermeture du tube neural (11). Dans une synthèse narrative de la littérature, deux études menées sur les populations du Maroc et du Cameroun ont rapporté une association entre le polymorphisme *C677T* du gène *MTHFR* et un risque accru d'hypertension artérielle. En revanche, d'autres



études sur les populations algérienne et égyptienne n'ont trouvé aucune association (12). Une méta-analyse a révélé une association entre le polymorphisme *C677T* du gène *MTHFR* et la susceptibilité au cancer colorectal dans la population asiatique (13). Cependant, dans la population européenne, les hétérozygotes *CT* présentaient un risque significativement accru de développer un cancer colorectal, et aucune augmentation du risque de cancer n'a été observée chez les homozygotes *TT* (14). Cette controverse a été partiellement expliquée par des études récentes démontrant que la fréquence du polymorphisme *C677T* du gène *MTHFR* diffère largement selon les populations, en fonction de l'aire géographique et de l'ethnie (15,16).

La principale caractéristique de la population malienne est sa diversité ethnique. Néanmoins, peu d'études ont été menées sur cette population ;

Le but de cette étude était de déterminer la fréquence de la mutation *C677T* du gène *MTHFR* dans la population malienne afin de fournir des données utiles pour de futures études d'association génétique.

# **OBJECTIFS**

## **2 Objectifs**

### **2.1 Objectif général**

Étudier la distribution du polymorphisme *C677T* du gène *MTHFR* dans un échantillon sanguin représentatif de la population générale au Mali.

### **2.2 Objectifs spécifiques**

- Décrire les caractéristiques socio-démographiques de la population d'étude ;
- Déterminer les fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme *C677T* du gène *MTHFR* ;
- Explorer la distribution du polymorphisme *C677T* du gène *MTHFR* en fonction des caractéristiques sociodémographiques.

# **GENERALITES**

### 3 Généralités

#### 3.1 Gène méthylène tétrahydrofolate-réductase (*MTHFR*)

##### 3.1.1 Structure et localisation

Le gène de la méthylène tétrahydrofolate réductase (*MTHFR*) humain est localisé sur le bras court du chromosome 1 dans la région 1p36.3, avec une structure d'environ 17 kb comprenant 11 exons, couvrant 2,2 kb allant de 102 pb à 432 pb (*cDNA GenBank accession number U09806*) (Figure 1). La taille des introns varie de 250 à 1,5 kb, avec une exception de 4,2 kb (17). Néanmoins, des nouvelles études ont révélé plus de 11 exons (18).

Le promoteur du gène *MTHFR* ne possède pas de boîte (TATA) mais contient des îlots (CpG) et de multiples sites de liaison potentiels pour Sp1(19).

En effet, plusieurs séquences consensus pour les sites de liaison potentiels des facteurs de transcription existent, tels que les SP1, AP1, AP2, CAAT ou GC-boîtes (20).

Plusieurs sites d'amorces de la transcription, d'épissage alternatif et de polyadénylation ont été observés pour *MTHFR* (21). Les sites de début de la transcription sont localisés dans deux régions, et deux promoteurs ont été caractérisés (22).

##### 3.1.2 Transcrits du gène *MTHFR*

L'analyse par la technique Northern blot a révélé la présence de transcrits du gène *MTHFR* d'environ 2,8 kb, ainsi que de 7,2-7,7 kb dans tous les tissus testés, et un autre d'environ 9,5 kb dans le cerveau, les muscles, le placenta et l'estomac (Figure 1) (17,19,21).

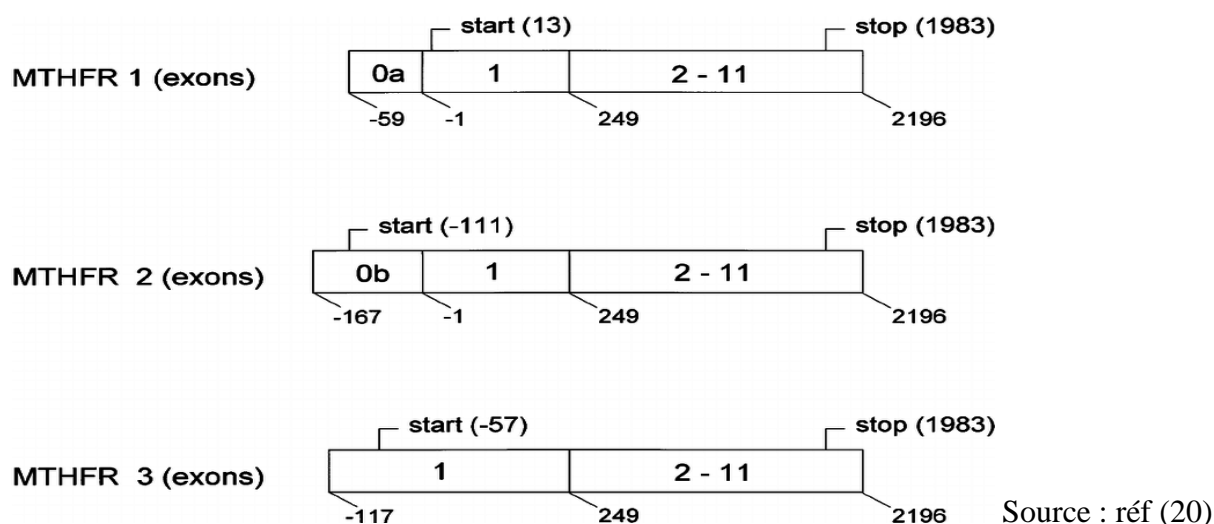
Ainsi, le *MTHFR* produit trois transcrits distincts (*MTHFR* 1, 2 et 3), correspondant respectivement aux tailles de 2,8, 7,2 et 9,8 kb (19).

Ces différentes tailles de transcriptions résultent des sites alternatifs de démarrage de la transcription et de multiples signaux de polyadénylation (23).

Bien que l'abondance totale soit relativement faible, la proportion de chaque transcription varie selon les tissus. L'expression globale est plus intense dans les testicules, intermédiaire dans le cerveau et les reins, et moins prononcée dans les autres tissus examinés (23).

L'existence de différents premiers exons est probablement due à l'initiation de la transcription alternative avec identification des premiers codons ATG individuels pour tous les transcrits ont été identifié (20).

Les ARNm de 2,8 et 7,2 kb proviennent de l'un des deux sites d'initiation de la transcription, situés respectivement à 206 et 243 pb en amont du codon d'initiation ATG. Quant à la transcription de l'ARNm de 9,8 kb, elle démarre à un site situé à 2,8 kb en amont du codon d'initiation de la traduction (19).



**Figure 1** : Différents transcrits du gène *MTHFR*.

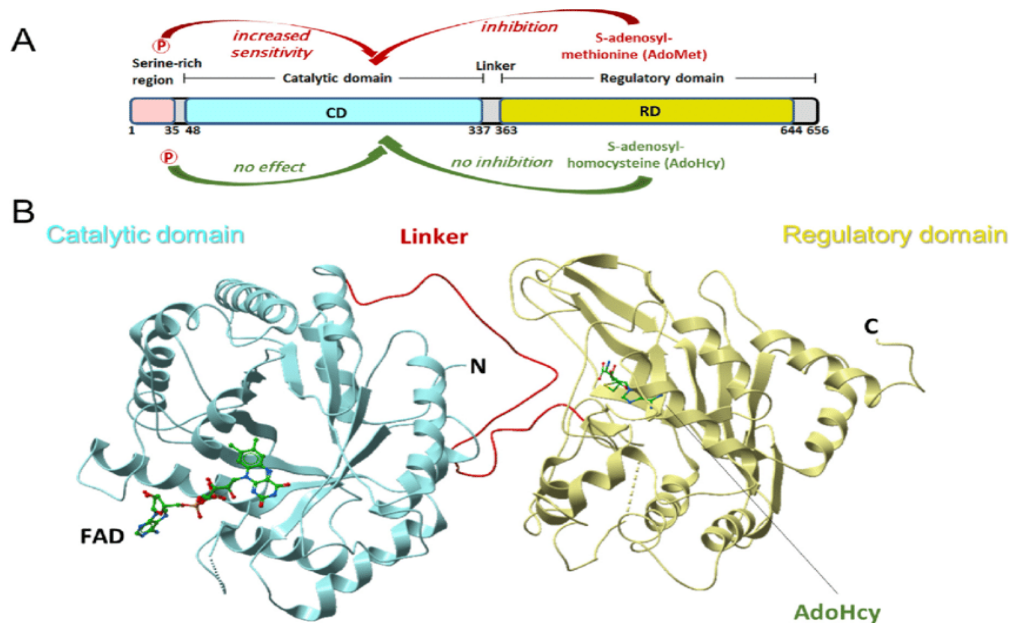
## 3.2 Protéine *MTHFR*

### 3.2.1 Structure et fonction

L'enzyme *MTHFR* humaine est un dimère de 150 kDas, composé de deux isoformes : l'une de poids moléculaire de 77 kDa et l'autre de 70 kDa.

L'expression de l'ADNc de 2,2 kpb donne lieu à une protéine de 70 kDa (3). Le site de démarrage de la traduction de l'isoforme de 77 kDa permet l'ajout de codons additionnels en amont de la séquence de l'isoforme de 70 kDa (21).

Ainsi, la *MTHFR* humaine est un homodimère, chaque sous-unité étant composée d'un domaine catalytique N-terminal (acides aminés, aa ~1 à 356) qui lie le méthylène THF, le NADPH et le FAD (cofacteur), et d'un domaine de régulation C-terminal (aa~363-656), reliés par une courte région de liaison (linker) (aa 357 - 362) (Figure 2). Il semble que le domaine catalytique soit suffisant pour accomplir l'ensemble de la réaction enzymatique (24).



Source : réf (25)

**Figure 2** : Représentation schématique et structurale du *MTHFR* humain.

**A.** Organisation du domaine de *MTHFR*. Les nombres donnés représentent les limites approximatives des acides aminés .

