

Etude familiale du magnésium érythrocytaire chez les leucémiques et aplasiques *) **)

De J. G. Henrotte*) et E. Gluckmann**)

RCP Magnésium et Oligo-éléments, CNRS, Faculté de Pharmacie, 75006 Paris*)

Laboratoire d'Immuno-hématologie et Unité INSERM, U 93, Hôpital Saint Louis, 75010 Paris**)

Zusammenfassung

MgE wurde bei 53 Familien mit Fällen von Leukämie und Knochenmarksaplasie bestimmt. Die betroffenen Patienten wiesen sehr viel höheres MgE auf als die anderen Familienmitglieder. Dieses Phänomen ist deutlicher bei Leukämie als bei Knochenmarksaplasie und scheint bei dieser Erkrankung mit dem Schweregrad in Zusammenhang zu stehen. MgE ist höher bei den Vätern der Patienten ($p < 0,02$) und den Geschwistern als in anderen gesunden Familien. Die mögliche Bedeutung einer genetischen Regulation des Mg und durch Mg wird diskutiert.

Summary

RBC Mg determinations have been performed on 53 families of leukemic and aplastic patients. The affected subjects reveal RBC Mg levels much higher than those of the other family members ($P < 0.001$). This phenomenon is more pronounced in leukemic than in aplastic patients and, among the latter, seems to be related with the severity of the disease. The RBC Mg level is higher among the patients fathers ($P < 0.02$) and sibs than among those of healthy families tested in similar conditions. The possible role of Mg and its genetic factors of regulation is discussed.

Resumé

Des dosages de MgE ont été effectués sur 53 familles de malades atteints de leucémie et aplasie. Les malades montrent des taux de MgE beaucoup plus élevés que ceux des autres membres de la famille ($P < 0.001$). Ce phénomène est plus marqué chez les leucémiques que chez les aplasiques et semble varier avec la gravité de l'affection chez ces derniers. Le taux du MgE est plus élevé chez les pères ($P < 0.02$) et les germains des malades que chez ceux de familles saines examinés dans les mêmes conditions. Le rôle éventuel du Mg et de ses facteurs génétiques de régulation est discuté.

* * *

Des études gémeillaires et familiales chez l'homme [1, 2, 3, 4, 5] et des investigations portant sur des lignées de souris consanguines [15] ont mis en évidence l'importance des facteurs génétiques dans la régulation du taux du Magnésium érythrocytaire (Mg E). Chez la souris comme

chez l'homme, certains de ces facteurs sont associés au complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) comme le montre l'existence de variations du Mg E en fonction des groupes HLA [10, 11, 12, 13] et des groupes H-2 [15]. L'ensemble des recherches faites dans ce domaine font d'ailleurs l'objet d'une revue de la littérature dans ce symposium [14].

D'autre part, chez la souris, diverses formes de leucémies ont été trouvées associées au CMH. Chez l'homme l'existence d'une association entre l'allèle HLA-A2 et la leucémie aiguë lymphoblastique est clairement indiquée par plusieurs travaux [7, 22]; de même, chez les malades atteints d'aplasie médullaire et d'anémie de *Fanconi*, un excès d'HLA-A2 a été également signalé [6]. Parmi les parents des sujets atteints d'aplasie et de leucémie, on note une fréquence plus grande de couples présentant des antigènes HLA-A et B communs [6, 26]. Le taux du Mg E et certaines formes de leucémies et d'anémies se présentent donc comme des caractères contrôlés, en partie tout au moins, par des facteurs génétiques associés directement ou indirectement au CMH. Il nous a paru dès lors intéressant d'explorer aussi l'éventualité d'une association de ces 2 caractères entre eux.

Dans ce but, nous avons déterminé les concentrations du magnésium érythrocytaire et plasmatique chez des malades atteints de leucémie, d'aplasie médullaire et d'anémie de *Fanconi*, et chez leurs apparentés sains. Seul le taux du Mg E présente des variations significatives; les résultats relatifs au Mg plasmatique ne seront donc pas pris en considération dans cette étude préliminaire.

Population et méthodes

Cette investigation a porté sur 53 familles dont 33 comportaient un enfant leucémique, 18, un aplasique et 2, une anémie de *Fanconi*. 35 de ces familles étaient d'origine française et 18 d'origine étrangère (Europe et Afrique du Nord). Les dosa-

*) avec la collaboration technique de A. Benech, G. Franck-Riquier, M. Pineau et J. Roullier.

