



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Biologie Animale

قسم : بيولوجيا الحيوان

Mémoire présenté en vue de l'obtention d'un Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Génétique Moléculaire*

Intitulé :

***ETUDE DE L'ASSOCIATION ENTRE LE POLYMORPHISME
ARG72PRO DU GENE DE LA P53 ET LE CANCER***

Présenté et soutenu par : *BENMAKHOUF Maamar*
BOUHZAM Seif El Islam

Le : 12/06/2016

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mme SATTI Dallila (Professeur - UFM Constantine).

Rapporteur : Mme SEDRATI Khadidja (MAA- UFM Constantine).

Examineurs : Mme BOUDKHANE Ibtissem (MAA- UFM Constantine).

Mme BENLETRECHE Moufida (MAA- UFM Constantine).

***Année universitaire
2015 - 2016***

REMERCEMENT

Tout d'abord, Nous remercions DIEU pour nous avoir donné la santé, la volonté et le courage pour affronter la pression, continuer et réussir nos études, comme nous l'avons toujours souhaité.

Nos premiers remerciements iront à notre rapporteur Mme SEDRATI Khadija maitre assistante à l'université de frères Mentouri Constantine 1, qui a su nous conseiller efficacement tout en nous laissant travailler librement. Pour son humanité et sa confiance, sa patience et ses remarques avisées toute notre reconnaissance lui est acquise.

Nous remercions notre professeur Mme SATTI Dallila de l'université des frères Mentouri Constantine 1 pour sa précieuse aide et de n'avoir négligé aucun effort pour nous apporter soutien et recommandation. ses précieux conseils et ses qualités de rigueurs scientifiques ont largement contribué à notre formation et d'avoir voulu nous faire l'honneur d'être la présidente de jury.

Nous remercions également Mme BOUDOUKHANE Ibtissem ET Mme BENLETRICHE Moufida d'avoir bien voulu nous faire l'honneur d'examiner ce travail.

Nous tenons aussi à remercier l'ensemble de nos enseignants qui nous ont transmis leur savoir et leur expérience durant tout notre cursus universitaire et permis ainsi d'atteindre le niveau scientifique nécessaire pour la réalisation de ce travail.

Enfin, à ceux de près ou de loin qui nous ont aidés et encouragés dans la concrétisation de ce travail.

Dedicaces

Je dédie ce modeste travail à ma mère et mon père et mes grands parents, aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de vos sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation et ma formation.

A ma tante Bouba pour son soutien tout au long de ces années ma pauvre plume n'arrive pas exprimer le trémolo sentimental que je subis à ce moment .

Sans oublier ma tante Hafiza et mes oncles qui m'ont toujours soutenu et encouragé durant tout mon parcours scolaire.

A mon frère, Abderhmene .

A mes très chers amis Raouf, Seif et Baderedine .

A toute personne qui m'a aidé de près ou de loin pour terminer ce travail et surtout mon cher ami Salah.

Maamar

Dedicaces

*Je dédie ce travail à ces personnes qui m'ont aidé
et soutenu durant tout le travail :*

Mes parents

Mes frères

Fouad et Zakaria

A toute ma famille et mes amis

*A toute personne qui m'a aidé de près ou de loin pour terminer ce
travail.*

Sief El Islam

Liste des figures

Figure 01 : Evolution estimé du nombre de cas de Cancer	3
Figure 02 : Répartition de l'incidence par tranches d'âges chez l'homme	4
Figure 03 : Répartition par tranches d'âges chez la femme	5
Figure 04 : Les formes de cancers les plus fréquents chez l'homme en Algérie en 2010	6
Figure 05 : Les formes de cancers les plus fréquents chez la femme en Algérie en 2010	6
Figure 06 : Étapes de la cancérogenèse	12
Figure 07 : Régulation du cycle cellulaire	17
Figure 08 : Structure du gène P53	18
Figure 09 : Domaines de la protéine P53	19
Figure 10 : Transcription du gène P53	20
Figure 11 : Traduction de l'ARN messenger P53	21
Figure 12 : Le pourcentage des mutations de P53 par type d'organe	25
Figure 13 : Les différents polymorphismes de gène P53	26
Figure 14 : Site de restriction de l'enzyme <i>Bsh 1236I</i>	31
Figure 15 : Fréquences génotypiques du polymorphisme Arg72Pro du gène de la p53 dans la population témoin	34
Figure 16 : Fréquences alléliques du polymorphisme arg72pro du gène de la p53 dans la population témoin	35
Figure 17: Fréquences génotypiques du polymorphisme Arg72Pro du gène de la p53 dans la population témoin et la population malade	37
Figure 18 : Fréquences alléliques du polymorphisme Arg72Pro du gène de la p53 dans la population témoin et la population malade	37

Liste des tableaux

Tableau 01 : Exemples de gènes impliqués dans différents cancers (oncogènes)	15
Tableau 02 : Exemple de gènes suppresseurs de tumeurs pouvant être mutés dans certains cas de cancer	16
Tableau 03 : Composants du mélange réactionnel de PCR	29
Tableau 04 : Mix de digestion	31
Tableau 05 : Fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme Arg72Pro du gène de la p53 dans la population témoin	34
Tableau 06 : Fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme Arg72Pro du gène de la p53 dans la population cancéreuse	36
Tableau 07 : Fréquences génotypiques du polymorphisme Arg72Pro du gène de la p53 dans la population témoin et la population malade	36

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique .