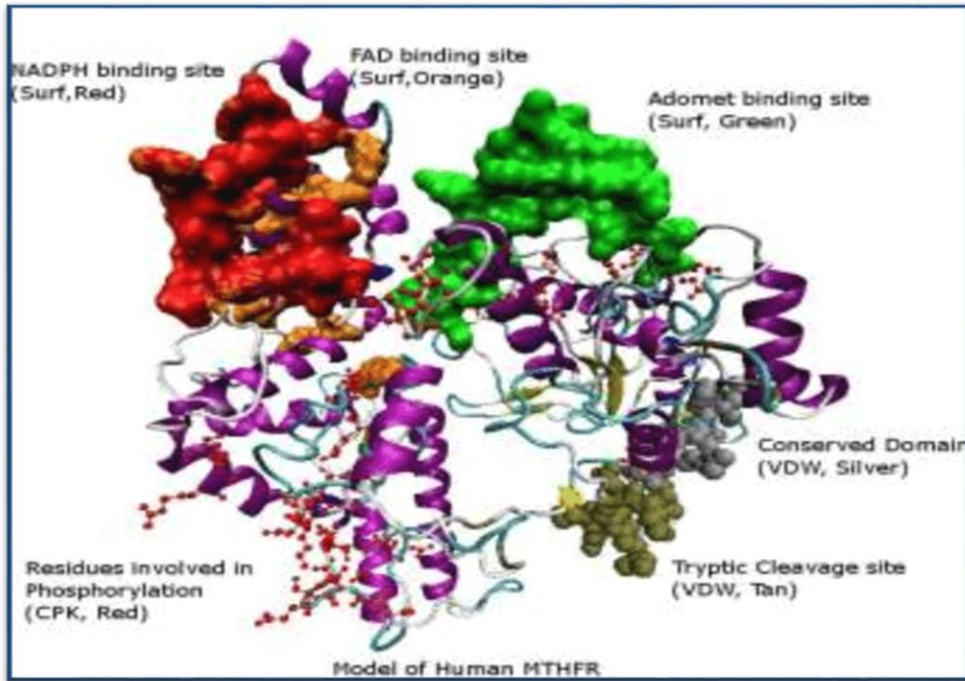
**B.** Structure illustrative de *MTHFR* basée sur *PDB* (Protein Data Bank)

Le domaine de régulation se lie à la S-adenosylmethionine (AdoMet), entraînant une inhibition allostérique de l'enzyme (26), effet réversible par la liaison à l'adénosyl homocystéine (AdoHcy) (27,28) (Figure 3). AdoHcy bloque l'effet inhibiteur d'AdoMet sur l'activité de la *MTHFR* (29) sans modifier directement l'activité enzymatique (30).

Entre les deux domaines de la *MTHFR* se trouve une région hydrophobe importante constituant un site de clivage par la trypsine. Après un traitement tryptique, la *MTHFR* des mammifères demeure active tout en perdant sa sensibilité à AdoMet (31).

Il a été démontré que la modification post-traductionnelle de la *MTHFR* humaine par phosphorylation est régulée par le rapport AdoMet–AdoHcy dans la cellule. La phosphorylation entraîne une diminution de l'activité et une sensibilité accrue à l'inhibition allostérique par AdoMet, cette phosphorylation étant confirmée pour la plus petite isoforme de *MTHFR* (70 kDa), bien que la phosphorylation de la plus grande isoforme (77 kDa) n'ait pas été examinée (31).

De plus, il a été souligné que la *MTHFR* peut être régulée positivement par le facteur NF- $\kappa$ B, un médiateur important de la survie cellulaire activé par le stress du réticulum endoplasmique (RE)(32).



Source : réf(33)

**Figure 3** : Un modèle de la structure de la *MTHFR* humaine.

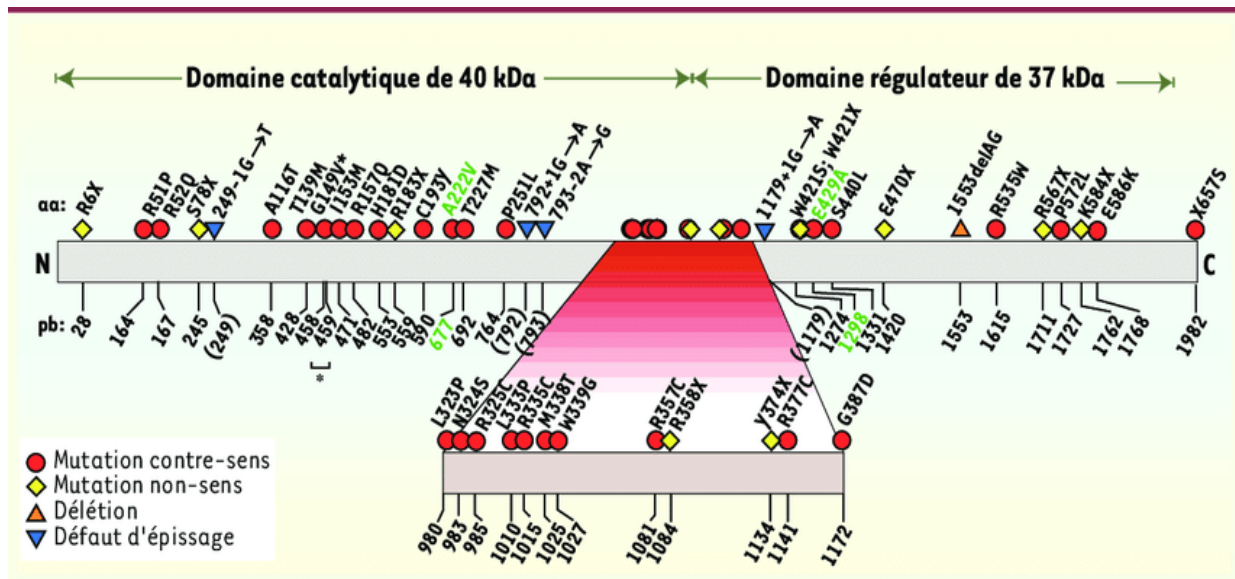
La *MTHFR* catalyse la réduction du 5,10- méthylène tétrahydrofolate (CH<sub>2</sub>THF) en 5- méthyl tétrahydrofolate (CH<sub>3</sub>THF), utilisant la flavine adénine dinucléotide (FAD) comme cofacteur (34). Les substrats physiologiques, NADPH et 5,10-MTHF sont essentiels ; NADPH réduit le FAD, et ce dernier assure la réduction subséquente du 5,10-MTHF (35).

L'activité de la *MTHFR* influence sur la disponibilité du CH<sub>2</sub>THF, ce qui a des répercussions sur la synthèse de l'ARN et de l'ADN. Le CH<sub>3</sub>THF est crucial pour la reméthylation de l'homocystéine (Hcy) en méthionine (MET), jouant un rôle essentiel dans la synthèse protéique et la méthylation de l'ADN ainsi que d'autres composés (CH<sub>3</sub>-X)(23). Étant donné que le produit CH<sub>3</sub>-THF est exclusivement utilisé par la méthionine synthase et que seule la forme déméthylée (THF) peut être recyclée dans le cycle du folate, la *MTHFR* oriente les unités monocarbonées liées au THF dans le cycle de la méthionine (36). Par conséquent, la *MTHFR* représente une enzyme régulatrice majeure du métabolisme des folates et de l'homocystéine (23).

### 3.3 Polymorphismes du gène *MTHFR*

Environ soixante polymorphismes de *MTHFR* ont été identifiés (37). Cependant, parmi eux, deux polymorphismes sont particulièrement courants et bien documentés dans le gène *MTHFR* : *C677T* et *A1298C* (Figure 4). Les implications fonctionnelles des autres polymorphismes ont été peu caractérisées ou demeurent inconnues (23). D'autres polymorphismes ont été signalés aux positions 1059 pb, 1289 pb, 1317 pb, et 1793 pb (38,39).





Source : réf (23)

**Figure 4** : Représentation schématique de 41 mutations du gène *MTHFR* avec les deux polymorphismes particulièrement étudiés.

### 3.3.1 Polymorphisme C677T du gène *MTHFR*

Kang et al. (1988) ont identifié un variant de l'enzyme *MTHFR* présentant une activité enzymatique réduite et une thermolabilité, appelé « *MTHFR* Thermolabile » ou variant thermolabile (40). Frosst et al. (1995) ont découvert une mutation faux-sens ou une cytosine en position 677 du gène *MTHFR* est remplacée par une thymine, engendrant la mutation commune C677T. Cette mutation autosomique récessive provoque la substitution de l'alanine par la valine. Les individus homozygotes pour cette mutation présente une activité spécifique réduite de la *MTHFR*, ainsi qu'une thermolabilité accrue de l'enzyme (3).

Chaque homodimère de l'enzyme *MTHFR* contient deux molécules de FAD (cofacteur) liées de façon non covalente au dimère et utilise NADPH (33).

La mutation C677T chez l'homme (A222V) et chez *E. coli* (A177V) augmente le taux de dissociation du FAD, conduisant à des modifications structurales de l'enzyme (28). Cette perte s'accompagne d'une dissociation des sous-unités et d'une sensibilité à la dénaturation thermique (35).

La mutation C677T affecte un résidu dans le domaine catalytique de l'enzyme (34,41). Bien que plusieurs résidus d'acides aminés critiques sur le plan catalytique dans le site actif de la *MTHFR* aient été identifiés à partir d'études structurales et biochimiques utilisant l'enzyme *E. coli* (42,43), les détails du mécanisme de réaction ne sont pas encore complètement compris. De plus, la régulation de l'activité de la *MTHFR* par AdoMet chez les mammifères n'a pas encore été pleinement élucidée (35).

Le *SNP* (*single-nucleotide polymorphism*) de ce gène réduit la thermostabilité de l'enzyme *MTHFR*, entraînant une diminution de l'activité de l'enzyme à des températures supérieures à 37°C. Ainsi, l'enzyme classique devient instable (44).

Les résultats ont montré que l'activité de l'enzyme *MTHFR* chez les individus homozygotes pour le polymorphisme *C677T* a diminué de 50-60% à 37 ° C et de 65% à 46 °C par rapport au groupe témoin (45). In vitro, les individus ayant le génotype *TT* ont présenté une activité enzymatique de la *MTHFR* réduite à 30% par rapport au type sauvage *CC*, tandis que ceux ayant le génotype hétérozygote *CT* ont montré une activité enzymatique de 60% par rapport à la protéine *MTHFR* (3).

La fréquence de l'allèle *T* varie considérablement en fonction de l'ethnie géographique des populations, avec des valeurs allant de moins de 10% chez les Africains (11).