** Résultats présentés au 3^e Symposium International sur le Magnésium, Baden-Baden, 22.—28. 8. 1981.

ges de Magnésium érythrocytaire ont été effectués par spectrophotométrie d'absorption atomique selon le procédé conseillé par *Rousselet* [21] chez tous les malades à l'exception de 5 d'entre eux décédés prématurément, chez 45 pères, 50 mères (les valeurs manquantes étant dues à l'absence ou au décès d'un des parents) et chez 72 frères et 58 sœurs sains de ces malades. Les prélèvements sanguins étaient effectués le même jour sur tous les membres de la famille à l'occasion de prélèvements destinés à la détermination des groupes HLA en vue d'une éventuelle greffe de moëlle osseuse. Les malades étant en général en rémission au moment de l'examen mais avaient le plus souvent déjà subi une chimiothérapie (dans le cas des leucémies) et des transfusions de sang (dans le cas des aplasies). Les sujets provenant des familles saines, dont les valeurs sont utilisées à titre de comparaison, sont des donneurs de sang du Laboratoire d'Immunohématologie, tous de nationalité française. Les prélèvements sanguins et les dosages minéraux ont été faits dans des conditions identiques et par les mêmes personnes que pour les familles de malades.

La signification statistique des différences entre moyennes des groupes a été déterminée par le calcul du *t* de *Student*; les distributions des valeurs ont été comparées au moyen du test de *Kolmogorov-Smirnov*.

Résultats

1. — Mg E des malades

Le taux du Mg E est toujours très élevé chez les enfants leucémiques quel que soit le diagnostic de l'affection (tableau 1). Des concentrations légèrement mais significativement plus basses ($P < 0.025$) sont observées chez les 14 aplasiques examinés. Parmi ces derniers, aucune variation en fonction du diagnostic (2 post-hépatite, 1 benzolique et 11 idiopathiques) n'est observée, en revanche le Mg E semble augmenter avec la gravité de l'affection (tableau 1). Les 2 sujets atteints d'anémie de *Fanconi* ont également des valeurs hautes (tableau 2). Dans tous les cas, les malades ont des valeurs considérablement plus élevées ($P < 0.001$) que celles de leurs parents ou germains sains quel que soit le sexe (tableau 2). La comparaison des enfants malades et de leurs frères et sœurs sains dans les mêmes tranches d'âge montrent que cette différence est indépendante de l'âge des sujets.

2. — Mg E des apparentés sains

Les valeurs moyennes en sont indiquées en fonction de la génération et du sexe dans le tableau 2. Elles sont proches des valeurs habituel-

Tab. 1: Concentrations du Mg érythrocytaire chez les malades en fonction du type d'affection et de son évolution.

* Deux cas de leucémie myéloïde chronique en transformation aiguë. L.A.: leucémie aiguë
n = effectif, m = moyenne, σ = écartype

GROUPES	Evolution de l'affection									TOTAL		
	Rémission ou amélioration			Décès			Autres cas					
	n	m	σ	n	m	σ	n	m	σ	n	m	σ
<i>Leucémies</i>												
L.A. myéloblastiques	11	61.06	4.13	1	49.20	—	2	60.50	2.83	14	60.13	4.87
L.A. monoblastiques	3	62.03	4.24	1	59.70	—	1	62.50	—	5	61.66	3.20
L.A. autres	0	—	—	2	62.20	3.39	3	68.50	4.23	5	65.98	4.87
L. myéloïde chronique	5	61.10	11.24	0	—	—	2*	67.80	0.42	7	63.01	9.74
TOTAL	19	61.22	6.30	4	58.33	6.50	8	65.58	4.48	31	61.97	6.19
<i>Aplasies médullaires</i>												
A. suraiguës	4	56.05	2.01	4	61.85	3.87	1	53.10	—	9	58.30	4.40
A. autres	3	56.10	7.90	0	—	—	2	56.55	2.76	5	56.28	5.76
TOTAL	7	56.07	4.78	4	61.85	3.87	3	55.40	2.79	14	57.58	4.81

lement considérées comme normales en Europe occidentale [16]. Aucune différence significative n'est observée entre français et étrangers. Toutefois lorsque l'on compare ces valeurs à celles de sujets provenant de familles saines examinées dans des conditions rigoureusement comparables, on constate que:

1. Les pères d'enfants malades ont une valeur moyenne supérieure ($P < 0.25$) à celle des pères de familles saines (tableau 3). Cette différence reste proche du seuil de signification même si parmi les pères d'enfants malades on ne tient compte que des 31 pères d'origine française ($P \approx 0.05$);

2. Un résultat similaire est obtenu si l'on compare les fils et les filles saines de familles malades aux fils et filles saines de familles saines (tableau 3); la différence restant significative ($P < 0.05$) dans le cas des filles lorsque l'on élimine les familles étrangères.

