

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université Constantine 1
Faculté des Science de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Animale



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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie Animale

Spécialité : Génétique Moléculaire

Intitulé :

**Étude du polymorphisme C677T de la méthylène tétrahydrofolate
réductase (MTHFR) associé au
Cancer de la prostate**

Présenté et soutenu par : CHETMI Rahma,

Le : Lundi 30/06/2014

MOUSSA Ramla.

Jury d'évaluation :

Président du jury : *Satta Dalila* (Professeur - Université Constantine I).

Rapporteur : *Ouldjaoui Ahmed* (MC.B - Université Constantine III),

Co-Rapporteur : *Rezgoune-Chellat Djalila* (MC.B - Université Constantine I).

Examineur : *Ziada-Bouchar Hadia* (MA.A - Université Constantine I).

**Année universitaire
2013/2014**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

*Au nom de Dieu
Le tout miséricordieux
Le très miséricordieux*

Remerciements

En préambule à ce mémoire, nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères

Aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce travail.

La première personne que tenons à remercier est **Mme Rezgoune- Chellat D** pour sa simplicité, ses précieux conseils, ses orientations, ainsi pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'elle a bien voulu nous consacrer et sans qui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.

Nos remerciements vont à **Mr Ouldjaoui Ahmed** pour son encadrement.

Nos remerciements à **Mr Rezgoune M Larbi** pour son aide considérable et son soutien.

Nous tenons à remercier sincèrement le professeur **D.SATTA**, pour sa générosité et la grande patience dont elle a su faire preuve malgré ses charges professionnelles.

On remercie aussi **Mme Ziada- Bouchar Hadia** qui a accepté d'examiner notre travail

Nos remerciements vont également à nos enseignants, leur disponibilité et leurs précieux enseignements nous ont été d'une grande utilité durant notre cursus universitaire. Nous exprimons aussi notre extrême gratitude à l'ensemble du corps médical de la clinique Rénal de Daksi

Pour finir nous adressons nos remerciements aux membres du jury et à l'Université Constantine 1, et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Merci 

Dédicaces

Je dédie ce travail fruit de tout un parcours universitaire à l'être le plus cher le plus exceptionnel à mon défunt père pour qui ce jour aurait été singulier et marqué d'une croix blanche car il aurait fier de ma réussite. Repose en paix papa ma promesse est tenue.

À qui m'a donné la vie le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, à ma mère ;

À mon très cher frère qui est toujours avec moi qui m'a jamais laissé Mohamed el Bachir

À mes très chères sœurs : Amany et Mordjana sans elles la vie n'a pas d'esprit ;

À mon amie intime et sœur Maria ;

À celle sans laquelle ce travail ne serait pas aussi fructueux à mon amie Ramla ;

À tous mes oncles, toute mes tantes, mes cousins et cousines ;

À tous mes amis et exceptionnellement Soumia, Asma, Kahina, Sara ;

À toute ma promotion de la génétique moléculaire ;

À tous cœur qui m'aime et cœur que j'aime.

Rahma

Dédicaces

Je dédie ce modeste mémoire aux deux personnes qui mes sont les plus chères au monde qui me comblent de leur amour, leu affection et soutiens : Mon père et ma mère.

À mon fiancé Ramdane qui été toujours avec moi.

A mes beaux parents

À mes très chèresfrères et sœurs

A mes oncles, tante cousin et cousine

A celle qui a été avec moi dans ce travail Rahma

A tous mes amis

Ramla

Liste des abréviations

BET : Bromure d'ETHidium.
CaP : Cancer de la prostate.
CHUC : Centre Hospitalo-Universitaire de Constantine.
CPRC : Cancers de la Prostate Résistants à la Castration.
dATP:désoxyAdénosine Tri-Phosphate.
dCTP:DésoxyCytosine Tri-Phosphate.
DHT : Di-Hydro-Testostérone.
ddNTP :di-désoxyribo-Nucléotide Tri-Phosphate.
dGTP:désoxyGuanosineTri-Phosphate.
dNTP:désoxyribo-Nucléotide Tri-Phosphate
DO :DensitéOptique.
dTTP:DésoxyThymidineTri-Phosphate
EDTA:Ethylene DiaminoTetra acetic Acid.
GB: Globules Blancs.
GDNF: Glial Derived Nerotrofic Factor.
GR : Globules rouges.
HBP : Hypertrophie Bénigne de la Prostate
IRM : Imagerie par RésonanceMagnétique.
MIBG:Mono-Iodo-Benzyl-Guanidine.
MTHFR : Méthylène Tétra-Hydro-Folate Réductase.
NSE :Neuron- SpecificEnolase.
PAP : Phosphatases Acides Prostatiques.
PCR : Polymerase Chain Reaction.
PSA : Prostatic AcidePhsphatase.
SDS:Sodium DodècyleSulfate.
SNP: Single NucleodidePolymorphism.
TAC: Transit AmplifingCells.
Taq :*Thermusaquaticus*.
TBE:Tris-Borate-EDTA.
TDM:Tomo-Densito-Mètrie.
TE:Tris EDTA.
TNM:Tumors Node Metastase.
TM: Temperature Melting.
RA :Récepteur aux Androgènes
TR : Touché Rectale.
UV: Ultraviolet.

Table des matières

Introduction	Page 01
---------------------------	----------------

Partie Bibliographique

Chapitre I : La prostate

1- Anatomie	2
a- Zone périphérique.....	3
b- Zone transitionnelle	3
c- Zone centrale.....	3
2- Physiologie	3
3- Histologie	4
3.1. Épithélium prostatique	4
3.2. Stroma prostatique	4
4- Interaction épithélium-mésenchyme	5

Chapitre II : Cancer de la prostate

1- Épidémiologie	6
1.1 Dans le monde	6
1.2 En Algérie.....	7
2- Symptômes	7
3- Facteurs de risque	8
3.1. L'âge.....	8
3.2. Facteurs génétique.....	8
3.3. L'origine ethnique.....	8
3.4. Le tabac.....	8
3.5. L'Alcool.....	8
3.6. Facteurs hormonaux.....	8
3.7. L'obésité.....	8
3.8. Le régime alimentaire.....	8
4- Classification	9
4.1. Classification TNM 2010	9

4.2. Classification de Gleason.....	9
5-Diagnostique	9
6-Traitement	9
6.1. Traitement des formes localisées.....	9
6.1.1. La prostatectomie radicale.....	9
6.1.2. Radiothérapie externe.....	9
6.1.3. Curiethérapie.....	9
6.2. Traitement des formes métastasé.....	9
6.2.1. Hormonothérapie.....	9
6.2.2. Chimiothérapie.....	9

Chapitre III : Génétique du cancer de la prostate

1- Les formes familiales	10
1.1. Formes familiales et altération génétique.....	11
1.2. Cancer de la prostate et autre cancer.....	11
2- Les formes sporadiques	11
2.1. Altération cytogénétique et pertes d'hétérozygotie.....	11
2.2. Altération génétique et épigénétique.....	12
2.2.1. Le gène AR.....	12
2.2.2. Le gène ERBB2.....	12
2.2.3. Le gène Bcl2.....	13
2.2.4. Le gène MYC.....	13
2.2.5. Le gène RAS.....	13
3- Le polymorphisme du gène <i>MTHFR</i> et cancer prostatique	13
3.1. Gène de la <i>MTHFR</i>	13
3.2. Polymorphisme C677T du gène de la <i>MTHFR</i>	14

Partie Pratique

1- Patients et méthodes	15
1.1. Population témoins.....	15
1.2. Population malades.....	15
2- Les prélèvements biologiques.....	16
3- Etude génétique	16
3.1. Extraction de l'ADN.....	16
3.2. Recherche de la mutation C677T du gène codant la <i>MTHFR</i>	20

Résultats	24
1 .La réparation en tranche d'âge	24
2. La réparation des patients selon le stade de la tumeur	25
3. La réparation des patients selon la consommation d'alcool et de tabac	25
4. Réparation des fréquences génotypiques, alléleques et association au risque du Cap	27
Discussion	29
Conclusion	32
Références bibliographiques	33
Annexes	
Résumés	

Liste des figures

Figure 01 : Position de la prostate dans l'appareil génital masculin.....	02
Figure 02 : Représentation de la prostate.....	02
Figure 03 : Représentation des zones de la prostate.....	03
Figure 04 : Relation entre les différents types cellulaires de la prostate.....	04
Figure 05 : Critères cliniques de reconnaissance des formes héréditaires du cancer de la prostate....	10
Figure 06 : Localisation de gène <i>MTHFR</i> sur le chromosome1.....	14
Figure 07 : Le thermocycleur.....	21
Figure 08 : Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose à 2% des fragments amplifiés par PCR.....	22
Figure 09 : Site de restriction de l'enzyme <i>Hinf I</i>	22
Figure 10 : Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose des fragments après digestion par <i>Hinf I</i>	23
Figure 11 : Répartition des patients et des témoins en tranche d'âge.....	24
Figure 12 : Répartition des patients selon le stade de tumeur.....	25
Figure 13 : Répartition des malades selon la consommation d'alcool.....	26
Figure 14 : Répartition des malades selon la consommation du tabac.....	26
Figure 15 : Répartition des fréquences génotypiques de la <i>MTHFRC677T</i> chez les sujets témoins et les sujets CaP.....	28
Figure 16 : Répartition des fréquences alléliques de la <i>MTHFRC677T</i> chez les sujets témoins et les sujets CaP.....	28

Liste des tableaux

Tableau I : Préparation du milieu réactionnel de PCR pour <i>MTHFR</i>.....	20
Tableau II: Programmation des cycles de PCR.....	21
Tableau III : Préparation du milieu de digestion par l'enzyme Hinf I.....	23
Tableau IV : Répartition par tranche d'âge des patients et témoins.....	24
Tableau V : La répartition des patients selon le stade de la tumeur.....	25
Tableau VI : Répartition des malades en fonction de la consommation d'alcool.....	25
Tableau VII : Répartition des malades selon la consommation du tabac.....	26
Tableau VIII: Répartition des fréquences génotypiques et alléliques de la <i>MTHFR</i>C677T chez les sujets témoins et les sujets CaP.....	27

Le cancer de la prostate (CaP) est un adénocarcinome, qui touche les hommes âgés de plus de 50 ans (1). Ce cancer est le plus fréquent des cancers urologiques(2). Il apparaît comme la deuxième cause de mortalité par cancer chez les hommes et la première chez les hommes de plus de 70 ans(3).

En 2011, le nombre de nouveaux cas de cancer de la prostate (CaP) en France est estimé à 71000 (4). En Algérie selon les chiffres de l'Insp, 3000 nouveaux cas déclarés sont annuellement enregistrés(5,6).

Le diagnostic de première intention devant une prostate augmentée de volume au toucher rectal (TR) en association avec le dosage du PSA total. Un TR suspect est une indication de biopsies prostatiques (7,8,9).

Le cancer de la prostate se développe à partir d'une cellule normale, qui se transforme et se multiplie de façon anarchique, formant une masse appelée tumeur(10).

Les anomalies de méthylation de l'ADN sont les altérations épigénétiques les plus fréquemment observées dans les tumeurs notamment le cancer prostatique(11).

Le métabolisme des folates implique plusieurs gènes étudiés. La MTHFR (Méthylène Tetra-Hydro-Folate Réductase) convertit le 5,10 méthylentetrahydrofolate en 5 méthyl-tetrahydrofolate, qui est la forme la plus commune du folate dans le sang. Deux polymorphismes du gène *MTHFR* (C677T et A1298C) ont été décrits et associés au risque de plusieurs cancers(12,13,14).

Notre travail consiste à :

- ✓ Dépister les facteurs de risques les plus courants chez les sujets présentant le cancer prostatique.
- ✓ Apprendre et appliquer les techniques de biologie moléculaire : Extraction d'ADN PCR /RFLP.
- ✓ Recherche d'éventuelles associations entre le polymorphisme C677T du gène de la *MTHFR* et le risque du cancer de la prostate.

La prostate est une glande qui se trouve uniquement au niveau de l'appareil génital de l'homme, sa fonction principale est de sécréter et de stocker le liquide séminal, l'un des constituants du sperme(15).

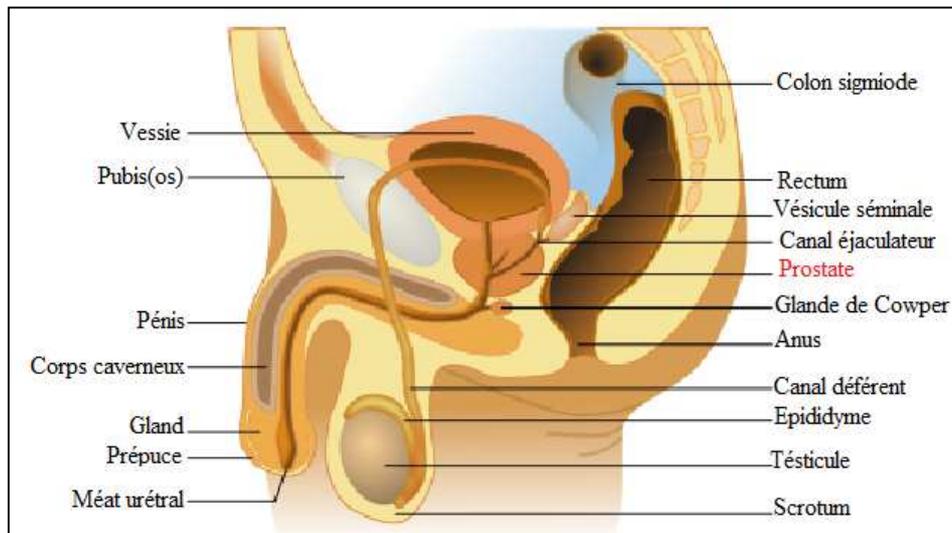


Figure01 : Position de la prostate dans l'appareil génital masculin(15).