### **3.3.2 Polymorphisme *C677T* de la *MTHFR* et l'hyperhomocystéinémie**

L'enzyme *MTHFR* joue un rôle crucial dans la reméthylation de l'homocystéine (Hcy) en méthionine, convertissant le 5,10-méthyltétrahydrofolate en 5-méthyltétrahydrofolate, la forme circulante et physiologiquement active des folates et des donneurs de groupements méthyles primaires pour la reméthylation (46). Une réduction significative de l'activité enzymatique de la *MTHFR* entraîne l'accumulation d'Hcy car la reméthylation de la méthionine devient compromise (47).

Divers rapports ont démontré une association entre l'allèle *T* et une concentration élevée d'Hcy dans le plasma. L'impact sur la concentration de l'Hcy est le plus prononcé chez les sujets homozygotes (*TT*) présentant des concentrations faibles en folate, suggérant que le statut en folate joue un rôle important dans la détermination de l'expression phénotypique de la protéine thermolabile (48).

Le folate peut stabiliser l'holoenzyme en augmentant l'affinité de l'enzyme pour un cofacteur critique, la flavine adénine dinucléotide (FAD), qui transfère les équivalents réducteurs du NADPH au méthylène tétrahydrofolate (7,34,41).

De plus, les travaux de Stern et al. (2000) ont montré que le génotype (*TT*) est associé à une méthylation plus faible de l'ADN dans les leucocytes périphériques par rapport au génotype (*CC*). Cette diminution de la biodisponibilité du 5-MTHF nécessaire à la biosynthèse de la S- adénosyl méthionine pourrait avoir des effets métaboliques secondaires, en plus de l'hyperhomocystéinémie (49).

### **3.3.3 Polymorphisme *A1298C* du gène *MTHFR***

Un autre polymorphisme du gène *MTHFR*, *A1298C*, résulte de la substitution de l'adénine par la cytosine au niveau de la position 1298 dans l'exon 7, aboutissant à la substitution du

glutamate par l'alanine au codon 429 dans le domaine C-terminal régulateur de l'enzyme. Ce polymorphisme est également associé à une réduction de l'activité de la *MTHFR* (in vitro), bien qu'il ne soit pas lié à la thermolabilité (50,51). En effet, cette mutation se localise à l'extrémité C-terminale de l'enzyme, dans le domaine de régulation de la S-adenosyl méthionine, pouvant entraîner une diminution de 40% de l'activité enzymatique du génotype variant(52). Contrairement à la mutation *C677T*, la mutation *A1298C* ne semble pas être associée à une élévation des concentrations plasmatiques d'homocystéine totale (tHcy) ou à des faibles concentrations plasmatiques en folate (53).

### 3.4 Polymorphisme *C677T* et maladies

Les polymorphismes du gène *MTHFR* sont directement liés à de nombreuses maladies, avec des implications variées du polymorphisme *C677T* du gène *MTHFR* sur plusieurs aspects ;

1. **Augmentation des taux d'homocystéine** : Cette élévation peut avoir des répercussions sur la vascularisation ou le développement des embryons (54).

2. **Perturbation de la synthèse de la méthionine et de la S-adenosyl méthionine** : Cette perturbation a des conséquences sur la synthèse des protéines ou les réactions de méthylation. De plus, l'homocystéine peut être convertie en S-adenosyl homocystéine, un inhibiteur de plusieurs méthyltransférases. Etant donné que les altérations de la méthylation de l'ADN influent sur l'expression génique, une déficience de la *MTHFR* peut influencer l'amorçage et le développement de processus oncogéniques(55).

3. **Redistribution des métabolites du folate** : Cela peut affecter la synthèse des purines et des pyrimidines, avec des conséquences sur la synthèse ou la réparation de l'ADN. Toute maladie multifactorielle associée à l'hyperhomocystéinémie peut être influencée par le variant *677T*. Malgré la multiplicité des recherches consacrée à ce polymorphisme, ses implications restent complexes et nécessitent une exploration approfondie pour comprendre pleinement son impact sur la santé humaine (23,56).

#### • Problèmes vasculaires

Étant donné que l'hyperhomocystéinémie se combine avec d'autres facteurs impliqués dans les maladies cardiovasculaires, le variant *677C→T* peut altérer la susceptibilité des individus à ces maladies multifactorielles. Des méta-analyses suggèrent que le génotype *677TT* peut constituer un facteur de risque modeste pour les accidents vasculaires cérébraux, la thrombose veineuse, et les maladies coronariennes, notamment en cas de carence en acide folique (57).

#### • Défauts du tube neural et autres anomalies congénitales

Des rapports antérieurs (58,59) ont signalé des taux élevés d'homocystéine plasmatique totale dans des familles touchées par des anomalies du tube neural. Un apport supplémentaire en

folates a démontré une réduction de l'incidence des défauts du tube neural. Le variant *677T* est le premier facteur de risque génétique proposé pour ces anomalies(60). Le risque est environ deux fois plus élevé si l'enfant ou la mère possède le génotype *677TT* (57). Des analyses préliminaires suggèrent une association entre le génotype *677TT* et l'occurrence de fentes palatines ou d'anomalies congénitales cardiaques, mais des études plus approfondies seraient nécessaires pour confirmer ces observations.

- **Complications de la grossesse**

Une méta-analyse a révélé que le génotype *677TT* est associé à une augmentation de 30 % à 40 % du taux d'avortement spontané, avec un effet plus prononcé au début de la grossesse. Ce génotype *677TT* augmente de 40 % le risque de complications vasculaires placentaires et de 20 % la probabilité de prééclampsie (57).

- **Troubles neuropsychiatriques**

Une association a été observée entre la schizophrénie et l'allèle *677T*. Cependant, d'autres études ont produit des résultats mitigés, probablement en raison de l'hétérogénéité des cas de schizophrénie (57). Une analyse portant sur 6 000 individus a indiqué que le génotype *677TT* entraîne une augmentation de 70 % du risque de dépression (23). Des recherches sur la démence et le déclin cognitif léger ont montré une augmentation des taux d'homocystéine plasmatique chez un nombre significatif de patients (23). Étant donné que la démence est caractérisée, entre autres, par un affaiblissement des vaisseaux sanguins irriguant le cerveau, le variant *677T* pourrait constituer un potentiel facteur de risque. Toutefois, le lien entre le polymorphisme et la démence d'origine vasculaire ou la maladie d'Alzheimer n'a pas encore été clairement établi (57).

- **Cancer**

Un apport insuffisant en folates prédispose au cancer colorectal. Paradoxalement, lorsque l'apport en acide folique est adéquat, le génotype *677TT* est associé à une diminution du risque de cancer colorectal. Il exerce également un effet protecteur dans le cas des leucémies lymphocytaires aiguës (23). Le mécanisme proposé pour expliquer ce phénomène repose sur une redistribution des folates, facilitant ainsi la synthèse de la thymidine et réduisant les risques de dommage à l'ADN. En cas d'apport insuffisant en folates, le génotype *TT* est associé à une augmentation du risque de certains cancers(61).

### **3.5 Autres polymorphismes**

Environ soixante de polymorphismes de *MTHFR* ont été répertoriés (37). Les variations au niveau des positions 677 et 1298 ont un impact sur l'activité de l'enzyme (23). Toutefois, le polymorphisme *1298A* → *C* n'a été étudié que de manière limitée. Contrairement au mutant

677, celui en position 1298 n'entraîne pas de thermolabilité. En présence de la substitution *1298A → C (E429A)*, l'activité de l'enzyme diminue d'environ 30 %, comparativement à une diminution d'environ 55 % observée avec l'allèle *677T*. Il est rare que les allèles *677T* et *1298C* se trouvent en configuration *cis* (23). Les répercussions fonctionnelles des autres polymorphismes demeurent peu caractérisées ou inconnues.

**MATERIEL**  
**ET**  
**METHODES**

## **4 Matériel et méthodes**

Ce travail s'inscrit dans le cadre du projet de *l'institut for Global Health*, financé par *le Northwestern University*, axé sur la recherche génétique et épigénétique du cancer du sein au Mali. L'étude a reçu l'approbation du Comité d'éthique de la Faculté de médecine et d'odontostomatologie/Faculté de pharmacie (2018/63/CE/FMPOS) de l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB), Mali.

### **4.1 Recrutement des participants**

Cette étude descriptive prospective a été menée sur 98 individus apparemment sains, recrutés au centre national de transfusion sanguine (CNTS) à Bamako entre juillet 2018 et janvier 2020.

#### **4.1.1 Critère d'inclusion**

Nous avons inclus dans cette étude tout participant des deux sexes qui :

- A donné son consentement libre et éclairé ;
- Est âgé de 18 à 65 ans ;
- Est apparemment en bonne santé ;
- Ne présente aucun antécédent de cancer ou de maladie chronique ;
- A fourni un échantillon de sang requis pour l'étude.

#### **4.1.2 Critères de non-inclusion**

Ne sont pas inclus dans l'étude les individus qui :

- Ont refusé de donner leur consentement ;
- Sont âgés de moins de 18 ans et de plus de 65 ans ;
- Ont des antécédents de cancer ou de maladie chronique ;
- Ont refusé de fournir l'échantillon requis pour l'étude.

### **4.2 Collecte des données**

Les données ont été recueillies au moyen d'un questionnaire préétabli, visant à établir pour chaque participant :

- Les données sociodémographiques :
  - Âge, sexe, profession ;
  - Statut et régime matrimonial ;
  - Ethnie, niveau d'instruction.

### **4.3 Prélèvement sanguin**

Un prélèvement sanguin de 5 ml a été effectué sur chaque participant afin d'isoler le matériel génétique (ADN) nécessaire aux tests génétiques. Les échantillons sanguins ont été collectés

dans des tubes contenant de l'EDTA et conservés à -20°C au centre de recherche et formation sur les pathologies moléculaires (CREFPAM) prévision des analyses ultérieures en biologie moléculaire.

#### ➤ **CREFPAM**

Affilié à la faculté de Pharmacie de l'USTTB et situé dans l'enceinte du Centre Hospitalo-Universitaire du Point-G, le CREFPAM, dirigé par un professeur d'Anatomo-pathologiste, est équipé de matériels de recherche biologique de dernière génération. Il dispose de différentes salles et équipements, notamment des machines de *RT-PCR*, des automates d'amplifications isothermiques (*ScreenFire*, d'*ATILA BioSystems*), des machines de *GenXpert*, des thermocycleurs, des centrifugeuses, des incubateurs, une salle d'électrophorèse, une chambre *PCR*, une chambre UV, des congélateurs, des réfrigérateurs, des ordinateurs, etc.