3. Aucune différence n'est constatée entre les mères d'enfants malades et les autres mères quel que soit l'âge.

La distribution des valeurs de Mg E des pères d'enfants malades a également été comparée à celle des pères de familles saines (fig. 1). Le test de *Kolmogorov-Smirnov* montre qu'elles sont

Tab. 2: Concentration du Mg érythrocytaire (en mg/L) chez des enfants leucémiques, aplasiques ou atteints de la maladie de Fanconi et leur famille. Les enfants malades ont des valeurs significativement plus élevées ($P < 0.001$) que leurs apparentés sains quel que soit le sexe ou la maladie. Les différences sexuelles sont significatives entre les parents $P < 0.005$ entre pères et filles saines ($P < 0.005$) et entre mères et fils sains ($P < 0.05$). Aucune variation significative n'est observée en fonction de l'origine française ou étrangère des sujets. Les malades aplasiques ont des valeurs plus faibles que les leucémiques ($P < 0.025$).

GROUPES	Leucémies			Aplasies			Fanconi			Total		
	n	m	σ	n	m	σ	n	m	σ	n	m	σ
<i>Parents sains</i>												
Pères français	23	54.49	4.54	7	54.89	5.09	1	50.20	—	31	54.44	4.58
Pères étrangers	6	56.13	6.11	7	54.53	5.02	1	54.50	—	14	55.24	5.15
Total	29	54.83	4.83	14	54.71	4.86	2	52.35	3.04	45	54.69	4.72
Mères françaises	24	51.18	6.21	8	50.20	6.02	1	43.70	—	33	50.72	6.12
Mères étrangères	7	51.80	3.62	9	52.47	6.36	1	50.50	—	17	52.07	5.04
Total	31	51.32	5.68	17	51.40	6.12	2	47.10	4.81	50	51.18	5.76
<i>Enfants sains</i>												
Fils français	32	52.89	4.42	13	52.17	4.72	0	—	—	45	52.68	4.47
Fils étrangers	16	54.03	5.34	11	54.22	4.47	0	—	—	27	54.11	4.91
Total	48	53.27	4.72	24	53.11	4.63	0	—	—	72	53.22	4.66
Filles françaises	17	54.10	3.53	15	49.96	3.61	1	48.8	—	33	52.06	4.06
Filles étrangères	13	50.08	4.66	12	51.61	4.49	0	—	—	25	50.82	4.55
Total	30	52.36	4.47	27	50.70	4.03	1	48.8	—	58	51.83	4.33
Enfants français	49	53.31	4.13	28	50.99	4.23	1	48.8	—	78	52.42	4.29
Enfants étrangers	29	52.26	5.34	23	52.86	4.58	0	—	—	52	52.53	4.98
Total	78	52.92	4.62	51	51.83	4.45	1	48.8	—	130	52.46	4.56
<i>Enfants malades</i>												
Fils français	12	61.58	5.64	6	57.80	6.91	0	—	—	18	60.32	6.16
Fils étrangers	7	64.47	9.13	5	58.30	2.97	0	—	—	12	61.90	7.67
Total	19	62.64	7.02	11	58.03	5.24	0	—	—	30	60.95	6.72
Filles françaises	10	60.88	5.13	2	54.60	2.12	1	62.6	—	13	60.05	5.12
Filles étrangères	2	61.10	1.98	1	58.60	—	1	60.5	—	4	60.33	1.65
Total	12	60.92	4.68	3	55.93	2.77	2	61.55	1.48	17	60.11	4.50
Enfants français	22	61.26	5.30	8	57.00	6.08	1	62.6	—	31	60.21	5.66
Enfants étrangers	9	63.72	8.08	6	58.35	2.66	1	60.5	—	16	61.51	6.65
Total	31	61.97	6.19	14	57.58	4.81	2	61.55	1.48	47	60.65	5.98

Tab 3: Concentrations du Mg érythrocytaire chez des sujets sains appartenant soit à des familles comportant un enfant atteint d'une maladie du sang (tableau 1), soit à des familles contrôles saines. Différences significatives en fonction de l'origine familiale: entre pères, $P < 0.025$ (1); entre fils, $P < 0.01$ (2); entre filles, $P < 0.025$ (3). En fonction du sexe pour l'ensemble des familles saines: entre pères et mères, $P < 0.025$, entre pères et fils, $P < 0.025$, entre pères et filles, $P < 0.001$.