1. Anatomie de la prostate

La prostate est une glande qui fait partie des appareils reproducteur et urinaire de l'homme situé sous la vessie, elle a une forme ovalaire avec un bout arrondi. Elle est formée de 2 lobes qui entourent l'urètre, lequel transporte l'urine de la vessie au pénis en passant par la prostate. La prostate saine a la forme d'une châtaigne (3 cm de haut, 2,5 cm de profondeur, 4 cm de largeur).

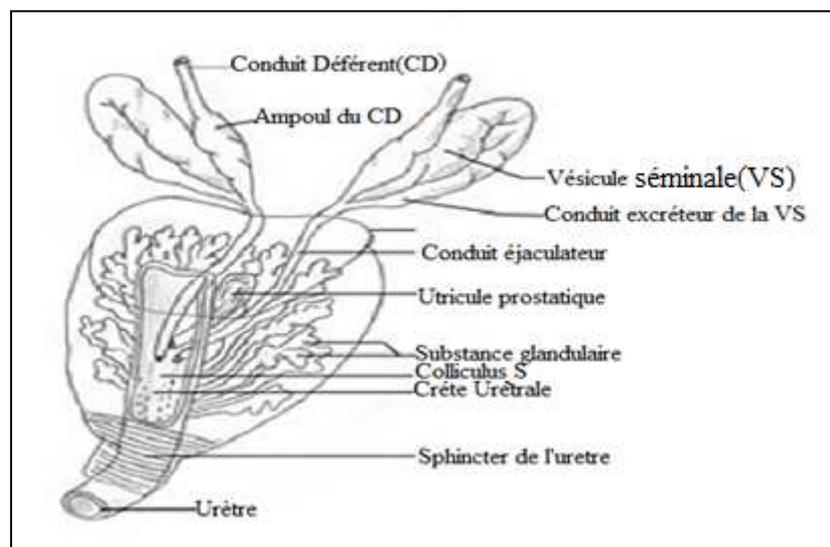


Figure02 : Représentation de la prostate (16 ,17).

La prostate est subdivisée en trois zones :

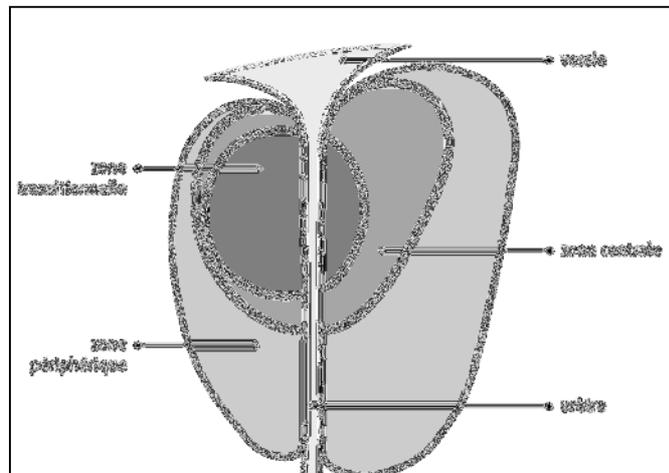


Figure03 : Représentation des zones de la prostate (18 ,19).

a. Zone périphérique : la région la plus proche du rectum. La majorité des tumeurs de la prostate (environ 75 %) surviennent dans la zone périphérique. C'est pourquoi les tumeurs de la prostate situées dans cette zone peuvent être palpées lors d'un toucher rectal.

b. Zone transitionnelle : cette zone située dans le milieu de la prostate, entre les 2 autres zones. Elle entoure la partie de l'urètre.

c. Zone centrale : La zone centrale est située devant la zone transitionnelle et constitue la partie de la prostate qui est la plus éloignée du rectum. C'est pourquoi les tumeurs de la prostate situées dans cette zone ne peuvent être palpées lors d'un toucher rectal(18 ,19).

2. Physiologie de la prostate

La prostate n'intervient pas dans le processus de la miction, les sécrétions prostatiques participent à la formation du sperme et constituent 30% du volume du plasma séminal. Celui-ci est essentiellement composé de liquide sécrété par les vésicules séminales et la prostate.

Les sécrétions prostatiques contiennent des protéines et des électrolytes. Les principales protéines prostatiques sont la phosphatase acide prostatique, la protéine de sécrétion prostatique et Prostatique Acide Phosphatase (PSA) qui liquéfie le sperme en hydrolysant les protéines sécrétées par les vésicules séminales et libère les spermatozoïdes du coagulum du sperme. Parmi les électrolytes sécrétés, le zinc joue un rôle important, antibactérien et de liquéfaction du sperme(20).

3. Histologie de la prostate

La prostate est composée d'un épithélium glandulaire et d'un stromafibro-musculaire. C'est à partir de l'épithélium que se développe le carcinome prostatique(19).

3.1. Épithélium prostatique

L'épithélium prostatique comprend plusieurs types cellulaires :

- Cellules épithéliales : (bordent la lumière des canaux de la glande prostatique), à l'examen histologique ces cellules sont riches en (PSA) en Phosphatases Acides Prostatiques (PAP) en kératine et expriment le RA (Récepteur Endrogène)
- Cellules neuroendocrines : ces cellules sont bien différenciées n'expriment pas le PSA sauf cas exceptionnel. Elles sont caractérisées par l'expression la chromogranine A, la Neuron- Specific Enolase(NSE), la sérotonine et la synptophysine.
- Cellules intermédiaires :(Transit Amplifying Cells(TAC)) : leur phénotype est pro prolifératif et leur croissance est indirectement dépendante des endogènes.
- Cellule basales : ces cellule n'expriment pas ou peu le RA mais sont sensibles à l'action des estrogènes.

3.2. Stroma prostatique

Le stroma est constitué de fibroblastes, de cellules musculaires lisses, de cellules endothéliales, dendritiques, nerveuses et de quelques cellules infiltrées de type lymphocytaire. Les cellules stromales, les cellules musculaires lisses et les macrophages, expriment un RA et sont ainsi androgéno-dépendantes alors que les fibroblastes, n'exprimant pas de RA, sont androgéno-indépendants. Le stroma produit de nombreux facteurs de croissance. Certains sont impliqués dans la différenciation prostatique, d'autres dans la prolifération ou dans l'inhibition de la croissance cellulaire(19).

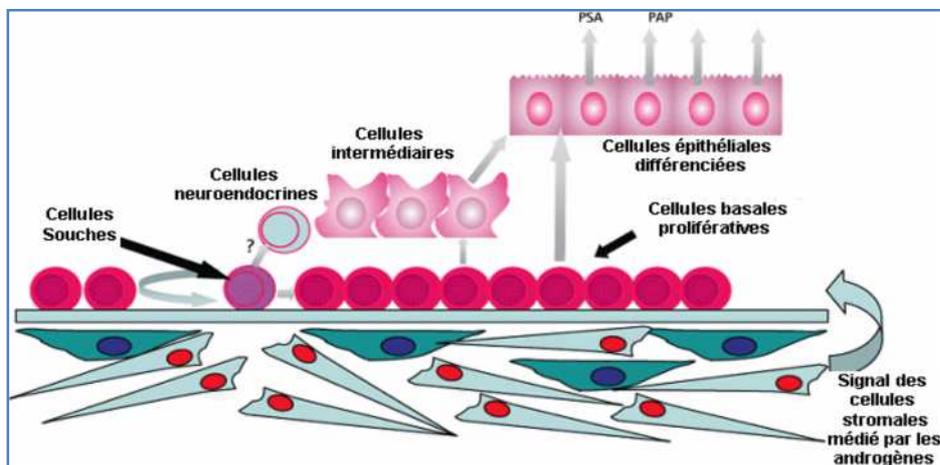


Figure 04:Relation entre les différents types cellulaires de la prostate(15).

4. Interaction épithélium-mésenchyme

Les interactions entre les cellules épithéliales et stromales sont d'une importance capitale dans la régulation de la réponse hormonale, la croissance et la différenciation prostatique(21).

Dans la prostate normale, la croissance des cellules épithéliales est régulée par les facteurs de croissance sécrétés par les cellules stromales. C'est en partie la Di-Hydro-Testostérone (DHT) qui se fixe sur le Récepteur aux Androgènes (RA) des cellules stromales et médie la sécrétion des facteurs de croissance(20).

Le RA des cellules épithéliales permet d'activer la production des sécrétions prostatique (PSA), Prostatic Acid Phsphatase (PAP)(21).

Le processus de différenciation implique des interactions complexes entre le stroma et l'épithélium afin de maintenir un équilibre entre prolifération, différenciation et apoptose(21).

Le cancer de la prostate (CaP) est un cancer fréquent, il est responsable de 10 000 décès annuels. Ce cancer se développe à partir d'une cellule normale, qui se transforme et se multiplie de façon anarchique formant une masse appelée tumeur. La tumeur est d'abord limitée à la prostate. Avec le temps, la tumeur grossit et peut s'étendre au-delà de la capsule prostatique, enveloppe qui sépare la prostate des tissus voisins. Des cellules cancéreuses peuvent ensuite se détacher de la tumeur et emprunter les vaisseaux sanguins ou lymphatiques pour aller envahir d'autres parties du corps :

- les ganglions lymphatiques situés à proximité de la prostate.
- les os et, plus tardivement, le foie et les poumons.

Les nouvelles tumeurs qui se forment alors s'appellent des métastases. La maladie évolue souvent lentement, sur plusieurs années(22).

1. Épidémiologie

1.1 Dans le monde

Le CaP reste de loin le cancer le plus fréquent chez l'homme (56 800 nouveaux cas par an) devant le cancer du poumon (28 200 nouveaux cas) et le cancer colorectal (23 200 nouveaux cas) (23).

Avec une incidence estimée à travers le monde de 25,3 pour 100.000 hommes en 2007 (soit 1,5 million de nouveaux cas par an), le CaP est le deuxième cancer le plus fréquent chez les hommes, et il y a de grandes différences dans l'incidence d'un pays à l'autre(1).

Le taux mondial de mortalité en 2007 par CaP est de 8,1 pour 100.000 (soit un peu moins de 500.000 décès chaque année). L'augmentation de ce taux au fil du temps et les différences Pays étant nettement plus faible que pour l'incidence(24).

L'incidence mondiale du CaP a augmenté au cours des deux dernières décennies, fortement dans les pays industrialisés, c'est le cancer dont l'incidence a le plus augmenté(1)

Aux États-Unis il est en passe de devenir la première cause de décès par cancer, avec une augmentation de 80% dans les dix dernières années (7)

En 2011, le nombre de nouveaux cas de CaP en France est estimé à 71 000.

Ce cancer atteint surtout les hommes âgés mais le risque pour un homme de développer un CaP avant 75 ans augmente avec la cohorte de naissance(25).

1.2 En Algérie

Le CaP est de plus en plus fréquent en Algérie(28).En 2009, dans notre pays le registre des cancers place le CaP au 4^{ème} rang, C'est le premier cancer urologique et pratiquement le 1^{er} cancer chez le sujet après l'âge de 50 ans. Selon les chiffres de l'Insp, 3000 nouveaux cas déclarés sont annuellement enregistrés. Le CaP est la 2^{ème} cause de mortalité chez l'homme après le cancer du poumon(27).

Le problème qui se pose en Algérie est le fait que 80% des cas enregistrés sont à un stade avancé de la maladie(7).

2. Symptômes

Ces symptômes sont non spécifiques et similaires à d'autres conditions bénignes telles qu'une infection ou l'hypertrophie bénigne de la prostate(HBP). Il est possible que le CaP ne cause aucun signe ni symptôme aux tous premiers stades, car, il se développe lentement.

Le cancer de la prostate peut provoquer les signes et les symptômes suivants :

- Un besoin fréquent d'uriner, en particulier la nuit, avec ou sans fuites d'urine.
- Difficulté à commencer ou à cesser d'uriner.
- Un jet d'urine faible ou réduit ou qui s'interrompt.
- Sensation de ne pas avoir complètement vidé sa vessie.
- Brûlure ou douleur lors de la miction.
- Présence de sang dans l'urine ou le sperme.
- Éjaculation douloureuse.

Les signes et les symptômes tardifs du cancer de la prostate:

- Amaigrissement.
- Asthénie (fatigue).
- Rétention aigue d'urine.
- Hématurie.
- Impuissance sexuelle.
- Des douleurs et/ou dysfonctionnement ou la défaillance d'autres organes liés à la présence de métastases(28).

3. Facteurs de risque

3.1. L'âge

L'âge est le plus grand facteur de risque du CaP. Ce dernier est rare avant 50 ans (< 0,1 % des cas) mais son incidence croît fortement ensuite et plus de 75 % des nouveaux cas de cancers sont diagnostiqués après 65 ans(26).

3.2. Facteurs génétiques

Le CaP touche certaines familles en particulier, ce qui laisse penser qu'il existe un facteur héréditaire ou génétique.

Un homme dont le père ou le frère souffre d'un CaP a deux fois plus de risque d'en souffrir à son tour. Le risque est encore plus élevé pour les hommes ayant plusieurs personnes atteintes dans leur famille, notamment si leurs proches étaient jeunes au moment où le cancer a été diagnostiqué. Les scientifiques ont identifié plusieurs gènes héréditaires dont la présence semble augmenter le risque de développer un CaP(29).

3.3. L'origine ethnique

Les hommes d'origine africaine sont plus susceptibles d'être atteints d'un CaP, tandis que ceux originaires de l'Asie orientale le sont moins (27).