APC : Anphase Promoting Complex

ARN : Acide Ribonucléique .

BAX : BCL2-associated X protein.

BCL1 : B-cell leukemia/ lymphoma 1

BCL2 : B-cell leukemia/ lymphoma 2

BET : Bromure d'ETHidium.

BRCA1: Breast Cancer Gene 1

BRCA2: Breast Cancer Gene 2

CDK : Cyclin-Dependent Kinase.

DCR2 : Decoy Receptor 2.

HB-EGF : Heparin-Binding EGF-Like Growth Factor.

HER2: Human epidermal growth factor receptor 2 .

HPV: Papillomavirus humains.

INSP : Institut National de Santé Publique.

MDM2 : Murine double minute 2 homologue.

MEFS : Myeloid Elf-1 like Factors .

NF1: Nuclear factor 1 .

NF2: Nuclear factor 2 .

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

Pb: Paire de base.

PCR: Polymerase Chain Reaction.

PGDF : Platelet-derived growth factor.

RB: Rétinoblastome .

RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism.

ROS : Reactive Oxygen Species .

RPA : Replication Protein A.

SNP: Single Nucleotide Polymorphisms.

SV 40: Virus simien 40.

TBE : Tris Borat EDTA.

TNF-R1: Tumor Necrosis Factor Receptor 1.

TNM: Tumor, Nodes, Metastases.

UV : Ultra Violet .

VADS : Voies Aérodigestives Supérieures.

VHL : Von Hippel Lindau.

XBP: X-Box Binding Protein .

XPD : Xeroderma Pigmentosum Group D.

Table des matières

Introduction	1
Partie bibliographique	
I. Le cancer	2
1. Définition	2
2. Epidémiologie	3
3. Les caractéristiques des cancers	7
3.1 Les caractères évolutifs	7
3.2 Les caractères macroscopiques	7
3.3 Les caractères histologiques	7
4. La classification des cancers	7
4.1 La classification selon le type	8
4.2 La classification selon le stade	8
5. L'évaluation du pronostic du cancer	9
5.1 Le grade	10
5.2 Le stade	10
6. Mécanisme de cancérogenèse	11
7. Les facteurs de prédisposition au cancer	13
7.1 Les facteurs exogènes	13
7.2 Les facteurs endogènes	14
7.3 Les facteurs génétiques	14
II. P53	17
1. Le gène P53	18
2. La protéine P53	19
3. La transcription du P53	20
4. La traduction de la p53	20
5. Les fonctions de la P53	21
5.1 La régulation du cycle cellulaire	21
5.2 Un gène suppresseur de tumeur	21
5.3 L'activité anti apoptotique de la P53	22
5.4 La régulation de l'activité des autres protéines	22
5.5 P53 un facteur de Transcription	23

5.6 La réparation de l'ADN	23
5.7 La régulation du métabolisme	23
6. P53 et cancer	24
7. Les mutations et les polymorphismes du gène P53	25
7.1 Les Mutations du P53	25
7.2 Les polymorphismes du P53	26
* Le polymorphisme Pro 47 Ser	27
* Le polymorphisme Val 217 Met et Gly 360Ala	27
* Le polymorphisme Arg72Pro	27

Partie pratique

Patients et méthodes	28
1. Population d'étude	28
2. Méthodologie	28
2.1 Recueil de l'ADN	29
2.2 L'amplification de l'ADN par PCR	29
2.3 Contrôle des produits PCR	30
2.4 Digestion enzymatique des produits PCR	31
2.5 Electrophorèse des produits de la digestion	31
2.6 Etude statistique analytique	31
Résultats	33
1. Profil RFLP obtenus	33
2. Résultats du génotypages	34
Discussion	38
Conclusion	41

Références bibliographiques

Annexe

Résumé

INTRODUCTION

Le terme « cancer » est très général et regroupe plus d'une centaine de maladies définies par une prolifération anormale et incontrôlée de cellules. Cette hyper-prolifération peut toucher n'importe quelle partie du corps et peut essaimer dans d'autres organes pour former des métastases. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), le nombre de nouveaux cas en 2012 est recensé à 14,1 millions.