Groupes	Familles pathologiques (maladie du sang)			Familles contrôles saines		
	n	m	σ	n	m	σ
Pères	45	54.69 (1)	4.72	269	52.57 (1)	5.26
Mères < 50ans	37	49.76	4.87	68	49.94	4.65
> 50ans	11	54.92	6.71	82	52.29	5.82
Total	50	51.18	5.76	150	51.23	5.43
Fils	72	53.22 (2)	4.66	84	51.11 (2)	4.97
Filles	58	51.83 (3)	4.33	95	50.08 (3)	4.91

significativement différentes au seuil de $P < 0.01$. La proportion des valeurs > 56 mg/L est nettement plus élevée (40 %) chez les premiers que chez les seconds (21,5 %). Le χ^2 d'association est égal à 7.20 ($P < 0.05$). L'effectif plus faible d'enfants dans les familles contrôles saines ne permet malheureusement pas de comparer valablement les distributions.

Discussion

1. — Mg E des malades

Une augmentation du Mg E a précédemment été signalée par Valberg et al. [25] chez des malades atteints de leucémie myéloïde chronique. En revanche ces auteurs trouvent des taux normaux dans les leucémies aiguës. Nos observations sont donc quelque peu différentes. L'augmentation du Mg E constatée tant chez les leucémiques que chez les aplasiques (la différence entre ces 2 groupes pouvant être attribuée au plus grand nombre de transfusions subies par les aplasiques) indique, en outre, qu'il s'agit d'un phénomène non spécifique, peut-être attribuable à une activation de l'érythropoïèse. Dans les deux affections, on observe en effet une augmentation du taux d'hémoglobine F et une sécrétion accrue d'érythropoïétine [8, 20, 23, 24]. Cette activation n'aboutit toutefois qu'à la formation d'un petit nombre d'érythrocytes jeunes, contrairement à ce qui se passe dans les conditions physiologiques.

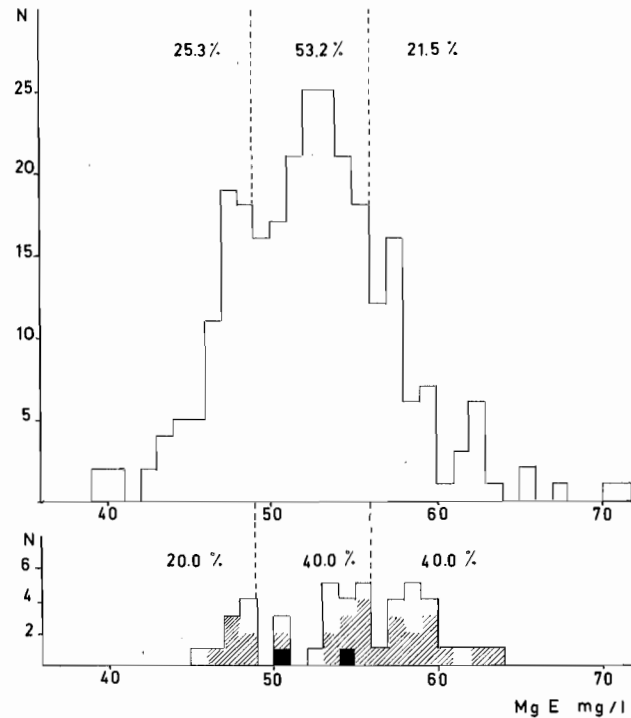


Fig. 1: Distribution des valeurs de Mg E (en mg/litre) des pères de familles saines, en haut, et des pères d'enfants leucémiques (hachuré), aplasiques (blanc) et atteints d'anémie de Franconi (noir) en bas. N = nombre d'individus. Les pourcentages de sujets dans chacun des 3 groupes formés à partir de l'histogramme du haut sont indiqués pour les deux distributions.