3.4. Le tabac

Le tabac augmente le risque de développer un cancer de la prostate de l'ordre de 30% et l'agressivité du cancer au nombre d'années de tabagisme(30).

3.5. L'Alcool

L'alcool n'a jamais fait preuve d'une influence dans un sens comme dans un autre(31).

3.6. Facteurs hormonaux

Le CaP est hormono-dépendant dans 80% des cas(32). Certaines études ont révélé qu'un taux de testostérone élevé expose un risque supérieur à la normale(33).

3.7. L'obésité

L'obésité n'augmente pas le risque de CaP, mais elle pourrait constituer un facteur de promotion tumorale. L'obésité abdominale est considérée comme facteur aggravant l'évolution de ce cancer(34)

3.7. Le régime alimentaire

La consommation importante de la viande rouge et de graisse animale augmenterait le risque de CaP. A l'inverse la consommation de la vitamine D diminuerait ce risque(35).

4. Classifications

4.1. Classification TNM 2010

La classification TNM (Tumors node métastase) permet de définir le stade du CaP. Le système TNM décrit l'extension de la tumeur primitive (T), l'absence ou la présence de métastases ganglionnaires (N), et l'absence ou la présence de métastases à distance (M) (36).

4.2. Classification de Gleason

La classification de Gleason est fondée sur le degré de différenciation de la tumeur, coté du grade 1 à 5. Le score de Gleason, coté de 2 à 10, est la somme des deux grades le plus fréquemment représentés dans la tumeur analysée(38).

5. Diagnostic

Le diagnostic de première intention est le toucher rectal (TR) qui repose sur la palpation de la prostate lors d'un toucher et reste recommandé en association avec le dosage du PSA total. Un TR suspect (induration) est une indication de biopsies prostatiques quelle que soit la valeur du PSA, sauf chez les patients dont l'espérance de vie est limitée (7,37 ,39).

6. Traitement

Le traitement doit être adapté pour chaque patient, et ce en fonction :

Du stade ; du potentiel évolutif de la tumeur, du terrain, de l'espérance de vie, des symptômes

6.1. Traitement des formes localisées

6.1.1. La prostatectomie radicale : est le traitement qui assure le meilleur contrôle de la maladie(19).

6.1.2. Radiothérapie externe : La radiothérapie externe utilise des rayonnements (on dit aussi rayons ou radiations) pour détruire les cellules cancéreuses en les empêchant de se multiplier (40 ,41).

6.1.3. Curiethérapie : par Iode 125 Des grains radioactifs (60 à 100) sont déposés dans la prostate sous anesthésie générale (ou rachi-anesthésie) par des aiguilles par voie trans-périnéale et en visualisant la prostate par échographie endo-rectale(42).

6.2. Traitement des formes métastasé

6.2.1. Hormonothérapie : consiste à empêcher l'action stimulante de la testostérone sur les cellules cancéreuses pour stopper le développement du cancer(40).

6.2.2. Chimiothérapie : La chimiothérapie a une place reconnue dans les cancers de
de la prostate résistante à la castration (CPRC), la mitoxantrone et le docetaxel ayant fait la preuve d'une certaine efficacité dans des essais contrôlés (41 ,43).

Le rôle des altérations génétique dans la carcinogénèse prostatique est souligné par les observations de cancer héréditaires et par la mise en évidence d'altération spécifique du génome au sein des tumeurs. Dans les cancers sporadiques, les altérations sont acquises au cours de la vie, ce qui explique la plus grande fréquence des cancers lors du vieillissement(43,44).

1. Les formes familiales

Les formes familiales sont observées dans environ 20% des cas, et une transmission héréditaire est retrouvée dans 5% des cas (45). Parmi les formes familiales, certaines sont liées au hasard du fait de la fréquence de l'affection, ou encore à l'exposition des membres de la famille à un carcinogène commun, alors que d'autres sont véritablement des formes héréditaires susceptibles d'être transmises au cours des générations successives(43).

Une forme héréditaire est reconnue avec des critères plus stricts :

- ✓ 3 cas chez des apparentés du premier ou du second degré.
- ✓ 2 cas diagnostiqués avant l'âge de 55 ans elle n'a été mise en évidence que 5% des patients(46).

La transmission héréditaire peut se faire non seulement sur un mode autosomique dominant (transmission par le père atteint ou par la mère), mais aussi sur un mode lié au sexe (la transmission par la mère touche alors l'ensemble de ses fils, qui en revanche ne transmettent pas la prédisposition à leur(s) propre(s) fils). Cette transmission liée au sexe est probablement sous-estimée, car la maladie saute régulièrement une génération (Figure 1)(45).

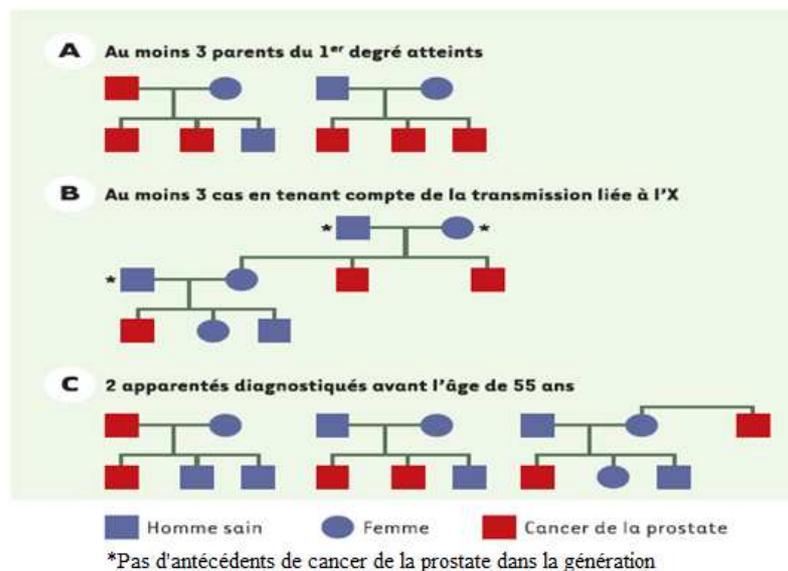


Figure 05 : Critères cliniques de reconnaissance des formes héréditaires Du cancer de la prostate(45).

1.1. formes familiales et altérations génétiques

Des études suggèrent que la région 1q24-25 du chromosome 1 contiendrait un gène de prédisposition au cancer de la prostate (HPC1, hereditary prostate cancer1) (47).

Plusieurs locus pour des gènes de prédisposition aux formes héréditaires de cancer de la prostate ont été identifiés: HPCX (Xq27-28), HPC20 (20q13), HPC2 (17p11), PG1 (prostate cancer susceptibility gene1) (8p22-23) (45).

D'autres locus de prédisposition, dans les régions chromosomiques 5q31-33, 7q32 et 19q12, seraient associés à des formes familiales particulièrement agressives de la maladie. Ces résultats soulignent l'hétérogénéité génétique de la prédisposition au cancer de la prostate dans sa forme héréditaire: double mode de transmission (autosomique dominant et lié au sexe) et implication variable des gènes de prédisposition selon l'origine ethno-géographique des familles(47).

1.2. Cancer de la prostate et autre cancer

Des études épidémiologiques ont montré l'association possible d'autres cancers aux cancers de la prostate (cancers du sein, tumeurs cérébrales, lymphomes, cancers digestifs...), cela suggérant l'existence de gènes de prédisposition communs(45).

La comparaison des taux de mortalité du cancer de la prostate et le cancer du sein montre une corrélation. Les gènes BRCA1 (breast cancer gene) (17q21) et BRCA2 (13q12-13), qui prédisposent au cancer du sein héréditaire, ont également été évoqués pour le cancer de la prostate(48).

L'association entre cancer de la prostate et tumeur cérébrale a été confirmée par la localisation du gène CAPB (cancer prostate and brain), situé en 1p36, prédisposant à ces deux tumeurs(45).

2. Les formes sporadiques

2.1. Altération cytogénétique et pertes d'hétérozygotie

Les anomalies cytogénétiques retrouvées dans les Caps concernant les pertes des chromosomes Y et 7q, des chromosomes 1, 2, 7, 14 ont également été rapportées. Le gain du chromosome 7 ou encore les délétions en 8p, 10q et 16q.

Les pertes d'hétérozygotie affecte plus particulièrement et de façon récurrente les régions 7q31, 8p22, 10q23-24, 12p12-13, 16q21-q et 18q21-23. Certaines régions délétées se situent au niveau de gènes suppresseurs déjà connus ou potentiels retinoblastoma 1(RB1).

Phosphatase and tensin homolog (PTEN), choline dehydrogenase 1 (CDH1), BRCA1, deleted in colorectal carcinoma (DCC). La plupart des régions altérées ne sont pas spécifique du CaP car elles sont également impliquées dans d'autres cancers. C'est le bras court du chromosome 8 qui a été le plus étudié, car il contient le plus fort taux de perte d'hétérozygotie (LOH) (70%). Un gène NK3homeobox 1 (NKX3.1) a été isolé. Toutefois même si ce gène semble endrogéno-régulé, aucune altération génétique de NKX3.1 n'a été impliquée dans l'oncogénèse prostatique(48).

2.2. Altération génétique et épigénétique

2.2.1. Le gène AR

Le gène AR (Androgen Receptor) est un gène localisé sur le bras long du chromosome X en position Xq12.

C'est un gène qui code pour une protéine qui sert de récepteur aux Androgènes; ces derniers sont des hormones sexuelles importantes pour le développement de l'homme avant la naissance et durant la puberté.

Ce récepteur à androgène est présent dans plusieurs tissus humain et permettent au corps de répondre proprement aux hormones; les AR se lient aux androgènes pour former le complexe Androgène-Récepteur qui se lie à l'ADN afin de régler l'activité de la réponse androgénique. Ce gène se répartit sur une longue séquence nucléotidique, au niveau de laquelle le triplet CAG –répété plusieurs fois- représente le siège des mutations.

En effet, plus de 85 mutations sur le gène AR ont été associées au cancer prostatique, cependant, il a été montré que toutes ces mutations sont somatiques(49).

2.2.2. Le gène ERBB2

Le gène ERBB2 se trouve sur le bras long du chromosome 17 en position 17q12. Ce gène permet la production du récepteur du facteur de croissance ERBB2 qui stimule la division et la croissance cellulaire.

ERBB2 est une protéine membranaire qui joue un rôle dans l'adhésion, le mouvement, la maturation et la différenciation cellulaire.

Ce gène appartient à la famille de gènes dite groupe de différenciation CD «Cluster Differentiation». C'est le siège de trois polymorphismes et il peut être impliqué dans la survenue de plusieurs tumeurs par la surexpression du gène ERBB2 qui conduit à une production exagérée de la protéine, ce qui stimule la division et la croissance cellulaire de façon continue et anarchique favorisant ainsi le développement de cancers comme celui de la prostate(50).

2.2.3. Le gène Bcl2

Le gène Bcl2 «B-cell lymphoma 2» est localisé sur le bras long du chromosome 18, en position 18q21.3. Ce gène code pour une protéine membranaire, impliquée dans la cascade de l'apoptose cellulaire.

Le proto-oncogène Bcl2 est le siège de plusieurs mutations dont la plus fréquente est la translocation de sa position normal 18q21 au locus de la chaîne lourde de l'immunoglobuline en position 14q32, cette translocation conduit par la suite à une hyper production de la protéine ce qui peut être impliqué dans la carcinogenèse du cancer de la prostate(51).

2.2.4. Le gène MYC

Le gène Myelocytomatosis viral oncogene homologue MYC se situe sur le bras long du chromosome 8 en position 8q24 et se repartit sur 6001 pb.

Il code pour une protéine multifonctionnelle, qui joue un rôle dans le cycle cellulaire, l'apoptose et la transformation cellulaire, cette protéine fonctionne comme un facteur de transcription qui règle la transcription de certains gènes.

Des mutations, la surexpression, des réarrangements et des translocations au niveau de ce gène ont été mis en évidence et associés à plusieurs tumeurs(52).

2.2.5. Le gène RAS

Les gènes de la famille RAS codent pour une famille de protéines G participant à la transduction du signal extracellulaire induisant une prolifération et différenciation(53).

Ce gène code pour la protéine p21, des niveaux élevés de cette protéine sont corrélés à une progression tumorale et à l'émergence de métastases osseuses. l'existence de mutation ponctuelle des gènes RAS paraît un événement rare(52).

3. Le polymorphisme du gène *MTHFR*

3.1. Gène de la *MTHFR*

La 5,10- Méthylène tétrahydrofolate réductase, MTHFR est une enzyme importante qui catalyse de façon irréversible la conversion de 5,10-méthylène tétrahydrofolate en 5-méthylène tétrahydrofolate, un substrat clé donneur de folate et de carbone pour la reméthylation de l'homocystéine en méthionine. Cette enzyme est codée par le gène *MTHFR* qui est localisé sur le bras court du chromosome 1 dans la région 1p36.3(Figure06)(54).

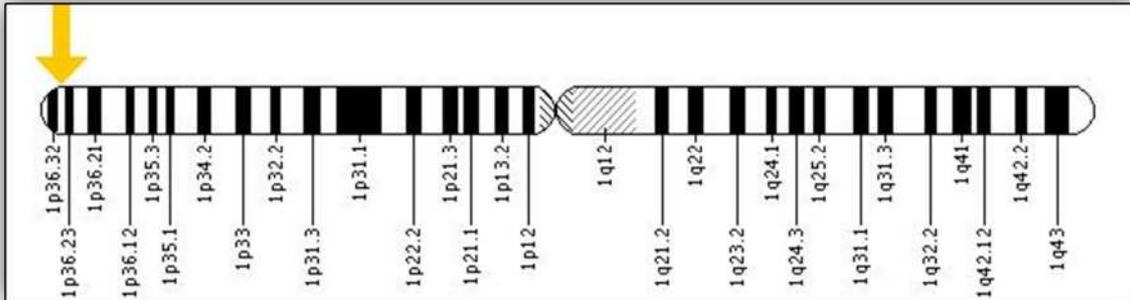


Figure06 : Localisation de gène *MTHFR* sur le chromosome1(54).