Le centre est composé de plusieurs professeurs et spécialistes dans divers domaines médicaux, couvrant la recherche, la formation, la prévention, et le diagnostic des pathologies moléculaires, en particulier les cancers.

### **4.4 Analyse moléculaire**

#### **4.4.1 Extraction de l'ADN génomique**

#### **4.4.2 Principe**

L'extraction d'ADN a été réalisée en utilisant le kit Genta Puregene sur le sang total, suivant les étapes suivantes : la lyse des globules rouges, la lyse des globules blancs, l'élimination des protéines, l'élimination d'autres acides nucléiques (ARN) et la précipitation avec l'isopropanol.

#### **4.4.3 Protocole**

##### **a. La lyse des globules rouges**

- Décongeler 3 ml de sang total.
- Compléter jusqu'à 12 ml avec la solution de lyse (*RBC*) prête à l'emploi, composée de 10 ml de Tris HCl PH 8,6 (1 M), 5 ml de MgCl<sub>2</sub> (1M), et 3 ml de NaCl (3M).
- Mélanger par inversion (10 fois).
- Laisser agir la solution de lyse pendant 5 min à la température ambiante.
- Centrifuger pendant 2 min à 2000g.

##### **b. Elimination des globules blancs et des protéines**

- Éliminer le surnageant tout en conservant le culot déposé au fond du tube avec un volume de 200 µl ;



- Ajouter 3 ml de la solution de lyse des globules blancs (CLS), une solution hypotonique avec Tris 1 M, EDTA 0,5 M et NaCl 5 M), et mélanger vigoureusement avec le vortex pendant 20 secondes ;
- Ajouter 1 ml de la solution de précipitation des protéines (PK) et mixer vigoureusement avec le vortex pendant 20 secondes ;
- Centrifuger pendant 5 min à 2000g ;
- Transférer le surnageant dans un nouveau tube flacon de 15 ml contenant 3 ml d'isopropanol préalablement refroidi.
- Mélanger en inversant le tube 50 fois. L'ADN apparaît sous forme de méduse ;
- Centrifuger pendant 2 min à 2000g, l'ADN se dépose au fond sous forme de culot blanc ;
- Éliminer le surnageant en faisant attention de ne pas drainer avec le culot d'ADN au fond. Pour se faire utiliser un papier absorbant ;
- Ajouter 3 ml d'éthanol à 70% et inverser le tube plusieurs fois pour laver l'ADN ;
- Centrifuger pendant 1 min 2000g tour ;
- Éliminer le surnageant sur un papier absorbant sans entraîner le culot d'ADN et laisser les tubes sécher à l'air libre pendant 5 à 10 min ;
- Ajouter 300 µl d'ADN de la solution d'hydratation, assurant que la méduse est bien au fond ;
- Incuber à 65°C au bain-marie pendant 1 heure pour dissoudre l'ADN ;
- Dissoudre l'ADN à la température ambiante toute la nuit en mixant gentiment.
- Les échantillons peuvent être centrifugés brièvement et transférés dans des cryotubes pour le stockage à -20°C pour une conservation à long terme ou à +4°C pour une utilisation très prochaine.

#### **4.5 Détermination de la qualité et de la concentration d'ADN**

##### **4.5.1 Critères d'évaluation de la qualité de l'ADN**

###### **➤ La taille des fragments d'acides nucléiques sur gel agarose**

La taille des fragments a été vérifiée par électrophorèse sur un gel d'agarose à 2%. Trois à cinq microlitres de la solution d'ADN ont été déposés dans chaque puits d'un gel soumis à une migration sous un courant de 100 volts pendant 20 min. Cette analyse permet d'observer toute dégradation éventuelle de l'ADN survenue au cours de l'extraction. Les grosses molécules d'ADN (pures) sont restées dans les puits.

###### **➤ La quantité et la pureté de l'ADN**

Le spectrophotomètre a été utilisé pour déterminer la pureté (qualité). Le maximum d'absorbance des acides nucléiques (l'ADN et l'ARN) se situe à 260 nm, en revanche celui

des protéines se situe à 280 nm. Le rapport  $R = A_{260}/A_{280}$  constitue un indicateur de la qualité de l'ADN. Ce rapport doit être compris entre 1.8 et 2. Une valeur inférieure à 1.6 témoigne d'une contamination protéinique. Cependant, une valeur supérieure à 2 indique une contamination par l'ARN.

#### 4.6 Génotypage du polymorphisme C677T du gène MTHFR

Le génotypage du polymorphisme C677T du gène MTHFR a été réalisé par la PCR-RLFP en utilisant les séquences d'amorces sens et antisens (tableau I) en suivant les étapes suivantes :

- La PCR et contrôle du produit sur gel d'agarose
- La digestion du produit de PCR par l'enzyme de restriction *Hinf I*
- La séparation des produits de digestion par migration électrophorétique sur un gel d'agarose à 2% et la détermination des différents génotypes par transillumination sous UV.

**Tableau I** : Amorces utilisées pour l'amplification du gène MTHFR

Amorces	Séquences nucléotidiques	Référence
<i>Forward</i>	5'-TGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGGA- 3'	Frosst <i>et al.</i> (1995)
<i>Reverse</i>	5'- GGACGGTGCGGTGAGAGTG- 3'	

##### 4.6.1 Principe de la PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

La technique d'amplification de l'ADN par PCR permet d'obtenir, par réplication *in vitro*, de multiples copies d'un fragment d'ADN spécifique et de longueur définie. Elle implique la réalisation d'une succession de réactions de réplication d'une matrice brin d'ADN. L'ADN est synthétisé via la polymérase de la bactérie thermophile *Thermus aquaticus* (Taq polymérase), en utilisant deux amorces oligo-nucléotidiques, une sens et l'autre antisens, complémentaires aux extrémités de la séquence cible à amplifier. Chaque cycle de PCR comprend trois étapes : dénaturation, hybridation et élongation.

##### 4.6.2 Préparation du produit de PCR

L'analyse du gène MTHFR consiste à amplifier la région exonique 4 du gène MTHFR. Cette région a été amplifiée dans un thermocycleur PTC200 dans un volume de 25 µl contenant :

- **10X Buffer** : tampon de réaction
- **2,5 mM Mg Cl<sub>2</sub>** : cofacteur facilitant la réaction
- **5 mM de dNTPs** : différentes bases azotées

- **5 pM des amorces (Tableau I)** : courtes séquences d'ADN spécifique de 20 à 30 nucléotides
- **5 U de la Taq polymérase** : enzyme thermorésistante isolée à partir de la bactérie « *Thermus aquaticus* », polymérise la chaîne d'ADN, recrute les bases azotées nécessaires en tenant compte de leurs complémentarités
- **100 ng d'ADN génomique**
- **Nuclease Free Water**: eau pure sans nuclease.

#### 4.6.3 Conditions d'amplification

Chaque cycle de la PCR comprend trois étapes indispensables : Dénaturation, hybridation et élongation. Les cycles d'amplification ont suivi ce protocole : 94 °C pendant 5 min, puis 35 cycles de 94 °C pendant 1 min, annelage à 55 °C pendant 1 min et 72 °C pendant 1 min, suivis d'une extension de 7 min à 72 °C.

#### 4.6.4 Analyse des produits d'amplification

Le contrôle des produits de PCR se repose sur la séparation et l'identification des fragments d'ADN amplifiés et d'éventuels fragments non spécifiques. Cette analyse a été réalisée sur un gel d'agarose à 2% dans une solution tampon (TBE 1X) avec l'agent intercalant BE (Bromure d'éthidium) à 0.5 µg/ml. Après électrophorèse, le gel a été exposé à la lumière ultraviolette (UV) d'un Transilluminateur pour visualiser les différents profils génotypiques.

#### 4.6.5 Digestion des produits de PCR

Le milieu de digestion de l'enzyme *HinfI* a été préparé selon (Tableau II)

Tableau II : Préparation de la solution de digestion enzymatique des produits PCR

Milieu de digestion	Quantité en µl
Tampon de <i>HinfI</i>	5 µl
<i>HinfI</i>	1 µl
H2O	4 µl
BSA ( <i>Bovine serum albumine</i> )	0,2 µl

#### 4.6.6 Digestion par l'enzyme de restriction *HinfI*

L'enzyme *HinfI* de la bactérie *Haemophilus Influenzae*, reconnaît et clive la séquence G/ANTC codant pour l'Alanine en position 222. Les produits de PCR sont soumis à une digestion enzymatique par *HinfI*, incubés toute la nuit dans un bain marie à 37 °C, puis concentrés au speed-vac (agitateur) pendant quelques minutes.

#### **4.6.7 Electrophorèse**

Préparer le gel d'agarose (2g d'agarose dans 100 ml de TBE 1X) avec du bromure d'éthidium, homogénéiser, couler immédiatement dans le support en plaques de verre évitant la formation de bulles. Placer le peigne plat pour former les puits et laisser polymériser à température ambiante pendant 15 minutes. Une fois polymérisé, plonger le système (gel + électrodes) dans la cuve horizontale contenant du tampon Tris/Borate/EDTA (TBE 1X). Retirer le peigne et déposer délicatement un échantillon au fond de chaque puits. La migration, à un voltage de 100 volts, s'effectue simultanément avec des fragments d'ADN, appelés marqueurs de taille, dont les tailles sont connues.

Lorsqu'une séparation nette des différents fragments du marqueur est obtenue (après 1h 30 mn), photographier le gel après transillumination aux UV.

#### **4.6.8 Interprétation des profils RFLP obtenus**

La digestion enzymatique de l'amplifiât de la *MTHFR* par la *HinfI* permet d'obtenir des fragments de 175 pb, correspondant au type homozygote muté (*TT*) sous forme d'une seule bande, et 198 pb, apparaissant également sous forme d'une seule bande, représentant le type homozygote sauvage (*CC*). La présence des deux bandes ensemble indique le type hétérozygote (*CT*).