Dans ce dernier cas la production accélérée de globules rouges est associée à une augmentation du taux du Mg E, comme on le constate dans la crise réticulocytaire expérimentale [9] ou lors de l'acclimatation à l'altitude [17, 18]. A titre d'hypothèse, peut-on suggérer que chez nos malades, le peu d'érythrocytes produit par la moelle est suffisamment enrichi en Mg, pour provoquer l'élévation constatée. Ceci tendrait à indiquer que l'augmentation du Mg E est associée à une stimulation de la lignée érythrocytaire indépendamment de la réponse, normale ou diminuée, de la moelle.

2. — Mg E des apparentés sains

Les taux de Mg E plus élevés dans les familles de malades que dans les familles saines sont d'une interprétation délicate. Même si l'origine étrangère ou française des familles de malades ne semble pas interférer avec les résultats, il n'en reste pas moins vrai que l'échantillonnage de ces familles, consultant pour raison de santé d'un de ses membres, et celui des familles saines, volon-

taires recrutés par voie de presse, sont différents. Il importe donc d'être prudent et de confirmer cette observation sur d'autres échantillons de populations. Notons cependant qu'elle s'insère dans un ensemble cohérent. En effet, chez l'homme sain, la réponse immunitaire humorale à un antigène donné paraît être d'autant plus importante que le taux du Mg E est plus bas [19]. D'autres faits passés en revue par Henrotte [14] indiquent l'existence d'une relation entre hyperréactivité du système immunitaire et baisse du Mg E. Si l'on considère que le développement de maladies telles que la leucémie implique au contraire une diminution de l'immuno-compétence de l'organisme, l'existence d'un terrain familial hypo-réactif cadrerait bien avec celles de valeurs de Mg E élevées. Sont également en faveur de cette proposition, les corrélations calculées entre Mg E des parents et des enfants sains ($r = 0.660$, $P < 0.01$) et Mg E des parents et des enfants leucémiques ($r = 0.553$, $P < 0.01$). Elles indiquent l'existence d'un facteur familial qui n'est pas occulté chez les malades malgré l'importante modification de leur Mg E. Aucun argument ne permet toutefois d'appliquer cette hypothèse explicative aux cas de l'aplasie médullaire et de l'anémie de Fanconi.