Plusieurs mutations ont été identifiées au niveau du gène *MTHFR*, dans les plus étudiées sont : les polymorphismes C677T et A1298C, ces deux polymorphisme sont responsable de la création d'une enzyme thermolabile qui possède une activité réduite d'environ 50% à 37°C et une perte complète d'activité à 46°C.

- La mutation C677T, est la plus fréquente, elle a lieu en position 677 et transforme la base C en T, conduisant à la formation de l'acide aminé valine (V) au lieu d'alanine (A) en position 222 de la chaîne protéique.
- Le polymorphisme A1298C, n'est pas bien caractérisé, et transforme la glutamine en Alanine dans la position 429 de la chaîne protéique(55).

3.2. Polymorphisme C677T du gène de la *MTHFR*

C'est un changement de la structure secondaire du peptide ainsi que des interactions entre les monomères. La protéine modifiée perd son cofacteur FAD rapidement, ce qui diminue sa stabilité et par conséquent son activité(56).

Plusieurs études ont montré qu'à l'état homozygote TT, le polymorphisme, noté C677T, augmente le risque d'avoir une Hhcy modérée par rapport aux génotypes CT et CC.

Le génotype (T/T) de la *MTHFR* rendant l'enzyme thermolabile, diminue l'efficacité et par voie de conséquence la quantité de méthyl-THF qui en résulte, et entraînant une perturbation du métabolisme de folate et un changement de la composition cellulaire des dérivés folique(58).

La plupart des études visent le génotype TT, bien que le génotype CT puisse aussi causer une baisse des folates, une augmentation d'homocystéine est une réponse positive à la supplémentation en acide folique. En effet, il est admis que la production de méthyles disponible est abaissée de 70% chez les porteurs homozygotes de la mutation et de 35% chez les hétérozygotes(59).

Patients et Méthodes

Notre étude est transversale de type cas-témoins a duré 2 mois ; elle a été réalisée sur 23 patients dans le service d'Urologie de clinique rénal et 31 témoins. L'étude génétique s'est faite au niveau du laboratoire de recherche de Biologie et Génétique du CHUC.

1.1. Population témoins

Une population de 31 témoins de sexe masculin présumés en bonne santé, âgés de 50 à 82 ans, mariés avec des enfants, aucun antécédent familiaux atteint d'un cancer.

1.2. Population malade

Une population de 23 patients de sexe masculin âgés de 50 à 83ans, Admis au niveau du service d'Urologie de la clinique rénale de Constantine et qui répondent à nos critères d'exclusion et d'inclusion.

- Critères d'inclusion :
 - Les sujets ayant un cancer de la prostate,
- Critères d'exclusion :
 - Les sujets ayant une transfusion sanguine.
 - Les sujets ayant une hypertrophie bénigne de la prostate.

L'ensemble des échantillons de tous ces patients et témoins a bénéficié d'une analyse moléculaire du gène *MTHFR*.

Tout d'abord nous avons commencé par :

- ✓ Faire le prélèvement des patients au niveau de service d'Urologie de la clinique rénale de Constantine.
- ✓ Le consentement a été obtenu de tous les adultes ou de leurs tuteurs lorsque le patient n'arrive pas à lire.
- ✓ L'établissement d'un questionnaire approprié afin de recueillir Systématiquement les informations cliniques et biologiques nécessaires :
 - Mode de vie et facteur de risque : tabagisme- alcool- obésité- stress.
 - Renseignement clinique : pathologie associées, antécédents personnels, âge de diagnostic du Cap, localisation de tumeur, bilan biologique, classification TNM, score de Gleason, scintigraphie. Prise actuelle de thérapeutique.

2. Les prélèvements biologiques

- **Le prélèvement :** Les prélèvements de sang total ont été réalisés au niveau du pli du coude après pose d'un garrot.

Les prélèvements sont été recueillis dans des tubes stériles dans contenant de l'EDTA (Acide Éthylène Diamine Tétra-Acétique), anticoagulant non héparinés (car l'héparine inhibe la fonction de la Taq polymérase).

Le prélèvement se fait dans deux tubes de 5ml afin de pouvoir en extraire une quantité d'ADN suffisante pour la réalisation d'une analyse moléculaire.

- **Conservation :** Normalement l'extraction d'ADN se fait sur du sang frais. Mais dans certains cas d'impossibilité technique, l'extraction est différée puis réalisée sur du sang stocké pendant 7 jours à + 4°C.

3. Étude génétique

La recherche du polymorphisme C677T du gène de la *MTHFR* est réalisée par PCR/Digestion en suivant les étapes ci-dessous :

1. Extraction de l'ADN à partir du sang total par la méthode au NaCl.
2. Quantification et dilution de l'ADN.
3. L'évaluation de l'impureté .
4. PCR (Polymerase Chain Reaction).
5. Contrôle des produits de PCR par électrophorèse sur gel d'agarose.
6. Digestion des produits de PCR.
7. Étude du profil électrophorétique.

3.1. Extraction de l'ADN

L'extraction de l'ADN est une technique permettant d'isoler l'ADN de cellules ou de tissus et de le multiplier rapidement. Les leucocytes sanguins représentent la source principale d'ADN et la plus facilement exploitable.

La technique d'extraction doit être adaptée à l'échantillon biologique, à la nature du génome, au nombre de copie dans l'échantillon et aux méthodes de biologie moléculaire utilisées ultérieurement.

Il existe plusieurs procédés d'extraction et de purification d'ADN, dans notre étude nous avons utilisé la technique au NaCl.

❖ Étapes de l'extraction d'ADN

- La lyse des globules rouges et préparation du culot de leucocyte. Quelle que soit la méthode d'extraction des acides nucléiques utilisée à partir de sang fraîchement recueilli ou décongelé, le sang est vigoureusement mélangé à une solution hypotonique pour faire éclater les globules rouges. La lyse est réalisée généralement à + 4°C pendant 20 à 30 mn. Le lysat est ensuite centrifugé 10 mn à 3900 tr/mn. Après élimination du surnageant, on obtient le culot de leucocytes.

10 ml de sang sont prélevés sur anticoagulant (EDTA qui permet d'inhiber l'action des enzymes de type DNase qui pourrait dégrader l'ADN) comme il a été cité précédemment.

- Dans un tube Falcon de 50 ml, mettre le sang et compléter à 25 ml avec du Tris EDTA (TE) 20,5.
- laisser 10 mn dans la glace.
- Centrifuger 10 min à 3900 tours/min.
- Aspirer le surnageant avec la trompe à vide (manque de matériels on se débarrasse prudemment du surnageant en le versant dans le lavabo afin de ne pas décoller le culot du tube).
- Faire un deuxième lavage qui consiste à verser le surnageant en conservant le culot formé, puis à rajouter le TE 20,5 (compléter à 25 ml) et laisser 10 min dans la glace.
- Centrifuger dans les mêmes conditions que la première fois.
- Aspirer le surnageant avec la trompe à vide : obtention d'un culot de leucocytes.

□ Lyse des leucocytes, dénaturation du complexe nucléoprotéique et libération de l'ADN

- Transvaser ou verser le culot de leucocytes dans un tube Falcon de 15 ml.
- Ajouter 3 ml de tampon de lyse (le tampon de lyse et un mélange de : NaCl , EDTA , Tris, pH 8,2) en dilacérant le culot avec une pipette stérile.
- Ajouter 200µl de SDS (sodium dodécyl sulfate) à 10% qui est un détergent anionique utilisé pour lyser les GB et libérer l'ADN total mais, c'est aussi un activateur de la protéinase K, il inhibe les nucléases et dénature les protéines.
- Ajouter 100µl de protéinase K à 10 mg/ml.

L'ADN nucléaire libéré dans le milieu est alors le plus souvent traité par une protéinase très active, qui est la protéinase K elle a pour but de digérer les protéines qui lui étaient associées.

- Agiter le tube sur une d'une étuve pendant une nuit car la protéinase K (10mg/ml) effectue son travail pendant 3 à 18h à une température ambiante. Le traitement par la protéinase K peut s'effectuer aussi pendant 1 à 2 h à 65 °C ou 2 à 3h à 56°C.
- Le lendemain, mettre dans la glace le tube Falcon afin de refroidir son contenu.
 - o Extraction et purification de l'ADN: méthodes utilisant des solvants non organiques : le NaCl

Traiter uniquement le lysat cellulaire (produit résultant d'une lyse) par une solution saline, dont l'objectif est d'éliminer par précipitation sélective les protéines.

Cette étape se déroule en :

- Ajoutant 1 ml de NaCl et en agitant vigoureusement à la main.
- Remettant 5 min dans la glace (précipitation des protéines).
- Centrifugeant 15 min à 2500 tours/min.
 - o Précipitation de l'ADN

La précipitation est le plus souvent réalisée par de l'éthanol absolu à froid et à haute concentration. L'éthanol se trouvait à -80°C et à concentration 2.5 volumes par rapport à l'échantillon. La pelote d'ADN se forme, puis se précipite sous forme de filament visible à l'œil nu. Le précipité est ensuite lavé et redissolu dans l'eau ou du tampon TE.

- Transvaser ou verser le surnageant dans un Falcon de 15ml, ajouter 2 fois son volume d'éthanol absolu préalablement refroidi (environ 8ml) et agiter en retournant le tube plusieurs fois : Il y aura formation d'une « méduse » visible à l'œil nu.
- Récupérer la pelote par enroulement sur une pipette Pasteur puis lavée dans l'éthanol à 70% 2 fois pour éliminer les sels ou les traces d'isopropanol, elle sera ensuite séchée en ouvrant les tubes Eppendorf durant 1h environ.
- Mettre la pelote dans un tube nunc (Eppendorf) et l'ADN sera réhydraté par une solution de TE (tris: EDTA) ou de l'eau bidistillée, puis conservé à 4°C ou à -20°C.

❖ Détermination de la pureté

- L'ADN absorbe à 260 nm alors que les protéines (témoins de contamination) absorbent à 280 nm.
- L'échantillon est dilué au 1/100 dans l'eau distillé (10 µl de l'ADN solubilisé dans 990 µl de l'eau stérile).
- Les DO sont lus à 260 et 280 nm (longueurs d'onde d'absorption des acides nucléiques et des protéines) dans le même type de cuve que celle ayant servi à faire le zéro (eau stérile).
- Par le moyen du rapport de DO260 nm/DO280 nm, la pureté de l'ADN est déterminée en indiquant la contamination de l'ADN par les protéines ou par les ARN. On considère que :
 - L'ADN est suffisamment pur lorsque le rapport $R = DO_{260}/DO_{280}$ est compris entre 1.6 et 2 ($1.6 < R \leq 2$).
 - L'ADN est contaminé par les protéines si : $DO_{260}/DO_{280} < 1.6$.
 - L'ADN est contaminé par les ARN si : $DO_{260}/DO_{280} > 2$.

❖ Détermination de la concentration de l'ADN

La concentration de l'ADN est estimée par spectrophotométrie à 260 nm sachant que :
1 unité de DO260 nm = 50 µg/ ml d'ADN

On mesure donc à 260 nm la DO d'une dilution au 1 /100^{ième} de la solution à doser. On déduit la concentration de l'ADN grâce au calcul suivant :

$$[C] (\mu\text{g} / \text{ml}) = \text{Facteur de dilution} \times \text{DO } 260 \text{ nm} \times 50\mu\text{g} / \text{ml} \text{Facteur de dilution} = \text{Volume Total} / \text{Volume d'ADN}$$

Exemple :

Pour un ADN solubilisé dans 1000 µl de TE 10 : 1 ayant une DO260 nm = 0.139

$$1 \text{ unité de DO } 260 \text{ nm} \longrightarrow 50 \mu\text{g} / \text{ml d'ADN}$$

$$0.139 \text{ de DO } 260 \text{ nm} \longrightarrow X$$

$$X = 0.139 \times 50 = 6.95 \mu\text{g} / \text{ml}$$

Considérant que l'ADN est dilué à 1/100, donc $6.95 \times 100 = 695 \mu\text{g} / \text{ml}$

3.2. Recherche de la mutation C677T du gène codant la *MTHFR*

La mutation C677T du gène de la *MTHFR* a été déterminée par la méthode PCR/RFLP décrite par *Frosst et al* en 1995(63).

La détermination du génotype est effectuée en plusieurs étapes :

- PCR et contrôle de PCR sur gel d'agarose à 2%.
- Digestion du produit de PCR
- Séparation des produits de digestion par migration électrophorétique sur gel d'agarose à 3% et distinction des différents par trans-illumination sous UV.

❖ La Polymerase Chain Réaction (PCR)

La PCR est une technique basé sur une amplification de 30 cycles. Chaque cycle contient les trois étapes suivantes :

- Dénaturation – Hybridation - Élongation.

➤ Préparation du MIX

Pour l'amplification du variant *MTHFR* C677T le milieu réactionnel (ou MIX) est préparé comme indiqué le tableau suivant :

Tableau I: Préparation du milieu réactionnel de PCR pour *MTHFR*

Mix de PCR	Quantité µl	XNombre d'échantillons	Quantité µl
H ₂ O	35 ,2 µl		
Tampon 10 X	5 µl		
DNTP	5 µl		
MgCl ₂	3 µl		
Oligo F (Forward)	0.2 µl		
Oligo R (Reverse)	0.2 µl		
Taq polymérase	0.4ul		

La quantité de chaque composant est multipliée par le nombre de tubes voulu plus un autre (le blanc) ; C'est le tube témoin négatif

Dans l'Eppendorf :

- 2 µl d'ADN sont mélangés à 49 µl du mix.
- Le blanc : 2 µl d'eau distillée mélangés à 49 µl du mix.