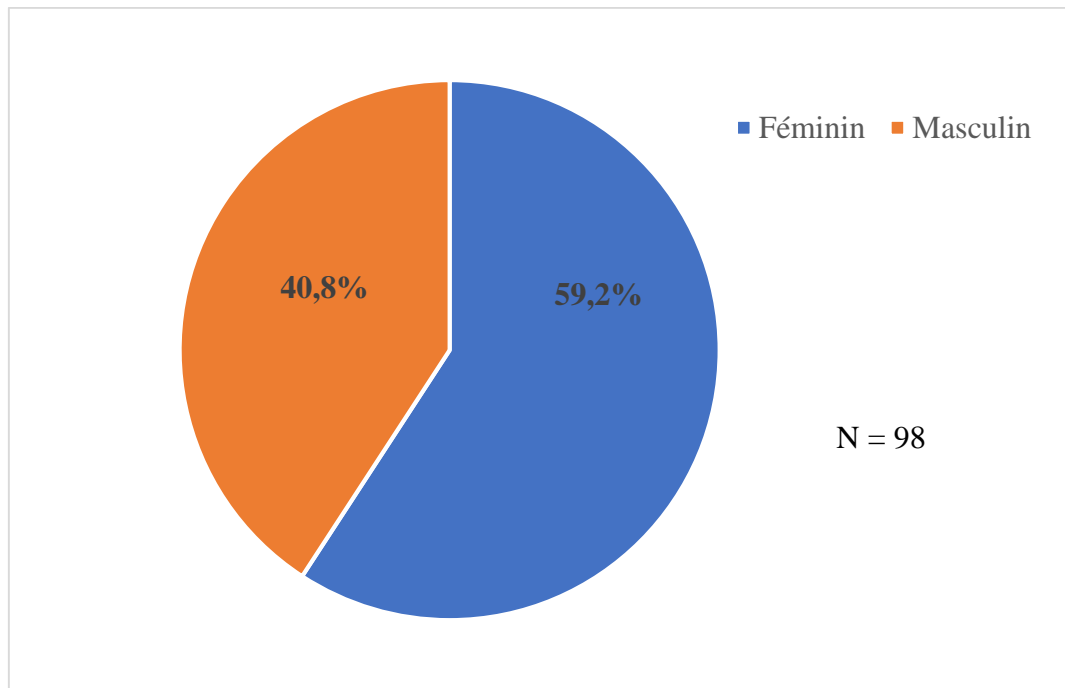
#### **4.7 Gestion des données**

Une saisie simple des textes a été réalisée avec le logiciel Word 2016, et les données recueillies ont été consignées dans le logiciel Excel 2016. Pour établir les fréquences génotypiques et alléliques du gène *MTHFR*, le logiciel SPSS 11.0 a été utilisé. Le test de  $\chi^2$  a été employé pour évaluer la différence dans la distribution des profils génétiques en fonction des caractéristiques sociodémographiques. Une valeur de  $p < 0,05$  a été considérée comme statistiquement significative.

# **RESULTATS**

## **5. Resultats**

### **5.1 Etudes des caracteristiques sociodemographiques**



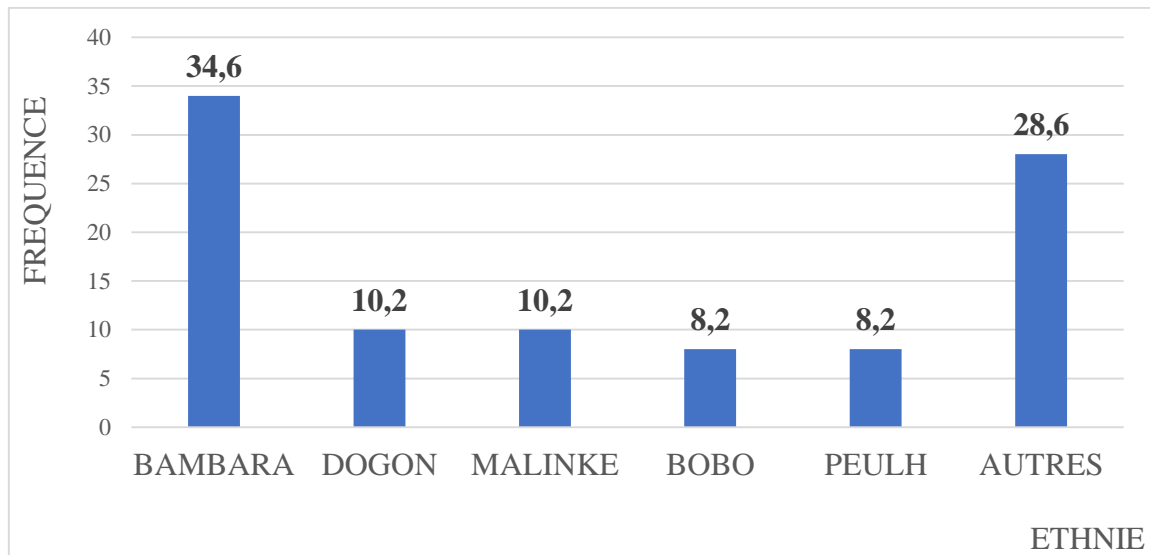
**Figure 5 :** Répartition de la population d'étude en fonction du sexe

La prépondérance était féminine, avec une représentation de 59,2% comparativement à 40,8% pour le sexe masculin.

**Tableau III :** La distribution des participants selon les intervalles d'âge

Intervalle d'Âge (Année)	Nombre	Fréquence (%)
≤ 35	72	73,5
>35	26	26,5
<b>Total</b>	98	100

La majorité des participants se situait dans la tranche d'âge inférieure ou égale à 35 ans, représentant ainsi 73,5%, avec une moyenne d'âge globale de  $30,72 \pm 11,28$ .



**Figure 6 :** Répartition des participants en fonction de l’ethnie

L’ethnie Bambara prédominait dans l’échantillon étudié, représentant ainsi 34,6% de la population.

**Tableau IV :** Répartition des participants selon le niveau d’instruction

Niveau d’instruction	Nombre	Fréquence
Non scolarisé	18	18,4
Primaire	26	26,5
Secondaire	41	41,8
Supérieur	13	13,3
<b>Total</b>	<b>98</b>	<b>100,0</b>

Les participants ayant un niveau d’instruction secondaire étaient les plus nombreux, représentant 41,8% de l’échantillon. Ils étaient suivis par ceux ayant un niveau d’instruction primaire (26,5%), les non-scolarisés (18,4%) et d’autres catégories.

**Tableau V** : Répartition des participants en fonction de leurs professions

<b>Profession</b>	<b>Nombre</b>	<b>Fréquence %</b>
Ménagère	26	26,5
Elève	23	23,5
Commerçant	15	15,3
Etudiant	10	10,2
Autres	24	24,5
<b>Total</b>	<b>98</b>	<b>100,0</b>

La répartition des participants selon leur profession a révélé que les ménagères étaient plus nombreuses, représentant 26,5%.

**Tableau VI** : Répartition de la population d'étude en fonction du statut matrimonial

<b>Statut matrimonial</b>	<b>Nombre</b>	<b>Fréquence</b>
Célibataire	44	44,9
Divorcé(e)	2	2,0
Marié(e)	52	53,1
<b>Total</b>	<b>98</b>	<b>100,0</b>

La répartition selon le statut matrimonial révèle que 53,1% de nos participants étaient mariés.



## 5.2 Études de distribution génotypiques et alléliques du polymorphisme C677T du gène MTHFR

**Tableau VII :** Distribution génotypique et allélique du gène *MTHFR* dans notre population d'étude

Génotypes N (%)			Allèles N (%)	
CC	CT	TT	C	T
88 (89,8)	10 (10,2)	0 (0,0)	186 (95)	10 (5)

Parmi les 98 sujets apparemment sains de cette étude, les porteurs du polymorphisme C677T *MTHFR* étaient au nombre de 10 (10,2%), tandis que ceux portant le génotype CC étaient au nombre de 88 (89,8%). Il est à noter que nous n'avons pas identifié d'homozygote muté TT parmi nos participants.

La fréquence allélique dans cette population d'étude était de 95% (n = 186) pour l'allèle C et de 5% (n = 10) pour l'allèle T.

**Tableau VIII :** Répartition des génotypes du gène *MTHFR* en fonction des intervalles d'âge

Intervalle d'Âge	Génotypes N (%)	
	CC	CT
≤35	64 (65,3)	8 (8,2)
>35	24 (24,5)	2 (2,0)
<b>Total</b>	88 (89,8)	10 (10,2)

**P = 0,19**

La distribution du polymorphisme C677T du gène *MTHFR* en fonction des intervalles d'âge, a révélé une fréquence plus élevée des hétérozygotes mutés chez les participants âgés de 35 ans ou moins (8,2%) par rapport que ceux âgé de plus 35 ans (2,0%).

Le tableau ne montre aucune différence statistiquement significative dans les tranches d'âge entre les différents génotypes CC et CT.

**Tableau IX :** Distribution génotypique du polymorphisme *C677T* en fonction du sexe

Sexe	Génotypes N (%)	
	CC	CT
Féminin	50 (51,0)	8 (8,2)
Masculin	38 (38,8)	2 (2,0)
<b>Total</b>	<b>88 (89,8)</b>	<b>10 (10,2)</b>

$$P = 0,10$$

En fonction du sexe la fréquence du génotype *CT* chez les femmes était significativement plus élevée que chez les hommes, bien que la différence ne soit pas statistiquement significative.

**Tableau X :** Distribution des génotypes en fonction de l'ethnie

Ethnie	Génotype N (%)	
	CC	CT
Bambara	31 (31,6)	3 (3,1)
Dogon	9 (9,2)	1 (1,0)
Malinké	8 (8,2)	2 (2,0)
Bobo	7 (7,1)	1 (1,0)
Peulh	7 (7,1)	1 (1,0)
Autres	26 (26,5)	2 (2,1)

$$P = 0,12$$

Le génotype *CT* était plus fréquent parmi les Bambaras, avec une fréquence de 3,1%.

**Tableau XI:** Distribution générale du gène *MTHFR* dans la population Africaine

Pays	N	CC N (%)	CT N (%)	TT N (%)	Références
<b>Afrique de l'Ouest</b>					
Mali	98	88 (89,8)	10 (10,2)	0 (0,0)	Notre étude
Burkina	182	163 (89,5)	18 (10)	1 (0,5)	(62)
Gambie	24	21 (87,5)	3 (12,5)	0 (0,0)	(63)
<b>Afrique de Nord</b>					
Maroc	102	54 (52,9)	45 (44,2)	3 (2,9)	(64)
Algérie	94	44 (46,8)	39 (41,5)	11 (11,7)	(65)
Egypte	100	45 (45,0)	49 (49,0)	6 (6,0)	(66)
Tunisie	113	58 (51,3)	42 (37,2)	13 (11,5)	(67)
<b>Afrique de l'Est</b>					
Kenya	61	55 (90,16)	6 (09,84)	0 (0,0)	(63)
<b>Afrique centrale</b>					
Cameroun	50	45 (90,0)	5 (10,0)	0 (0,0)	(68)
Rep Centrafrique	52	43 (82,7)	9 (17,3)	0 (0,0)	(63)
<b>Afrique du Sud</b>					
Madagascar	97	84 (86,6)	13 (13,4)	0 (0,0)	(63)
Sud-Afrique	163	144 (89)	18 (11)	0 (0,0)	(69)
Zambie	116	96 (82,8)	20 (17,2)	0 (0,0)	(70)

La distribution du gène *MTHFR* dans la population africaine révèle une fréquence élevée de la mutation dans la zone d'Afrique du Nord.