Bibliographie

- [1] Darlu, P.: La variabilité en physiologie humaine et son interprétation génétique. Application au métabolisme minéral: Mg, Zn, Ca. Thèse Université Paris VII (1981).
- [2] Darlu, P., Henrotte, J. G.: The importance of genetic and constitutional factors in human red blood cell magnesium control. 2nd Int. Symp. on magnesium, Montréal, 1976. In: Cantin, M., Seelig, M. S. (ed): Magnesium in Health and Disease. Spectrum Publication, New York, (1980) 921—927.
- [3] Darlu, P., Moreau, T.: Twin studies of Blood Ionic Content. Prog. Clin. Biol. Research, **24 C** (1978) 177—185.
- [4] Darlu, P., Henrotte, J. G., Benech, A., Franck-Riquier, G., Pineau, M., Santarromana, M.: Genetic regulation of plasma, red blood cell and urinary magnesium. 3ème Symp. Int. Magnesium, Baden-Baden, août 1981. Magnesium Bulletin **3** (1 b), (1981) 7.
- [5] Darlu, P., Michotte, Y., Defrise-Gussenhoven, E., Henrotte, J. G.: The inheritance of plasma and red blood cell magnesium and zinc levels studied from twin and family data. 3rd Int. Congress Twin Studies, Jérusalem 1980. Acta Geneticae Medicae Gemellologiae **30** (1981) 67—75.
- [6] Dausset, J., Gluckman, E., Lemarchand, F., Nunez-Roldan, A., Contu, L., Hors, J.: Excès d'HLA-A2 et d'Homozygotes HLA-A2 parmi les malades atteints d'aplasie médullaire et maladie de Fanconi. Nouv. Rev. Franç. d'Hématologie **18** n° 2, (1977) 315—324.
- [7] Dausset, J., Hors, J.: Some Contributions of the HLA-A Complex to the Genetics of human Diseases. Transplant. Rev. **22** (1975) 44—74.
- [8] Dover, G. J., Boyer, S. H., Zinkham, W. H.: Production of Erythrocytes that contain fetal Hemoglobin in Anemia. The J. of Clin. Invest. **63** (1979) 173—176.
- [9] Ginsburg, S., Smith, J. G., Ginsburg, F. M., Reardon, J. Z., Aikawa, J. K.: Magnesium Metabolism of human and rabbit Erythrocytes. Blood **20** (1962) 722—729.
- [10] Henrotte, J. G.: Relations entre magnésium, zinc érythrocytaire et groupes HLA. C. R. Acad. Sc. Paris **285** Série D (1977) 737—739.
- [11] Henrotte, J. G.: Magnésium érythrocytaire et groupes HLA. C. R. Acad. Sc. Paris **289** Série D (1979) 445—447.
- [12] Henrotte, J. G.: The Variability of human red blood cell Magnesium Level according to HLA Groups. Tissue Antigens **15** (1980) 419—439.
- [13] Henrotte, J. G.: Relationship between red blood cell Magnesium and HLA Antigens. 4ème Congrès intern. Immunologie, Paris, 1980. Abstr. n° 8.5.25 (1980 b).
- [14] Henrotte, J. G.: Facteurs génétiques de régulation du métabolisme magnésique chez l'homme. 3ème Symp. Intern. sur le Magnésium, Baden-Baden, août 1981, Magnesium-Bulletin, **3** (1 a) (1981) 237—248.
- [15] Henrotte, J. G., Colombani, J.: Relation entre la magnésémie et le système H-2 de la souris. C. R. Acad. Sc. Paris Série III, **292** (1981) 789—791.
- [16] Henrotte, J. G., Durlach, J.: Magnésium et biométrie humaine, variabilité physiologique de la teneur en magnésium de l'organisme. 1er Symp. intern. sur le déficit magnésique en pathologie humaine, Vittel 1971. Durlach, J. (éd.) SGEMV, Vittel, **1** (1971) 91—109.
- [17] Henrotte, J. G., Constans, H., Constans, J., Bisseliches, F., Coudert, J.: Le magnésium érythrocytaire et plasmatique des populations amérindiennes du corridor interandin. Arch. Intern. Physiol. Bioch. **80** (1972) 941—944.
- [18] Henrotte, J. G., Depraetere, R., Ruffié, J.: L'ionogramme sanguin des populations amérindiennes du corridor interandin et les processus adaptatifs. C. R. Soc. Biol. **164** (3) (1970) 487—491.
- [19] Henrotte, J. G., Hannoun, C., Dausset, J.: Relation entre magnésium érythrocytaire et taux d'anticorps sériques après vaccination antigrippe chez l'homme. 3ème Symp. Int. sur le Magnésium, Baden-Baden, août 1981. Magnesium-Bulletin, **3** (16) [1981] 43.
- [20] Krantz, S. B., Jacobson, L. O.: Erythropoietin and the Regulation of the Erythropoiesis. Univers. of Chicago Press (ed.), Chicago (1970).
- [21] Rousselet, F.: Spectrophotométrie par absorption atomique appliquée à la biologie. Thèse d'Etat, S. E. D. E. S., Paris (1966).
- [22] Ryder, L. P., Svejgaard, A.: Associations between HLA and disease. Report from the HLA and diseases registry of Copenhagen (1976).
- [23] Sheridan, B. L., Weatherall, D. J., Clegg, J. B., Pritchard, J., Wood, W. G., Callender S. T., Durrant, I. J., McWhirter, W. R., Ali, M., Partridge, J. W., Thompson, E. N.: The patterns of fetal haemoglobin production in Leukemia. British Journal of Hematology **32** (1976) 487—506.
- [24] Spivak, J. L., Graber, S. E.: Erythropoietin and the regulation of erythropoiesis. The Johns Hopkins Medical Journal **146** (6) (1980) 311—320.
- [25] Valberg, L. S., Holt, J. M., Card, R. T.: Erythrocyte Magnesium, Copper and Zinc in Malignant Disease affecting the hematopoietic system. Cancer **19** (1966) 1833—1841.
- [26] Werner-Favre, Ch., Jeannet, M.: HLA compatibility in couples with children suffering from acute leukemia or aplastic anemia. Tissue Antigens **13** (1979) 307—309.

(For the authors: Dr. J. G. Henrotte, CNRS Equipe de Biom. Humaine, RCP Magnésium et Oligo-éléments, Faculté de Pharmacie, 4, avenue de l'Observatoire, F-75006 Paris)