Les amorces utilisées ont été comme suit :

5' – TGA AGG AGA AGG TGT CTG CGG GA – 3' (sens, exonique : F),

5' – AGG ACG GTG CGG TGA GAG TG – 3' (anti-sens, intronique : R).

➤ **Déroulement des cycles de la PCR :**

Le déroulement des cycles de la PCR est assuré par le thermocycleur (figure07).



Figure07: Le thermocycleur

Avant de mettre les plaques PCR dans le thermocycleur on ajoute une goutte d'huile dans chaque puits afin d'éviter l'évaporation du contenu des puits. Le thermocycleur est programmé pour l'*MTHFR*

Tableau II: Programmation des cycles de PCR

Nombre de cycle	Etape	Température	Durée
X1	Dénaturation	94 °C	5min
X 30	Dénaturation	94°C	30s
	Hybridation	65°C	30s
	Elongation	72°C	40s
		72°C	10min

➤ **Contrôle de la PCR :**

Le contrôle de la taille des fragments amplifiés s'effectue par une électrophorèse sur un gel d'agarose à 2 % additionné de 10 µl de BET (Bromure d'éthidium). Ce dernier est un réactif intercalant qui se fixe entre les bases nucléiques à l'intérieur de la double hélice et qui rendra les ADN fluorescents par exposition aux UV. (2g d'agarose + 100 ml de TBE(1X) + 10 µl BET).

Dans chaque puits du gel, il est déposé :

- 10 µl de produit d'amplification + 3 µl BBP (Bleu de Bromophénol) qui permet de suivre le front de migration.

Les dépôts se font du côté cathode (-). Le système soumis à une migration sous un courant de 90 à 120 volts pendant 1 heure. Cette analyse permet aussi, d'observer si une éventuelle contamination de l'ADN est survenue au cours de la PCR grâce à un puits contenant le blanc (Témoin négatif). Après migration le gel soumis au rayon UV. Les molécules de bromure d'éthidium fixées aux ADN émettent une lumière visible et photographique et permettent de visualiser les fragments amplifiés sous forme de bandes fluorescentes de même taille.

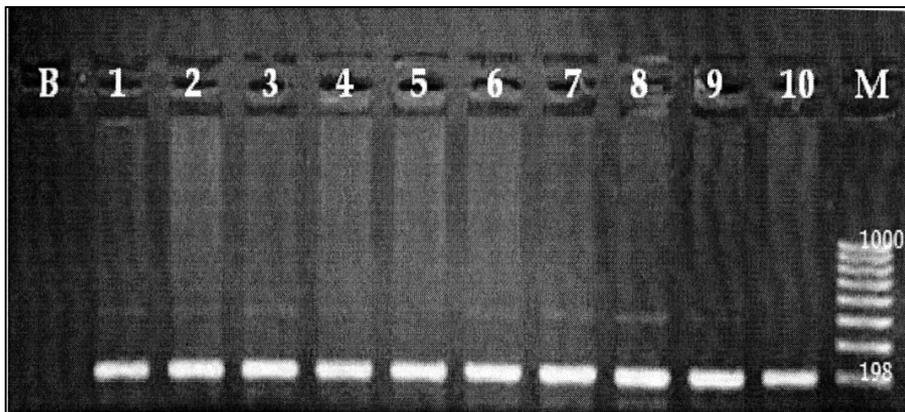


Figure 08: Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose à 2% des fragments amplifiés (198pb) par PCR (B: blanc ; 1-10 patients ; M ; marqueur de taille).

➤ Digestion des produits de PCR

Les produits PCR sont soumis à une digestion enzymatique par HinfI (enzyme de restriction produite par la bactérie *Haemophilus influenzae*) et sont placés pendant 3 heures dans une étuve à 56°C. Cette enzyme reconnaît et clive la séquence G /ANTC codant pour l'Alanine en position 222.

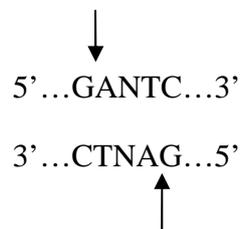


Figure 09 : Site de restriction de l'enzyme Hinf I

La migration des produits de digestion est réalisée sur gel d'agarose.

Tableau III : Préparation du milieu de digestion par l'enzyme Hinf I

Milieu de digestion	Quantité en μl	Nombre d'échantillons	Quantité en μl
H ₂ O	4		
Tampon 10x	5		
Hinf I	1		
BSA (Bovine sérum albumine)	0,2		

On dépose dans chaque puits du gel 10 μl du produit digéré et 3 μl BBP (bleu de bromophénol). La migration électronique se réalise sous un courant de 100 volts pendant 1 heure 30 min.



Figure 10: Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose des fragments après digestion par Hinf I.

La digestion enzymatique de l'amplification de la MTHFR par la Hinf I a donné 3 fragments, le premier apparaît sur le profil électrophorétique sous forme d'une seule bande qui correspond au type homozygote muté (TT), le deuxième apparaît aussi sous forme d'une seule bande, il s'agit du type homozygote sauvage (CC). Les deux bandes ensemble, correspondent au type hétérozygote (CT). Le troisième n'est pas visible à cause de son intensité trop faible (Figure10).

Notre étude a porté sur 54 sujets dont 31 témoins de sexe masculin présumé en bon santé et 23 patients atteints d'un CaP.

1. La réparation en tranche d'âge

L'âge des patients a été subdivisé en tranches d'âge de 10 ans de 50 ans à 80 ans et plus. Les sujets témoins sont repartis selon l'âge de la même façon que celle des malades.

Tableau IV: Répartition par tranche d'âge des patients et témoins.

Tranche d'âge	Patients		Témoins	
	N	%	N	%
50-59	1	4.34	16	51.61
60-69	8	34.78	7	22.58
70-79	12	52.17	6	19.35
≥ 80	2	8.69	2	6.45
TOTAL	23	100	31	100

D'après ce tableau on remarque que la fréquence de la maladie est importante dans la tranche d'âge 70-79. Cette fréquence diminue après 80 ans. 95.66% des patients ont un âge supérieur à 60 ans donc le CaP est corrélé avec l'âge et la survenue de ce cancer avant cet âge est une exception. L'âge moyen des sujets atteints est de 74.5.

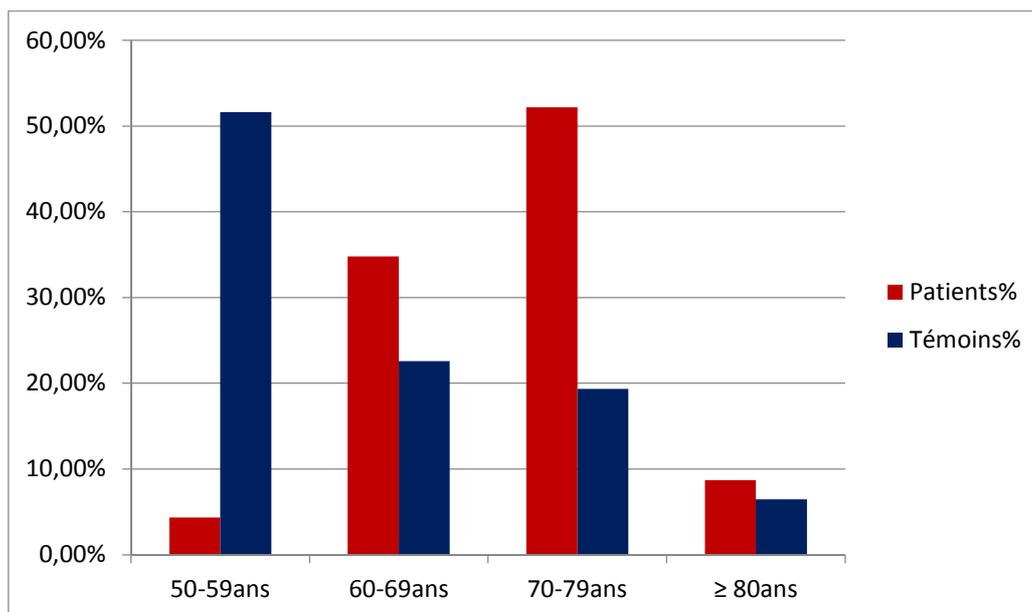


Figure 11: Répartition des patients et des témoins en tranche d'âge.

2. La répartition des patients selon le stade de la tumeur

Parmi les 23 patients atteints de CaP, 15 sujets sont atteints de CaP localisé et 8 sujets sont atteints de CaP métastatique (non localisé).

Tableau V: La répartition des patients selon le stade de la tumeur.

	Tumeur localisé	Tumeur non localisé (métastatique)	Total
N	15	8	23
Fréquences	65.21	34.78	100

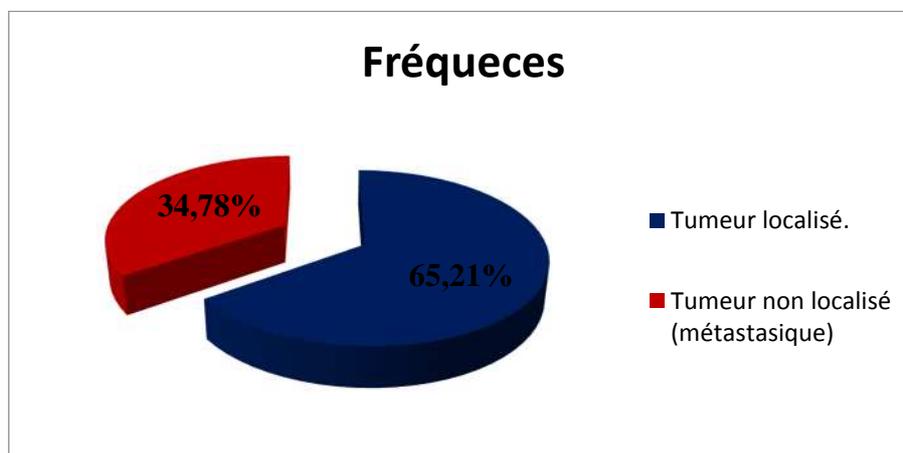


Figure 12: Répartition des patients selon le stade de tumeur.

D'après la figure, la fréquence des patients ayant un CaP localisé est élevée par rapport à ceux ayant un CaP métastatique.

3. La répartition des patients selon la consommation d'alcool et de tabac

Tableau VI : Répartition des malades en fonction de la consommation d'alcool.

	Alcoolique	Non-Alcoolique	Total
Patients	7	16	23
Fréquences	30.43%	69.56%	100%

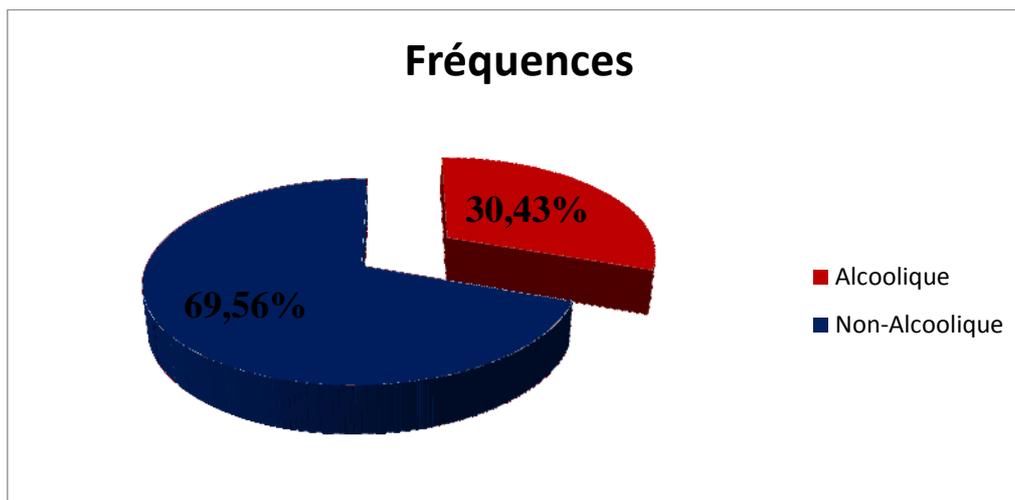


Figure 13: Répartition des malades selon la consommation d'alcool.

On remarque que 30.43% des patients sont des alcooliques tandis que 69.56% des patients sont non alcooliques.

Tableau VII: Répartition des malades selon la consommation du tabac.