**COMMENTAIRES  
ET  
DISCUSSION**

## **6. Commentaires et discussion**

### **6.1 Caractéristiques sociodémographiques**

Les caractéristiques sociodémographiques de notre étude ont révélé une prédominance du sexe féminin, représentant 59,2% de l'échantillon. Cependant, une prévalence similaire (51 %) a été observée dans une étude Tunisienne en 2012 par Hadhri et *al.*(67).

En revanche, nos résultats sont inférieurs à ceux rapportés par Mabhida et *al.* En Afrique du Sud en 2022, avec une proportion de 77% (69). Ces variations peuvent être attribuées aux différences dans les méthodologies d'échantillonnage et aux caractéristiques démographiques spécifiques des populations étudiées.

Dans notre étude, la tranche d'âge inférieure ou égale à 35 ans prédominait, représentant 73,5% de l'échantillon, avec une moyenne d'âge globale de  $30,72 \pm 11,28$ . Ces résultats diffèrent de ceux rapportés par Mabhida et *al.* en Afrique du sud en 2022, où la moyenne d'âge était de  $28,77 \pm 04,51$  (69). Comparativement, notre moyenne d'âge était également inférieure à celle de Nefic et *al.*, en Bosnie en 2018 ( $34,85 \pm 14,58$ ), Sayyadi et *al.*, en Tunisie en 2018 ( $38,53 \pm 13,22$ ), Ghogomu et *al.*, au Cameroun en 2016 ( $52,16 \pm 08,40$ ), et Nasserredine et *al.* au Maroc en 2015 ( $59,24 \pm 10,7$ )(64,68,71,72). Ces variations peuvent être attribuées aux différences dans les populations étudiées et les protocoles d'échantillonnage.

### **6.2 Distribution génotypique et allélique du polymorphisme C677T du gène MTHFR**

Dans notre étude, nous avons exploré la distribution génotypique et allélique du polymorphisme C677T du gène MTHFR, un domaine riche en polymorphismes fonctionnels associés à la susceptibilité aux maladies. Le génotype CT était présent chez 10,2% de nos participants, une fréquence similaire à celle observée au Cameroun (10%) en 2016, en Afrique du Sud (11%) en 2022 (68,69), en Zambie (17,2%) en 2014 et en Inde (19%) en 2017 (70,73). Cependant, ces résultats étaient inférieurs à ceux observés dans plusieurs pays maghrébins, tels que l'Algérie, la Tunisie, le Maroc et l'Égypte (64–67,72,74), ainsi qu'à l'échelle mondiale, incluant la Turquie, l'Italie, la Bosnie-Herzégovine et la Colombie (71,75–77). La diversité de ces résultats peut être attribuée aux variations géographiques, ethniques et génétiques des populations étudiées, ainsi qu'aux habitudes alimentaires spécifiques à chaque région.

Notamment, l'absence d'homozygotes mutés (*TT*) dans notre échantillon était cohérente avec plusieurs pays africains (63,68–70), mais contrastait avec des fréquences observées ailleurs dans le monde (64,66,67,73,75,77).

L'analyse de l'allèle *T* mutant a révélé une fréquence de 5,0 % chez nos participants, comparable à celle rapportée dans d'autres pays africains, notamment le Cameroun (5,0%),

l'Afrique du Sud (5,0%), la Gambie (6,2%), les régions côtières et savanes du Togo (8,3%) et (5,9%) respectivement, le Bénin (10,0%), et la Zambie (9,0%) (63,68–70,78).

En revanche, cette fréquence était inférieure à celles observées dans des pays comme l'Inde (11 %), le Maroc (25,0 %), l'Égypte (25,0%), l'Algérie (34,3%), le Brésil (31,2 %), la France (36,1 %), l'Italie (41,4 %) et le Mexique (58,0 %) (63,64,66,73,74,76,78,79). La large distribution de l'allèle *T* mutant semble dépendre de la population étudiée et des origines ethniques.

En considérant le genre, la fréquence des génotypes *CT* et *TT* du gène *MTHFR* était légèrement plus élevée chez les femmes (8,2%) et (0,0%) respectivement, que chez les hommes (2,0%) et (0,0%) respectivement. Ces résultats étaient cohérents avec certaines études comme celle menée au Cameroun (68). Toutefois, des différences significatives ont été observées dans d'autres populations, telles que l'Égypte, la Chine, l'Inde et la Jordanie (66,73,80,81), soulignant l'influence potentielle des facteurs géographiques, ethniques et biologiques sur la sur la distribution des génotypes en fonction du sexe.

**CONCLUSION**

**ET**

**RECOMMANDATIONS**

## 7. Conclusion et recommandations

Dans cette étude, la distribution du polymorphisme *C677T* du gène *MTHFR* au sein de la population malienne n'a révélé aucune différence statistiquement significative. Nous avons observé une fréquence de 10,2% pour l'hétérozygote muté *CT* et de 0,0% pour l'homozygote muté *TT*. Nos résultats sont comparables à ceux de certaines populations africaines pour la distribution individuelle du polymorphisme *C677T*.

Cependant, afin de mieux évaluer l'association entre le polymorphisme *C677T* du gène *MTHFR* et certaines maladies, des études ultérieures de plus grande taille, incluant un dosage de l'acide folique sont recommandées. Ces recherches permettront d'approfondir notre compréhension des implications de ce polymorphisme dans les processus pathologiques.

A la lumière de ces résultats, nous formulons les recommandons suivantes :

### ➤ **Aux autorités politiques**

- Allouer des ressources financières conséquentes pour soutenir la recherche en génétique et pathologie moléculaire, notamment sur le polymorphisme *C677T* du gène *MTHFR* ;
- Encourager la mise en place des programmes nationaux de sensibilisation sur les implications des polymorphismes génétiques, visant à éduquer la population sur ces aspects complexes ;
- Favoriser la création des centres spécialisés en génétique médicale pour assurer un suivi et une prise en charge adéquate des individus identifiés avec des polymorphismes particuliers.

### ➤ **Aux chercheurs**

- Conduire des études approfondies à plus grande échelle, intégrant des échantillons diversifiés, pour mieux comprendre l'association entre le polymorphisme *C677T* et certaines maladies ;
- Investiguer davantage les implications cliniques et les mécanismes sous-jacents liés à ce polymorphisme, en collaboration avec des experts multidisciplinaires ;
- Intégrer le dosage de l'acide folique dans les protocoles d'étude pour évaluer l'impact de ce facteur sur les manifestations cliniques associées au polymorphisme.

### ➤ **À la population**

- Encourager la participation active dans les études génétiques en fournissant des échantillons, des informations médicales et en collaborant avec les chercheurs ;



- Sensibiliser la population sur l'importance de comprendre ses caractéristiques génétiques, notamment en favorisant l'accès à des informations éducatives et des programmes de conseil génétique ;
- Participer aux programmes de dépistage génétique, surtout en cas de facteurs de risque ou d'antécédents familiaux, pour permettre une meilleure prévention et une prise en charge des maladies liées au polymorphisme *C677T*.

# **REFERENCES**

## 8. References

1. Friso S, Choi SW, Poirier LA, Administration J, Ross SA. Trans-HHS Workshop: Diet, DNA Methylation Processes and Health Gene-Nutrient Interactions and DNA Methylation 1,2. *J Nutr.* 2002;132:2382–7.
2. Ducker GS, Rabinowitz JD. One-Carbon Metabolism in Health and Disease. Vol. 25, *Cell Metabolism.* Cell Press; 2017. p. 27–42.
3. Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet.* 1995;10(1):111–3.
4. Selzer RR, Rosenblatt DS, Laxova R, Hogan K. Adverse Effect of Nitrous Oxide in a Child with 5,10-Methylenetetrahydrofolate Reductase Deficiency. Vol. 349, *n engl j med.* 2003.
5. Kauwell GPA, Wilsky CE, Cerda JJ, Herrlinger-Garcia K, Hutson AD, Theriaque DW, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase mutation (677C → T) negatively influences plasma homocysteine response to marginal folate intake in elderly women. *Metabolism.* 2000;49(11):1440–3.
6. Jacques PF, Bostom AG, Williams RR, Ellison RC, Eckfeldt JH, Rosenberg IH, et al. Relation Between Folate Status, a Common Mutation in Methylenetetrahydrofolate Reductase, and Plasma Homocysteine Concentrations. *Circulation.* 1996 Jan 1;93(1):7–9.
7. Ueland M, Hustad S, Schneede J, Stein HR, Vollset E. Biological and clinical implications of the MTHFR C677T polymorphism. *TRENDS Pharmacol Sci.* 2001;22(4):195–201.
8. Yadav U, Kumar P, Gupta S, Rai V. Role of MTHFR C677T gene polymorphism in the susceptibility of schizophrenia: An updated meta-analysis. Vol. 20, *Asian Journal of Psychiatry.* Elsevier B.V.; 2016. p. 41–51.
9. Luo Z, Lu Z, Muhammad I, Chen Y, Chen Q, Zhang J, et al. Associations of the MTHFR rs1801133 polymorphism with coronary artery disease and lipid levels: A systematic review and updated meta-analysis. *Lipids Health Dis.* 2018 Aug 17;17(1):1–15.
10. Tang M, Wang SQ, Liu BJ, Cao Q, Li BJ, Li PC, et al. The methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism and tumor risk: Evidence from 134 case-control studies. *Mol Biol Rep.* 2014 Jul 1;41(7):4659–73.
11. Botto LD, Yang Q. 5,10-Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene Variants and Congenital Anomalies: A HuGE Review. *Am J Epidemiol.* 2000;151(9):862–77.
12. Mabhida SE, Muhamed B, Sharma JR, Apalata T, Nomatshila S, Mabasa L, et al. Populations : A Narrative Synthesis of Literature. *Genes (Basel).* 2022;13:631.
13. Xu L, Qin Z, Wang F, Si S, Li L, Lin P, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and colorectal cancer susceptibility: a meta-analysis. *Biosci*

Rep. 2017 Dec;37(6).

14. Ryan BM, Molloy AM, McManus R, Arfin Q, Kelleher D, Scott JM, et al. The methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene in colorectal cancer: role in tumor development and significance of allelic loss in tumor progression. *Int J Gastrointest Cancer*. 2001;30(3):105–11.
15. Muntjewerff JW, Hoogendoorn MLC, Kahn RS, Sinke RJ, Den Heijer M, Kluijtmans LAJ, et al. Chapter 4 Hyperhomocysteinemia, methylenetetrahydrofolate reductase 677TT genotype, and the risk for schizophrenia. A Dutch population based case-control study. *Am J Med Genet Neuropsychiatr Genet*. 2005;135(B):69–72.
16. Wang X, Fu J, Li Q, Zeng D. Geographical and ethnic distributions of the MTHFR C677T, A1298C and MTRR A66G gene polymorphisms in Chinese populations: A meta-analysis. *PLoS One*. 2016 Apr 1;11(4).
17. Goyette P, Pai A, Milos R, Frosst P, Tran P, Chen Z, et al. Gene structure of human and mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). *Mamm Genome*. 1998;9(8):652–6.
18. Aneji CN, Northrup H, Sing Au K. Deep sequencing study of the MTHFR gene to identify variants associated with myelomeningocele. *Birth Defects Res Part A - Clin Mol Teratol*. 2012;94(2):84–90.
19. Gaughan DJ, Barbaux S, Kluijtmans LAJ, Whitehead AS. The human and mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) genes: genomic organization, mRNA structure and linkage to the CLCN6 gene. *Gene*. 2000;257(2):279–89.
20. Homberger A, Linnebank M, Winter C, Willenbring H, Marquardt T, Harms E, et al. Genomic structure and transcript variants of the human methylenetetrahydrofolate reductase gene. *Eur J Hum Genet*. 2000;8(9):725–9.
21. Tran P, Leclerc D, Chan M, Pai A, Hiou-Tim F, Wu Q, et al. Multiple transcription start sites and alternative splicing in the methylenetetrahydrofolate reductase gene result in two enzyme isoforms. *Mamm Genome*. 2002;13(9):483–92.
22. Li D, Pickell L, Liu Y, Wu Q, Cohn JS, Rozen R. Maternal methylenetetrahydrofolate reductase deficiency and low dietary folate lead to adverse reproductive outcomes and congenital heart defects in mice. *Am J Clin Nutr*. 2005;82(1):188–95.
23. Leclerc D, Rozen R. Molecular genetics of MTHFR: Polymorphisms are not all benign. *Medicine/Sciences*. 2007;23:297–302.
24. Froese DS, Huemer M, Suormala T, Burda P, Coelho D, Guéant J, et al. Mutation update and review of severe methylenetetrahydrofolate reductase deficiency. *Hum Mutat*. 2016;37(5):427–38.
25. Bezerra GA, Holenstein A, Foster WR, Xie B, Hicks KG, Bürer C, et al. Identification of small molecule allosteric modulators of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) by targeting its unique regulatory domain. *Biochimie*. 2021;183:100–7.

26. Sumner J, Jencks DA, Khani S, Matthews RG. Photoaffinity labeling of methylenetetrahydrofolate reductase with 8-azido-S-adenosylmethionine. *J Biol Chem.* 1986;261(17):7697–700.
27. Matthews RG, Daubner SC. Modulation of methylenetetrahydrofolate reductase activity by S-adenosylmethionine and by dihydrofolate and its polyglutamate analogues. *Adv Enzyme Regul.* 1982;20:123–31.
28. Yamada K, Chen Z, Rozen R, Matthews RG. Effects of common polymorphisms on the properties of recombinant human methylenetetrahydrofolate reductase. *Proc Natl Acad Sci.* 2001;98(26):14853–8.
29. Kutzbach C, Stokstad ELR. [199] 10-Formyl tetrahydrofolate: NADP oxidoreductase. In: *Methods in Enzymology.* Elsevier; 1971. p. 793–8.
30. Ludwig ML, Matthews RG. Structure-based perspectives on B12-dependent enzymes. *Annu Rev Biochem.* 1997;66(1):269–313.
31. Yamada K, Strahler JR, Andrews PC, Matthews RG. Regulation of human methylenetetrahydrofolate reductase by phosphorylation. *Proc Natl Acad Sci.* 2005;102(30):10454–9.
32. Roy M, Leclerc D, Wu Q, Gupta S, Kruger WD, Rozen R. Valproic acid increases expression of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and induces lower teratogenicity in MTHFR deficiency. *J Cell Biochem.* 2008;105(2):467–76.
33. Shahzad K, Hai A, Ahmed A, Kizilbash N, Alruwaili J. A structured-based model for the decreased activity of Ala222Val and Glu429Ala methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) mutants. *Bioinformation.* 2013;9(18):929.
34. Guenther BD, Sheppard CA, Tran P, Rozen R, Matthews RG, Ludwig ML. The structure and properties of methylenetetrahydrofolate reductase from *Escherichia coli* suggest how folate ameliorates human hyperhomocysteinemia. *Nat Struct Biol.* 1999;6(4):359–65.
35. Igari S, Ohtaki A, Yamanaka Y, Sato Y, Yohda M, Odaka M, et al. Properties and crystal structure of methylenetetrahydrofolate reductase from *Thermus thermophilus* HB8. *PLoS One.* 2011;6(8):e23716.
36. Froese DS, Kopec J, Rembeza E, Bezerra GA, Oberholzer AE, Suormala T, et al. Structural basis for the regulation of human 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase by phosphorylation and S-adenosylmethionine inhibition. *Nat Commun.* 2018;9(1):2261.
37. Martin YN, Salavaggione OE, Eckloff BW, Wieben ED, Schaid DJ, Weinshilboum RM. Human methylenetetrahydrofolate reductase pharmacogenomics: gene resequencing and functional genomics. *Pharmacogenet Genomics.* 2006;16(4):265–77.
38. Trembath D, Sherbondy AL, Vandyke DC, Shaw GM, Todoroff K, Lammer EJ, et al. Analysis of select folate pathway genes, PAX3, and human T in a Midwestern neural tube defect population. *Teratology.* 1999;59(5):331–41.

39. Rady PL, Szucs S, Grady J, Hudnall SD, Kellner LH, Nitowsky H, et al. 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. *Am J Med Genet.* 2002;107(2):162–8.
40. Kang SS, Wong PWK, Zhou J, Sora J, Lessick M, Ruggie N, et al. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase in patients with coronary artery disease. *Metabolism.* 1988;37(7):611–3.
41. Matthews RG. Methylenetetrahydrofolate reductase: a common human polymorphism and its biochemical implications. *Chem Rec.* 2002;2(1):4–12.
42. Trimmer EE, Ballou DP, Matthews RG. Methylenetetrahydrofolate reductase from *Escherichia coli*: elucidation of the kinetic mechanism by steady-state and rapid-reaction studies. *Biochemistry.* 2001;40(21):6205–15.
43. Lee MN, Takawira D, Nikolova AP, Ballou DP, Furtado VC, Phung NL, et al. Functional role for the conformationally mobile phenylalanine 223 in the reaction of methylenetetrahydrofolate reductase from *Escherichia coli*. *Biochemistry.* 2009;48(32):7673–85.
44. Liew SC, Gupta E, Das M. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism: epidemiology, metabolism and the associated diseases. *Eur J Med Genet.* 2015;58(1):1–10.
45. Reitsma PH, Rosendaal FR. Past and future of genetic research in thrombosis. *J Thromb Haemost.* 2007;5:264–9.
46. Williams KT, Schalinske KL. New insights into the regulation of methyl group and homocysteine metabolism. *J Nutr.* 2007;137(2):311–4.
47. Škovierová H, Vidomanová E, Mahmood S, Sopková J, Drgová A, Červeňová T, et al. The molecular and cellular effect of homocysteine metabolism imbalance on human health. *Int J Mol Sci.* 2016;17(10):1733.
48. Brattström L, Zhang Y, Hurtig M, Refsum H, Östensson S, Fransson L, et al. A common methylenetetrahydrofolate reductase gene mutation and longevity. *Atherosclerosis.* 1998;141(2):315–9.
49. Stern LL, Mason JB, Selhub J, Choi SW. Genomic DNA hypomethylation, a characteristic of most cancers, is present in peripheral leukocytes of individuals who are homozygous for the C677T polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2000;9(8):849–53.
50. Weisberg I, Tran P, Christensen B, Sibani S, Rozen R. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. *Mol Genet Metab.* 1998;64(3):169–72.
51. van der Put NMJ, Gabreëls F, Stevens EMB, Smeitink JAM, Trijbels FJM, Eskes TKAB, et al. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural-tube defects? *Am J Hum Genet.* 1998;62(5):1044–51.