	Fumeurs	Non-fumeurs	Total
Patients	18	5	23
Fréquences	78.26%	21.74%	100%

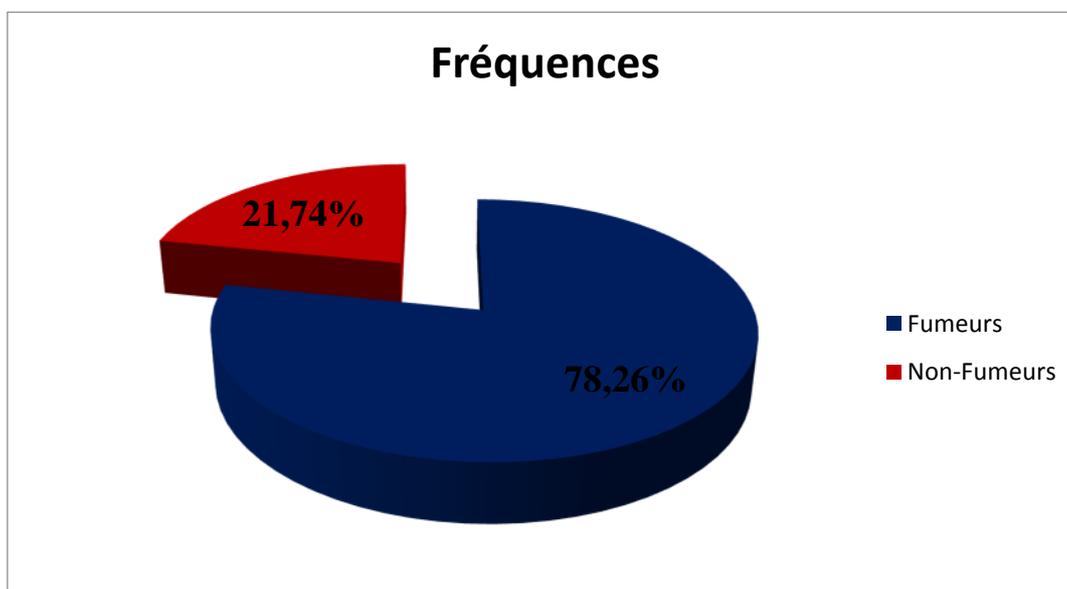


Figure 14: Répartition des malades selon la consommation du tabac.

D'après ce résultats on remarque que 78.26% des malades sont fumeurs par contre 21.74% seulement ne sont pas des fumeurs. On peut dire que le tabac joue un rôle important dans la survenue du CaP dans notre population d'étude.

4. Réparation des fréquences génotypiques, alléliques et association au risque du Cap

Tableau VIII: Répartition des fréquences génotypiques et alléliques de la MTHFR C677T chez les sujets témoins et les sujets CaP.

Génotype	Patients		Témoins		OR	P value
	N	%	n	%		
C/C	11	52,38	10	34,48	-	-
C/T	8	38,09	10	34,48	0,73 (0,17-3,09)	NS (0,621)
T/T	2	9,52	9	31,03	0,20 (0,02-1,43)	NS (0,06)
TOTAL	21	100	29	100	-	-
Allèle C	30	71,43	30	51,72	-	-
Allèle T	12	28,57	28	48,28	0,43(0,17-1,08)	NS (0,07)

Ce tableau montre que 52.38% patients étaient homozygotes (CC) pour la MTHFR et 38.09% étaient hétérozygotes (CT), alors que les génotypes homozygotes (TT) représente uniquement 9.52%. Pour les témoins on retrouve presque la même fréquence génotypique pour (CC), (CT) et (TT) 34.48% et 31.03% respectivement. Il n'y avait aucune différence statistiquement significative dans la distribution des allèles et des génotypes chez les patients Cap comparés aux témoins.

La distribution des allèles de la MTHFR C677T dans le CaP montre que l'allèle C est prédominant dans la population malade avec (71.43%) vs T (28.57%). Aucune différence significative des allèles de la MTHFR C677T et des fréquences génotypiques n'ont été détectées dans tous les échantillons.

Après calcul des Odds ratio et P valeur, on remarque que selon les valeurs de ces deux paramètres (OR et $P \geq 0.05$), il n'existe pas d'association significative entre le polymorphisme C677T et le CaP que ce soit pour le génotype CT ou pour TT.

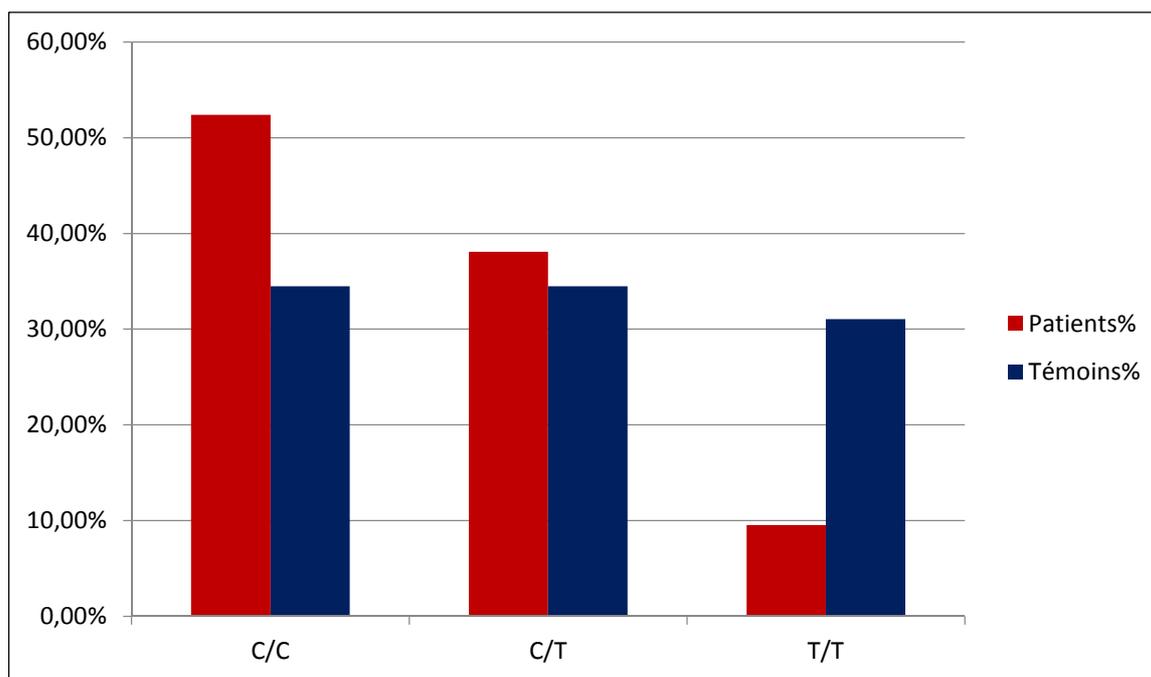


Figure 15: Répartition des fréquences génotypiques de la MTHFR C677T chez les sujets témoins et les sujets CaP.

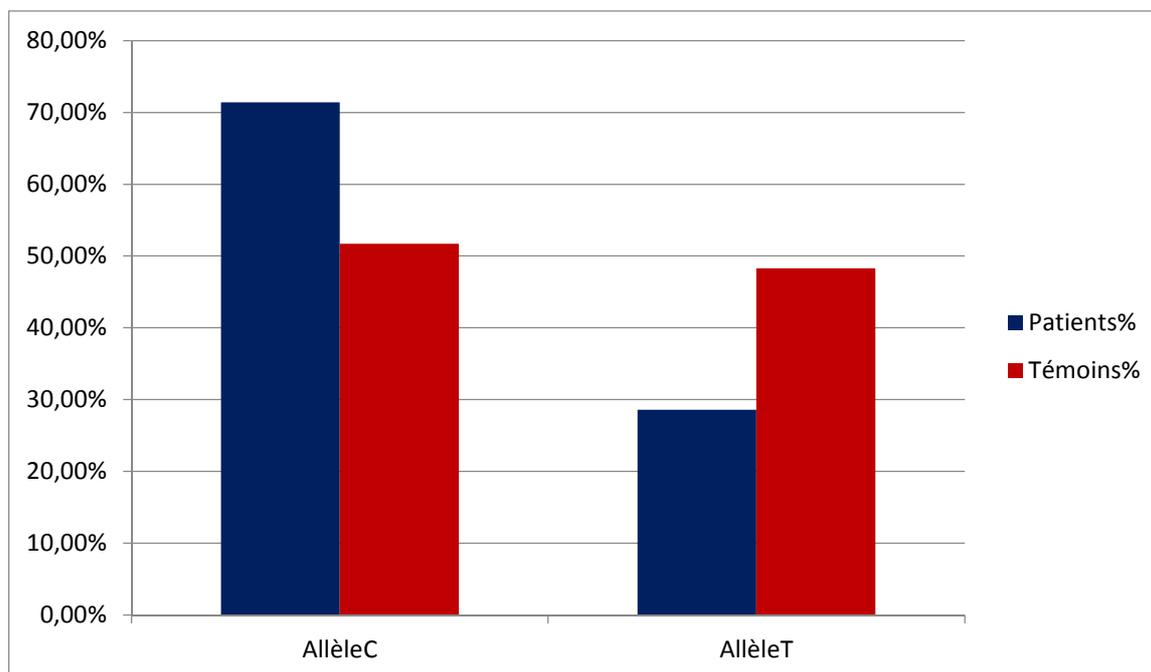


Figure 16: Répartition des fréquences alléliques de la MTHFR C677T chez les sujets témoins et les sujets CaP.

Au cours de ces dernières décennies, de nombreux progrès ont été réalisés dans la compréhension des origines et des mécanismes de développement des cancers. Il est admis à présent que les cancers peuvent avoir une origine génétique et une origine environnementale. La contribution de l'environnement dans l'apparition des cancers a été suspectée depuis longtemps. La part relative de l'environnement et des facteurs génétiques dans l'apparition des cancers n'est cependant pas simple à déterminer. Des travaux effectués sur des conjoints ont aussi amélioré notre connaissance des origines des cancers et notamment la part importante du mode de vie. Une séparation trop tranchée entre mécanismes génétiques et environnementaux semble cependant particulièrement réductrice de nos jours puisque les polymorphismes génétiques pourraient expliquer partiellement l'étiologie sous-jacente de nombreuses pathologies cancéreuses.

Au cours des 20 dernières années, de nombreuses études ont mis en évidence le rôle de facteurs génétiques dans la survenue de cancers. Les résultats de plusieurs centaines d'études d'association entre des polymorphismes génétiques relativement fréquents dans la population générale et divers cancers ont été publiés. En dépit de cet effort considérable, le bilan des connaissances acquises est assez décevant ; à quelques exceptions près, les associations positives mises en évidence n'ont généralement pas été confirmées.

La taille relativement faible des populations étudiées (généralement quelques centaines de cas) et de ce fait la puissance statistique insuffisante pour mettre en évidence des effets modestes pourrait en partie expliquer la discordance des résultats.

La *MTHFR* fait aujourd'hui office de candidat idéal à l'étude du polymorphisme génétique associé avec un risque accru de développer une pathologie cancéreuse. En effet, la *MTHFR*, enzyme clé du métabolisme des folates est impliquée dans la synthèse d'ADN, sa réparation et sa méthylation. De part ces fonction, on peut aisément concevoir le fait que de nombreuses recherches ont été orientées dans ce sens.

L'association entre le polymorphisme C677T du gène du *MTHFR* et le risque du CaP a été traitée dans plusieurs études mais les résultats sont assez contradictoires.

Afin de confirmer ou d'infirmer cette association, nous avons entrepris d'étudier la distribution du polymorphisme C677T du gène *MTHFR* chez 54 sujets ; 31 témoins de sexe masculin présumés en bonne santé et 23 patients atteints d'un CaP.

Selon notre résultat on a constaté qu'il ya une relation entre le CaP et le tabac. ces résultats sont corrélé avec les résultats de **Zu K et al, (2009)** qui ont confirmé que les fumeurs ont un risque d'environ 30% de développer un CaP que les personnes qui ne sont pas des fumeurs (61).aussi les résultats de **James Bouchanan Brady, (2003)** le tabac augmente le risque d'avoir un cancer de la prostate et plus la consommation augmente plus le cancer sera agressive (62). **Michael Hunchark et al, (2010)** ont trouvé une association entre le tabac et l'incidence de CaP ainsi le taux de mortalité (63). Contrairement a **Butler et al, (2009)** qui ont constaté que le tabac ne constitue pas le majeure facteur chez les Singaporiens (64).

Ainsi que selon les résultats de **Jason Tntaroppo et al, (2006)** après radiothérapie externe radical le tabac associé a un risque plus grand de développé la métastase. (65).

Selon les résultats obtenus, on peut suggérer qu'il n'y a pas d'association entre le polymorphisme C677T du gène *MTHFR* et le risque de développer un CaP et cela que ce soit pour l'homozygote TT, l'hétérozygote CT ainsi que le variant CC considéré comme normal.

Les travaux de **Cicek et al, (2004)**, effectués sur ce type de polymorphisme et qui a porté sur une population américaine composée de 439 patients et 497 témoins, n'a pas permis de trouver une association entre le variant C677T du gène *MTHFR* et le risque relatif d'occurrence d'un CaP(60). Les résultats publiés par **Johansson et al. (2007)** (66) établis avec une étude réalisée sur 2777 patients et 1639 témoins d'une population européenne ainsi que celle de **Reljic et al, (2007)**(66) faite sur 95 patients de CaP ont également rapporté que les génotypes TT et CT ne contribuent pas à la susceptibilité génétique au CaP.

Cependant, d'autre étude, ont observé que l'allèle T exerce un effet protecteur contre le risque de contracter un CaP. Comme l'indique **Dawei et al, (2001)**(67) qui a réalisé une étude incluant 217 patients et 220 témoins ayant une HPB chez une population chinoise, le génotype TT a été associé à un risque réduit d'être atteint par un CaP (en comparaison avec la population générale).Il en est de même pour l'étude réalisée par **Mohamed Reza et al, (2010)** qui adémontré que l'homozygote TT est associé à une réduction d'environ 40% du risque du CaP chez la population Iranienne(68).

Néanmoins, d'autres études, ont observé une association significative entre l'allèle T et le risque du CaP. En 2003, **Heijmans et al** ont annoncé que le risque du CaP était plus haut parmiles individus homozygotes TT.L'interaction à la base de cette association pourrait être expliquée par la diminution du taux de folates d'une part et la consommation d'alcool qui

interféra avec l'absorption et l'usage de ces molécules chez les homozygote TT. De plus, l'activité restreinte de la MTHFR codée par l'allèle T, va entraîner une hypométhylation d'ADN qui aura pour conséquence l'interruption de l'approvisionnement du cycle des folates, favorisant ainsi la dépression des proto-oncogènes(64). Des études réalisées ultérieurement par *Van Guelpen et al, (2006)* et *Marchal et al, (2008)* ont confirmé qu'il y avait une relation entre le génotype CT et le risque du CaP. Soulignant au passage que l'étude de *Mohamed Reza et al, (2010)* a suggéré qu'il y a un risque légèrement accru de CaP et l'hétérozygote CT(69).

Suite à notre observation que 78.26% des patients sont ou étaient des fumeurs (facteur de risque souvent rapporté dans la littérature), nous avons opté pour l'étude de l'effet du tabagisme sur le risque de survenue d'un CaP. Notre étude a permis de révéler que le tabagisme augmente le risque de développer le CaP et l'agressivité du cancer est corrélée au nombre d'année de tabagisme ce qui concorde avec les résultats rapportés par la bibliographie (30). Cela peut être expliqué par le pouvoir mutagène (et donc potentiellement cancérigène) de certains composants présents dans la fumée du tabac. Il sera intéressant d'établir l'effet de la conjonction entre l'exposition à ce facteur de risque et l'existence d'un polymorphisme de la *MTHFR* ce qui pourra entraîner un risque significatif.

Dans la même optique, nous avons prospecté sur l'effet de l'alcool du fait que 30.43% de nos patients sont alcooliques. D'après les études menées dans ce sens, la consommation d'alcool n'influence pas le risque de développer un CaP(31).

En résumé, nos données indiquent que le polymorphisme C677T du gène *MTHFR* n'est pas associé avec le risque du CaP. Ces données illustrent parfaitement l'extrême hétérogénéité de distribution des génotypes CC, CT et TT en fonction des groupes ethniques. Cette variation de distribution des allèles C et T dans la population générale suggère que les études menées sur une éventuelle association entre le polymorphisme de la *MTHFR* et l'occurrence de pathologies (cancéreuses ou autres) doivent être menées sur des échantillons de grande taille et comparées avec une population témoins de taille conséquente. Dans des études de type cas-témoins et en présence d'une telle variabilité de distribution, des études sur ce polymorphisme doivent être menées sur une population « ethniquement » homogène afin de faire ressortir l'effet réelle que cause le polymorphisme indépendamment de l'influence de l'origine ethnique.

Dans notre travail nous avons entrepris une étude transversale de type cas-témoins afin de prospecter l'éventuelle relation entre le polymorphisme C677T de la *MTHFR* et le risque de développer un cancer de la prostate. Les résultats du génotypage obtenus par PCR/Digestion et révélés sur les profils électrophoretiques ont été comparés avec une population témoins et n'a montré aucune association significative entre l'incidence du cancer de la prostate et le facteur de risque étudié dans notre échantillon. Ces résultats ne peuvent conclure à l'absence de relation entre le polymorphisme étudié et l'apparition de cancer de la prostate. En effet, la taille de notre échantillon n'est pas suffisante pour en tirer des conclusions cohérentes.

À la lumière de ce travail de recherche, il serait intéressant dans l'avenir de poursuivre l'étude de l'influence du polymorphisme C677T de la *MTHFR* dans l'étiologie du CaP en utilisant un échantillon de taille suffisante et en tenant compte de l'origine ethnique, le statut du métabolisme des folates en interaction avec des facteurs environnementaux dont les habitudes alimentaires constituent aujourd'hui le pilier axial.

- 1- Emmanuel banayan. Apport de l'IRM rostatique multiparamétrique avec antenne de surface dans le bilan pré-biologique du cancer de la prostate. Thèse de doctoraat. 2010. Université PARIS DESCARTES ; 117 p.
- 2- Cherradi N. cancer de la prostate, 5 éme année de Médecine-Faculté de Médecine et deet de pharmacie, Rebat. 2010.
- 3- Lacave R, Lrsen CJ, Robert J. cancérologie fondamentale. France. 2005 ; 165-172p.
- 4- G Fournier, A valeri, O Cusenot Cancer de la prostate epidemiologieFacteur de risque Anatomopathologie Annales d'urlogie 38 2004 187-206
- 5- http://sante.canoe.ca/channel_condition_info_details.asp?channel_id=2035&relation_id=101280&disease_id=108&page_no=2#Treatment
- 6- Glocan. Cancer incidence, mortality and prevalence world wide. (2008)site web www.globacan.iarc.fr
- 7- L Salomon et al. Recommendation en onco-urologie du CCAFU : cancer de la prostate.2013.
- 8- www.ligue-cancer.net
- 9- Dridi Kh. Recherche des microdéletionsdu chromosomes Y (SRY et SMCY) chez des patients ayant un cancer prostatique. Mémoir biologie. Algérie : Université Mentouri Constantine. 2013
- 10- Cancer of the prostate, Franch, Translated 04/08. Queen's Printer and cotroller of HMSO. 2008
- 11- Mattias Johansson et al. The MTHFR C6777T polymorphism and risk of prostate cancer :resultas from the CAPS study. Cancer causes control (2007) 18 : 1169-1174.
- 12- Karagas MR et al. Methyleneterahydrofolatereductase (MTHFR) variantsand bladder cncer : A population-based case control study. Int. J. hyg. Environ-helth. 2005 ; 208 : 321-327.
- 13- Chen J et al. Linkage disequilibrium between the 6774T and 1298A C polymorphismsin human methylenetrahydrofolatereductase gene and their contributions to risk of colorectal cancer. Pharmacogenetics. 2002 ; 12 : 339-42.
- 14- Lin J et aal polymorphisms of folte metabolic genes and susceptibility to bladder ancer : a case-control study. Carcinogenesis. 2004 ;25 : 1639-47.
- 15- Jegla M. etude de l'impact de mutations du domaine de liaison a l'ADN sur les fonctios du récepteur des androgènes dans le cancer de la prostate. Thèse biologie. Strasbourg : université Louis Pasteur. 2007.
- 16- http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Prostate_et_vesicules_seminales.jpg
- 17- <http://www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/cancer-type/prostate/anatomy-and-physiology/?region=on#ixzz2xOZK2h6d>

- 18- <http://www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/cancer-type/prostate/anatomy-and-physiology/?region=on#ixzz2xOZZDChM>
- 19- Monge M. conséquences fonctionnelles et structurales de l'association de deux mutations du récepteur des androgènes dans le cancer de la prostate. Thèse biologie. Strasbourg : université Louis Pasteur ; 43-62p.
- 20- Reveiller M. étude du ligand TRAIL et ses récepteurs dans la prostate normale. Thèse doctora. université Claude Bernard, Lyon. 2008
- 21- Carnu J-N., Cussenot O. biologie moléculaire de la prostate normale et pathologique. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris) , urologie, 18-500-B-10, 2011
- 22- Les traitements du cancer de la prostate, collection guides patients Cancer info, INCa.2010.
- 23- COMMUNIQUÉS DE PRESSE. Evolution de l'incidence et de la mortalité par cancer en France entre 1980 et 2012.
- 24- Margel D cancer de la prostate. BMT open France
- 25- http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:http://medphar.univ-poitiers.fr/registre-cancers-poitou-charentes/documents_registre/fiche_prostate.pdf
- 26- Chibane A. cancer de la prostate la tribune .Algerie. 2009
- 27- Le quotidien national du soir. cancer de la prostate
- 28- Tellouche S. étude de la relation entre le polymorphisme C677T de la méthyltétrahydrofolate réductase (MTHFR) et le risque du cancer de la prostate. Mémoire biologique. Algérie : université Mentouri. 2011.
- 29- Guideline F. prostate cancer. Developed for NICE by the National Collaborating center for cancer. 2008.
- 30- M. Wisard H-J. Leinger, 2006. Urologie la prévention du cancer de la prostate est possible. Revue médicale Suisse, numéro d'article : 309030
- 31- Yeu Charlatte. Elément intervenant dans la décision médicale en médecine générale exemple de dépistage du cancer de la prostate par dosage des PSA. Thèse de doctorat en médecine. 2008. LEONARD DE VINCI Université PARIS. P20.
- 32- De Gouvello A, Meria P, Simon P. cancer de la prostate. Urologie. 2009. 33-41 p.
- 33- T. Shaneyfelt, R. Huein, G. Bublely and C.S. Mantzoros, Hormonal predictors of prostate cancer : a meta-analysis, J Clin Oncol 18 (2000), pp. 847-853.
- 34- J-L. Schlienger, f. Luca, S. Vinzio, A. Pradignac. Obésité et cancer. Médecine Interne volume 30, issue 9, pages 776-782
- 35- D. Lizee, A. Ouzzane, A. Villers. Cancer de la prostate : diagnostic et bilan d'extension EMC urologie. (2012).

- 36- X REBILLARD et al. Cancer de la prostate. Progrès en Urologie. 2002. 12, p32.
- 37-
- 38- www.ligue-cancer.net
- 39- Institut national du cancer. Les traitements du cancer de la prostate. 2010. GUIPROS10.
- 40- E. Xylinas, M Peyromaure. Cancer de la prostate : traitement. 2012. 18-56-A-14.
- 41- RENNES20100604091021cpiszkorcas_clinique_prostate_DCEM3_2010.
- 42- L Salomon et al. Recommendation en onco-urologie du CCAFU .2010.
- 43- G. Fournier. A. Valeri. P. Mangin. O. Cussenot. Prostate cancer. Epidemiology. Riskfactors.Pathology. annales d'urologie. (2004) volume 38, Issue 5 : 187-206.
- 44- P. Blanchet, L. Multigner. Pesticides et cancer de la prostate. Progrès en urologie. 2008. 18.3.F19-21.
- 45- Cussenot O, Geraldine C-T. facteurs de risques pour le cancer de la prostate. M/S : médecine sciences, vo.20, n°5. 2004. P 562-562.
- 46- Fontaine E, Cussenot O. cancer de la prostate : Aspects génétique du cancer de la prostate en Urologie. 203 ;13-1278p.
- 47- Ammerich G. cancer de la prostate et génétique. Dernière modification le 17/10/2011 : 15 :08 :25p.
- 48- Lcave R, Larsen CJ, Robert J. cancérologie fondamentale. France.2005 ; 165-172p
- 49- <http://ghr.nlm.nih.gov/gene/AR> June 16, 2014 consulter le 17/06/2014 + ARTICLE
- 50- <http://ghr.nlm.nih.gov/gene/ERBB2> June 16, 2014 consulter le 17/06/2014
- 51- <http://ghr.nlm.nih.gov/gene/BCL2> June 16, 2011 consulter le 17/06/2014 + ARTICLE
- 52- <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=MYCL> Last full update: 23 Oct 2013
consulter le 17/06/2014
- 53- LAtil A et al. Oncogene amplifications in early-stage human prostate carcinomas. Int J Cancer 1994 ; 59(5) :398-406.
- 54- Thierry P ., Hamzzi K et al. Fréquence du polymorphisme C677T du gène de méthylène tétrahydrofolate reductase (MTHFR) dans les population arabe et berber du Maroc. Anropo 20,11-17.
- 55- Ribouh A. Etude statistique et moléculaire du cancer de la vessie. Mémoire biologie. Algérie : Université Mentouri Constantine. 2013.
- 56- Yamanda K, Chen Z, Rozen R, and Matthews RG. Effects of common polymorphisms on the properties of recombinant human methylenetetrahydrofolate reductase. Proc Natl Acad Sci. 2001; **98**: 14853-14858

- 57-** Selhub J, Miller JH. The pathogenesis of homocysteinemia: interruption of the coordinate
- 58-** Eskes TK. Abnormal folate metabolism in mothers with Down syndrome offspring: Review of the literature. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2005; **124**: 130 – 133.
- 59-** Coujard R, Poirier J, Racadot J. précis d'histologie humaine. Masson (ed), Paris, 1980 ; p.578-581.
- 60-** Cicek M., Nock N et al. Relationship between methylene tetrahydrofolate reductase C677T and A1298C génotypes and haplotypes and prostate cancer risk and aggressiveness. *Cancer Epidemiol. Biomarkersprevent.* 13, 1331-1336.
- 61-** Zu K et al. Smoking and aggressive prostate cancer : Evidence of the epidemiologic evidence. *Cancer causes control.* 2009 décembre ; 20(10) :1799-810.
- 62-** James Buchanan Brady. Urological institute Johns Hopkins medical institution prostate cancer worse in men who smoke. Volume VI, winter. 2003.
- 63-** Butler et al. cigarette smoking and prostate cancer. *Cancer causes control.* 2009 Dec, 20(10) : 1967-74.
- 64-** Jason Tantaroppo et al. Smoking is associated with prostate cancer treated by radical radiotherapy. *BJU international* 2006 ; 99, 564-569.
- 65-** Michael Hunchark et al, smoking as risk factor for prostate cancer : a meta-analysis of 24 prospective cohort studies. *Am J public health.* 2010 ; 100 : 693-701.
- 66-** <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/AAA16619.2>
- 67-** Cai D., Ning L et al association of polymorphisms in folate metabolic genes and prostate cancer risk : a case-control study in Chinese population. *J. Genet.*89(2010), xx-xx.
- 68-** MOHAMED REZA SAFARINEJAD., SHAFIEI Nayer., SAFAEINEJAD Shiva. Relationship Between threepolymorphisms of Methylene tetrahydro folate Reductase(MTHFR C677T, A1298C ? ANDG1793A) Gene and RISK OF PROSTATE CANCER/ a Case- control Study. *The prostate Y.*2010,vol.70N°.15 page 1645-1657.
- 69-** Bastiaan T. Heijmans., Jolanda M.A Boer and al. A common Variant of the Methylene tetrahydrofolate Reductase Gene (1p36) Is Associated with an Increased Risk of Cancer. *CANCER RESEARCH* 63, 1249-1253, March 15, 2003