52. De Marco P, Calevo MG, Moroni A, Arata L, Merello E, Finnell RH, et al. Study of MTHFR and MS polymorphisms as risk factors for NTD in the Italian population. *J Hum Genet.* 2002;47(6):319–24.
53. Strauss E, Gluszek J, Pawlak AL. Age and hypertension related changes in genotypes of MTHFR 677C> T, 1298A> C and PON1-108C> T SNPs in men with coronary artery disease (CAD). *J Physiol Pharmacol.* 2005;56:65.
54. Junien C, Gallou-Kabani C, Vigé A, Gross MS. Nutritional epigenomics of metabolic syndrome. *Med Sci M/S.* 2005;21:44–52.
55. Deltour S, Chopin V, Leprince D. Modifications épigénétiques et cancer. *médecine/sciences.* 2005;21(4):405–11.
56. Holm PI, Ueland PM, Vollset SE, Midttun Ø, Blom HJ, Keijzer MBAJ, et al. Betaine and folate status as cooperative determinants of plasma homocysteine in humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25(2):379–85.
57. Vollset SE, Botto LD, Rozen Ueland PM, Rozen R. MTHFR polymorphisms and disease. *Georg TX Landes Biosci Eureka.com.* 2005;210.
58. Mills JL, Lee YJ, Conley MR, Kirke PN, McPartlin JM, Weir DG, et al. Homocysteine metabolism in pregnancies complicated by neural-tube defects. *Lancet.* 1995;345(8943):149–51.
59. Steegers-Theunissen RP, Boers GH, Blom HJ, Nijhuis JG, Thomas CMG, Borm GF, et al. Neural tube defects and elevated homocysteine levels in amniotic fluid. *Am J Obstet Gynecol.* 1995;172(5):1436–41.
60. van der Put NMJ, Trijbels FJM, van den Heuvel LP, Blom HJ, Steegers-Theunissen RPM, Eskes T, et al. Mutated methylenetetrahydrofolate reductase as a risk factor for spina bifida. *Lancet.* 1995;346(8982):1070–1.
61. Heijmans BT, Boer JMA, Suchiman HED, Cornelisse CJ, Westendorp RGJ, Kromhout D, et al. A common variant of the methylenetetrahydrofolate reductase gene (1p36) is associated with an increased risk of cancer. *Cancer Res.* 2003;63(6):1249–53.
62. Angius A, Simpore J, Persico I, Sassu A, Prodi DA, Musumeci S. Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene Polymorphisms in Burkina Faso : Impact on Plasma Fasting Homocysteine and after Methionine Loading Test. *clin Lab.* 2007;53(1–2):29–33.
63. JULIE A. SCHNEIDER, DAVID C. REES, YAN-TAT LIU AJBC. Worldwide Distribution of a Common Methylenetetrahydrofolate Reductase Mutation. *Am J Hum Genet.* 1998;62:1258–60.
64. Nassereddine S, Kassogue Y, Korchi F, Habbal R, Nadifi S. Association of methylenetetrahydrofolate reductase gene (C677T) with the risk of hypertension in Morocco. *BMC Res Notes.* 2015;8(1):1–5.
65. Hayat D, Mouloud Y, Abdelali B. Frequency and coexistence of the C677T and A1298C polymorphisms of the MTHFR gene in Aures region of Algeria. *Biodiversitas.*

- 2018;19(3):1169–75.
66. Aly RM, Taalab MM, Ghazy HF. MTHFR A1298C and C677T gene polymorphisms and susceptibility to chronic myeloid leukemia in Egypt. *Int J Clin Exp Pathol.* 2014;7(5):2571–8.
  67. Hadhri S, Rejab M Ben, Guedria H, Ifa L, Chatti N, Skouri H. Factor V Leiden , Prothrombin 20210G > A , MTHFR 677C > T and 1298A > C , and Homocysteinemia in Tunisian Blood Donors. *J Clin Lab Anal.* 2012;173(November 2011):167–73.
  68. Ghogomu SM, Ngolle NE, Mouliom RN, Asa BF, Clinic H, Hospital R. Association between the MTHFR C677T gene polymorphism and essential hypertension in. *Genet Mol Res.* 2016;15(1).
  69. Mabhida SE, Sharma JR, Apalata T, Masilela C, Nomatshila S, Mabasa L, et al. The association of MTHFR ( rs1801133 ) with hypertension in an indigenous south African population. *Front Genet.* 2022;13:937639.
  70. Atadzhanov M, Mwaba MH, Mukomena PN, Lakhi S, Mwaba P, Rayaprolu S, et al. Frequency of APOE, MTHFR and ACE polymorphisms in the Zambian population. *BMC Res Notes.* 2014;7(1):194.
  71. Nefic H, Mackic-djurovic M, Eminovic I. The Frequency of the 677C > T and 1298A > C Polymorphisms in the Methylenetetrahydrofolate Reductase ( MTHFR ) Gene in the Population. *MED ARCH.* 2018;72(3):164–9.
  72. Sayadi MA, Achour O, Ezzaher A, Hellara I, Omezzine A, Douki W. PRIMARY RESEARCH CT genotype ( MTHFR ) C677T polymorphism is protector factor of major depressive disorder in the Tunisian population : a case control study. *Ann Gen Psychiatry.* 2016;15(18):1–9.
  73. Yadav U, Kumar P, Gupta S, Rai V. Distribution of MTHFR C677T Gene Polymorphism in Healthy North Indian Population and an Updated Meta-analysis. *Indian J Clin Biochem.* 2017;32(4):399–410.
  74. Bourouba R, Houcher B, Djabi F, Eg Y, Akar N. Methylenetetrahydrofolate Reductase Prothrombin 20210 G-A Mutations in Healthy Populations in Sétif , Algeria. *Clin Appl Thromb.* 2009;15(5):529–34.
  75. Ekim M, Ekim H, Yilmaz YK. The prevalence of factor V leiden, prothrombin G20210A, MTHFR C677t and MTHFR A1298C mutations in healthy Turkish population. *Hippokratia.* 2015;19(4):309–13.
  76. Coppedè F, Stoccoro A, Tannorella P, Gallo R, Nicolì V, Migliore L. Association of polymorphisms in genes involved in one-carbon metabolism with MTHFR methylation levels. *Int J Mol Sci.* 2019;20(15):Int. J. Mol. Sci.
  77. Romero-Sánchez C, Gómez-Gutierrez A, Gómez PE, Casas-Gomez MC, Briceño I. C677t(rs1801133) MTFHR gene polymorphism frequency in a colombian population. *Colomb Med.* 2015;46(2):75–9.



78. Guéant-Rodriguez RM, Guéant JL, Debard R, Thirion S, Hong LX, Bronowicki JP, Namour F, Chabi NW, Sanni A, Anello G, Bosco P, Romano C, Amouzou E, Arrieta HR, Sánchez BE, Romano A, Herbeth B, Guillard JC MO. 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(3):701–7.
79. Lordelo GS, Miranda-Vilela AL, Akimoto AK, Alves PCZ, Hiragi CO, Nonino A, 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;11(2):1013–26.
80. Gao J, Xiu MH, Liu DY, Wei CW, Zhang X. Interactive effect of MTHFR C677T polymorphism and sex on symptoms and cognitive functions in Chinese patients with chronic schizophrenia. *Aging (Albany NY).* 2020;12(11):8–10.
81. Al-zoubi N, Alrabadi N, Kheirallah K, Alqudah A. Prevalence and Multiplicity of Thrombophilia Population Prevalence and Multiplicity of Thrombophilia Genetic Polymorphisms of FV , MTHFR , FII , and PAI- I : A Cross-Sectional Study on a Healthy Jordanian Population. *Int J Gen Med.* 2022;14:5323–32.

## 9. Annexes

### FICHE SIGNALÉTIQUE

**Prénom :** Amadou

**Nom :** GARIKO

**Titre :** Distribution du polymorphisme *C677T* du gène *methylene tetrahydrofolate reductase* (*MTHFR*) dans la population générale au Mali

**Année :** 2022-2023

**Nationalité :** Malienne

**Pays :** MALI

**Ville de soutenance :** Bamako

**Lieu de dépôt :** Bibliothèque de la Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie

**Secteur d'intérêt :** Épidémiologie, Génétique, Biologie Moléculaire

**Adresse électronique :** [gdjadie12@gmail.com](mailto:gdjadie12@gmail.com)

### Résumé

Le gène *MTHFR* code pour l'enzyme méthylène tétrahydrofolate réductase (*MTHFR*), crucial dans la conversion du 5,10-méthylènetétrahydrofolate en 5-méthyltétrahydrofolate, la principale forme de folate circulant. Les polymorphismes *MTHFR* les plus courants sont *C677T* et *A1298C*. Des études diverses ont signalé des associations entre le polymorphisme *C677T* du gène *MTHFR* et différentes pathologies, bien que des résultats contradictoires aient été rapportés. Cette étude visait à déterminer la fréquence de la mutation *C677T* du gène *MTHFR* chez la population malienne, afin de fournir des données essentielles pour des futures études d'association génétique. Nous avons évalué les fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme *C677T* du gène *MTHFR* en utilisant la technique *PCR-RFLP* chez 98 individus apparemment sains.

Ainsi nous avons observé que les fréquences des génotypes étaient respectivement, 89,8%, 10,2% et 0,0% pour les génotypes *CC*, *CT* et *TT*. L'allèle *T* représentait 5%.

Nous n'avons pas observé une différence statistiquement significative dans la distribution des génotypes en fonction des caractéristiques sociodémographiques.

Par ailleurs les fréquences observées au Mali étaient comparables à celles des pays de l'Afrique de l'Ouest, de l'Est, du Centre et du Sud, mais différentes des celles observées en Afrique du Nord.

**Mots clés :** *MTHFR C677T*, polymorphismes, *PCR-RFLP*, Mali.

## PERSONAL DETAIL CARD

**First name:** Amadou                      **Name:** GARIKO

**Title:** Distribution of the C677T polymorphism of the methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene in general population in Mali.

**Year:** 2022-2023

**Nationality:** Malian    **Country:** MALI

**City of defense:** Bamako

**Place of deposit:** Library of the Faculty of Medicine and OdontoStomatology

**Area of interest:** Epidemiology, Genetics, Molecular Biology

**E-mail address:** [gdjadie12@gmail.com](mailto:gdjadie12@gmail.com)

### Abstract

The MTHFR gene codes for the enzyme methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR), crucial in the conversion of 5,10-methylenetetrahydrofolate to 5-methyltetrahydrofolate, the main form of circulating folate. The most common MTHFR polymorphisms are C677T and A1298C. Various studies have reported associations between the C677T polymorphism of the MTHFR gene and different pathologies, although conflicting results have been reported. The aim of this study was to determine the frequency of the C677T mutation of the MTHFR gene in the Malian population, to provide essential data for future genetic association studies. We assessed the genotypic and allelic frequencies of the C677T polymorphism of the MTHFR gene using the PCR-RLFP technique in 98 apparently healthy individuals.

Genotype frequencies were 89.8%, 10.2% and 0.0% respectively for the CC, CT, and TT genotypes. The T allele accounted for 5%.

There was no statistically significant difference in genotype distribution according to socio-demographic characteristics.

Moreover, the frequencies observed in Mali were comparable to those in West, East, Central and Southern Africa, but different from those observed in North Africa.

**Keywords :** *MTHFR C677T*, polymorphismes, *PCR-RFLP*, Mali

## **SERMENT D'HIPPOCRATE**

En présence des Maîtres de cette faculté, de mes chers condisciples, devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Être suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail, je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.

Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs, ni à favoriser le crime.

Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.

Je garderai le respect absolu de la vie humaine dès la conception.

Même sous la menace, je ne permettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

Respectueux et reconnaissant envers mes maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

**JE LE JURE !**