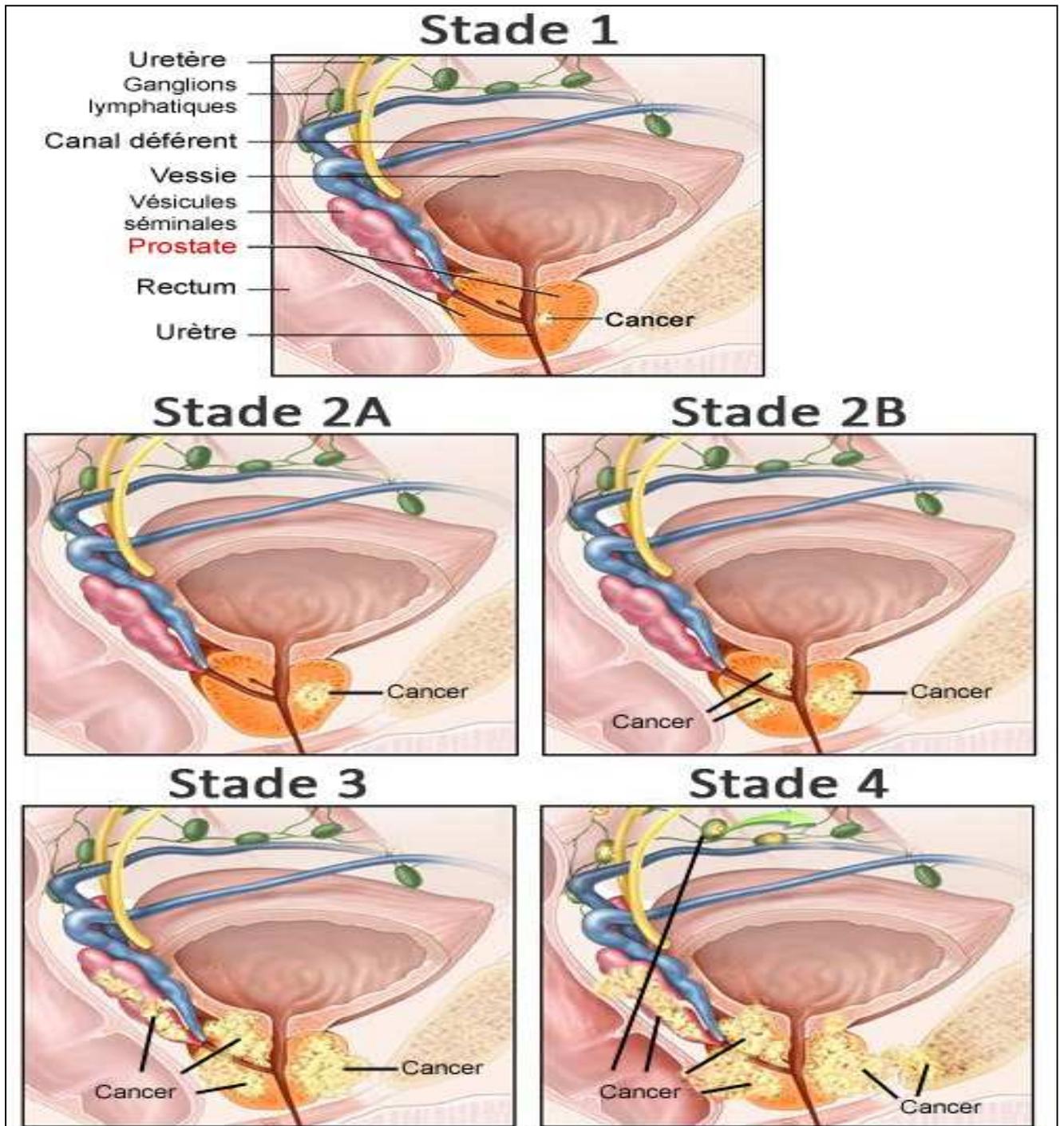
Annexe I : Classification TNM 2010 du cancer de la prostate (39).

T	Tumeur primitive
Tx	Tumeur primitive non évaluée
T0	Tumeur primitive non retrouvée
T1	Tumeur ni palpable au toucher rectal (TR), ni visible en imagerie
	T1a : tumeur occupant moins de 5 % du tissu réséqué avec un score de Gleason < 7 ou absence de grade 4 ou 5
	T1b : tumeur occupant plus de 5 % du tissu réséqué ou un score de Gleason > 7 ou présence de grade 4 ou 5
	T1c : tumeur découverte sur une biopsie prostatique en raison d'une élévation de la valeur des PSA
T2	Tumeur limitée à la prostate
	T2a : tumeur atteignant la moitié d'un lobe ou moins
	T2b : tumeur atteignant plus de la moitié d'un lobe mais sans atteindre les 2 lobes
	T2c : tumeur atteignant les 2 lobes
T3	Extension au- delà de la capsule
T4	T3a : extension extra- capsulaire uni- ou bilatérale
	T3b : extension aux vésicules séminales uni- ou bilatérale
	Tumeur À x ou atteignant d'autres structures que les vésicules séminales (sphincter externe, rectum, muscles releveurs de l'anus ou la paroi pelvienne)
N	Ganglions régionaux
NX	Ganglions régionaux non évalués
N0	Absence de métastase ganglionnaire régionale
N1	Atteinte ganglionnaire régionale
N1 mi	Métastase ganglionnaire de 0,2 cm (optionnel) Métastases à distance
MX	Métastases à distance non évaluées
M0	Absence de métastase à distance
M1	métastases à distance
	M1a : atteinte des ganglions non régionaux
	M1b : atteinte osseuse
	M1c : autres sites avec ou sans atteinte osseuse

AnnexeII :Classification d'Amico(39).

Risque faible	PSA10 ng/ml et score de Gleason 6 et stade clinique T1c ou T2a.
Risque intermédiaire	PSA entre 10 et 20 ng/ml ou score de Gleason 7 ou stade clinique T2b.
Risque élevé	PSA > 20 ng/ml ou score de Gleason > 7 (8, 9 ou 10) ou stade clinique T2c.

Annexe III : Schéma de l'évolution du cancer de la prostate.



Annexe IV : Formulaire de consentement libre et éclairé de participation à un projet de recherche

Cancer de la prostate : gènes de susceptibilité et marqueurs génétique

Je soussigne, Monsieur,.....certifie avoir reçu la note d'information concernant l'étude citée ci-dessus.

Il m'a clairement été précisé que je suis ENTIEREMENT LIBRE D'ACCEPTER OU DE REFUSER DE PARTICIPER À CETTE RECHERCHE.

Je certifie avoir compris l'objectif, et les modalités de cette étude. Je donne mon accord pour la participation à cette étude.

Sur les examens à caractéristiques génétiques réalisés à partir :

Du sang qui m'a été prélevé le :

/ / 2014 à.....

Enfin, j'ai compris que je ne recevrai aucune indemnité pour ma participation à cette étude.

Signature du patient :

.....

Nous vous remercions de l'aide que vous apportez ainsi à la recherche scientifique.

Si la personne est inapte à lire et à écrire le français : le cas échéant,

En l'absence d'autonomie de lecture et d'écriture de M....., la tierce personne ci-dessous identifiée, atteste avoir personnellement et fidèlement lu au sujet la notice d'information et le présent formulaire de consentement, et recueilli son accord pour signer ici en son nom.

Tierce personne :

Mme,

Mlle,

M.....Signature.....

Signature du médecin traitant :

II) Renseignements cliniques :

Présence de pathologies associées :

Antécédents personnel : prostatites , date :

Age de diagnostic du CaP : ans

Tumeur : localisé ou Non localisé : sans prostatectomie

: Après prostatectomie, opéré le : /
/20

Bilan biologique : PSA = ng /ml, le : / / 20

TR :

Classification TNM :

.....
.....
.....
.....

Score de Gleason :

.....
.....
.....
.....

Scintigraphie :

.....
.....
.....
.....

Prise actuelle de thérapeutiques :

Sous chimiothérapie

Sous hormonothérapie

III) Enquêtes familiales :

Antécédents familiaux de CAP : oui/non ...si oui : 1 degré

Et /ou : 2 degré

Arbre généalogique :

Résumé

Objectifs

Plusieurs facteurs sont impliqués dans la survenue du cancer de la prostate. Nous avons réalisé une étude transversale dans le but d'étudier quelques facteurs de risque et pour élucider s'il y a une association ou non entre le polymorphisme de la *MTHFR* et le cancer prostatique.

Patients et méthodes

Notre étude est de type cas-témoins est réalisée sur 23 patients atteints d'un cancer de la prostate et 31 témoins.

L'extraction de l'ADN génomique a été effectuée à partir des leucocytes. Le génotypage du gène de la *MTHFR* a été réalisé en utilisant la méthode PCR-RFLP.

Résultats

Le calcul des Odds ratio et des P value, montre bien qu'il n'existe pas d'association entre le polymorphisme C677T de la *MTHFR* et le cancer prostatique que soit pour le génotype CT (**OR = 0.73 et P = 0.62**) ou pour le génotype TT (**OR = 0.20 et P = 0.06**).

Conclusion

Les résultats de notre étude sur la répartition génotypique du polymorphisme C677T de la *MTHFR* ne montre aucune association entre ce polymorphisme et le cancer prostatique.

Mots clés : Cancer de la prostate, *MTHFR*, biologie moléculaire.

Summary

Objective

Several factors are involved in the occurring of prostate cancer. We conducted a cross-sectional study in order to study some risk factors and to elucidate whether there is an association or not between the *MTHFR* polymorphism and prostate cancer.

Patients and methods

Our study is a case-control and carried out on 23 patients with prostate cancer and 31 controls.

The extraction of genomic DNA was performed from leukocytes. Genotyping of the *MTHFR* gene was performed using the PCR-RFLP method.

Results

Calculating the odds ratio and P value, shows that there is no association between the C677T polymorphism of *MTHFR* gene and prostate cancer, either for CT genotype (OR = 0.73 and P = 0.62) or the TT genotype (OR = 0.20 and P = 0.06).

Conclusion

The results of our study on the genotypic distribution of the C677T polymorphism of the *MTHFR* show no association between this polymorphism and prostate cancer.

Keywords: Prostatic cancer, *MTHFR*, molecular biology

ملخص

الأهداف

تشارك عدة عوامل في حدوث سرطان البروستاتا. أجرينا دراسة مستعرضة من أجل دراسة بعض عوامل الخطر وتوضيح ما إذا كان هناك وجود علاقة أم لا بين تعدد الأشكال *MTHFR* وسرطان البروستاتا.

المرضى وطرق

دراستنا هو تتم مراقبة حالة الخروج على 23 مريضا يعانون من سرطان البروستاتا و 31 الضوابط . تم إجراء استخراج الحمض النووي الجيني من الكريات البيضاء. تم إجراء التتميط الجيني للجين *MTHFR* باستخدام طريقة PCR-RFLP.

النتائج

حساب نسبة الأرجحية وقيمة P، تبين أنه لا يوجد أي ارتباط بين تعدد الأشكال C677T من *MTHFR* وسرطان البروستاتا من النمط الجيني إما (OR = 0.73 P = 0.62) CT أو النمط الجيني TT (OR = 0.20 P = 0.06)

استنتاج

نتائج دراستنا على توزيع الوراثة من تعدد الأشكال C677T من *MTHFR* لا يظهر أي ارتباط بين هذا التعدد وسرطان البروستاتا.

كلمات مفتاحية: سرطان البروستاتا ، *MTHFR* ، البيولوجيا الجزيئية.

Année universitaire : 2013 - 2014

Présenté par : CHETMI Rahma,
MOUSSA Ramla.

Étude du polymorphisme C677T de la méthylène tétrahydrofolate réductase (*MTHFR*) associé au Cancer de la prostate

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de **Master en Génétique Moléculaire** (filière de Biologie Animale, domaine des Sciences de la Nature et de la Vie).

Objectifs

Plusieurs facteurs sont impliqués dans la survenue du cancer de la prostate. Nous avons réalisé une étude transversale dans le but d'étudier quelques facteurs de risque et pour élucider s'il y a une association ou non entre le polymorphisme de la *MTHFR* et le cancer prostatique.

Patients et méthodes

Notre étude est de type cas-témoins est réalisée sur 23 patients atteints d'un cancer de la prostate et 31 témoins. L'extraction de l'ADN génomique a été effectuée à partir des leucocytes. Le génotypage du gène de la *MTHFR* a été réalisé en utilisant la méthode PCR-RFLP.

Résultats

Le calcul des Odds ratio et des P value, montre bien qu'il n'existe pas d'association entre le polymorphisme C677T de la *MTHFR* et le cancer prostatique que soit pour le génotype **CT (OR = 0.73 et P = 0.62)** ou pour le génotype **TT (OR = 0.20 et P = 0.06)**.

Conclusion

Les résultats de notre étude sur la répartition génotypique du polymorphisme C677T de la *MTHFR* ne montre aucune association entre ce polymorphisme et le cancer prostatique.

Mots clés : Cancer de la prostate, *MTHFR*, biologie moléculaire.

Jury d'évaluation :

Président du jury : Satta Dalila (Professeur - Université Constantine I).

Rapporteur : Ouldjaoui Ahmed (MC.B - Université Constantine III),

Co-Rapporteur : Rezgoune-Chellat Djalila (MC.B - Université Constantine I).

Examineur : Ziada-Bouchar Hadia (MA.A - Université Constantine I),

Soutenu publiquement le : lundi 30/06/2014.