Le gène TP53 situé sur le chromosome 17p13, codant pour la protéine suppresseur de tumeur p53, est muté dans près de 50% des cancers. En effet, cette protéine est un facteur de transcription qui joue un rôle central dans la réponse à divers types de stress en régulant l'arrêt du cycle cellulaire, la sénescence, l'apoptose ou encore la réparation de l'ADN (Levine et *al.*, 2006).

À ce jour, plusieurs polymorphismes dans le locus du gène p53 de type sauvage ont été décrits. Le polymorphisme du codon 72 situé sur le quatrième exon du gène, qui produit des protéines variantes par une arginine (CCG) ou la proline (CCC), a été rapporté comme étant associée à l'apparition de plusieurs types de cancer.

Ce fut notre thème d'étude, dont les objectifs sont :

- Tenter d'apporter une approche dans la compréhension et l'exploration d'une composante de processus de cancérisation.
- Maîtriser les outils et les techniques de bases de biologie moléculaire (l'amplification en chaîne par polymérase PCR et polymorphisme de longueur des fragments de restriction RFLP).
- Etudier la distribution du polymorphisme du codon 72 dans la population générale.
- Déterminer une possible association entre le polymorphisme du codon 72 du gène P53 et la survenue de cancer.



PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

I. Le cancer

1. Définition

Le cancer est une maladie caractérisée par la prolifération incontrôlée de cellules, liée à un échappement aux mécanismes de régulation de la division cellulaire qui assure le développement de l'organisme. La cellule perd sa forme spécifique, ne réagit plus aux signaux extérieurs, en particulier aux signaux d'inhibition de la croissance. Elle se multiplie exagérément, ainsi que ses descendantes. Une seule cellule maligne peut être à la base d'un cancer. (Paul et *al.*, 2001).

En se multipliant de façon anarchique, les cellules cancéreuses donnent naissance à des tumeurs de plus en plus grosses qui se développent en envahissant puis détruisant les zones qui les entourent (organes). Les cellules cancéreuses peuvent également essaimer à distance d'un organe pour former une nouvelle tumeur (métastases), ou circuler sous forme libre par voie lymphatique (envahissement ganglionnaire). En détruisant son environnement, le cancer peut devenir un réel danger pour la survie de l'être vivant.

Le cancer est dû à des anomalies génétiques touchant le génome de la cellule. Au moins deux modifications et souvent davantage, en général quatre, sont nécessaires pour que la cellule devienne maligne. (Cavenée et *al.*, 1995).

D'un point de vue pathologique, les cancers sont des maladies génétiques, c'est-à-dire qu'ils ont pour origine une modification quantitative et/ou qualitative de nos gènes. Comme il s'agit d'altérations génétiques somatiques qui ne sont présentes que dans le tissu malade, la plupart des cancers ne sont donc pas eux-mêmes héréditaires, seul un terrain plus ou moins favorable pouvant l'être. Les cancers familiaux (10 % des cancers humains) sont associés à une altération constitutionnelle (ou germinale) d'un gène. Cette altération est donc présente dans toutes les cellules de l'organisme, gamètes inclus. Elle peut être transmise à la descendance.

2. Epidémiologie

Le cancer est un problème majeur de santé publique dans le monde. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), le nombre de nouveaux cas en 2012 est recensé à 14,1 millions et le nombre de décès à 8,2 millions. (Plan national du cancer. 2014).

Il a été estimé en 2008 que 70% des décès par cancer dans le monde survenaient dans les pays en développement. La fréquence des cancers pourrait augmenter de 50 % dans le monde, avec 15 millions de nouveaux cas par an en 2020. A l'horizon 2030, il est prévu que le nombre de décès par cancer dans le monde s'élève à 13,1 millions. (Plan national du cancer. 2014).

L'Algérie a connu à partir des années 90, une transition démographique profonde et rapide qui a entraîné une modification structurelle du profil épidémiologique de sa population. Celle-ci a connu une baisse de la mortalité générale qui a été divisée par 4 en l'espace de 50 ans (16,45 pour mille à la fin des années 60 à 4,41 pour mille habitants en 2008) et une baisse importante de la mortalité infanto-juvénile corrélée à une augmentation progressive de l'espérance de vie estimée à 25 années au cours des 50 dernières années, ce qui a eu pour conséquence un vieillissement progressif de la population avec une part de plus en plus importante des personnes âgées de plus de 60 ans dans la pyramide des âges. L'augmentation de l'incidence de cette maladie qui est passée de 80 nouveaux cas pour 100.000 habitants en 1990 à plus de 130 nouveaux cas pour 100.000 habitants en 2010 est significative et il est prévisible qu'elle va progresser, pouvant atteindre rapidement 50.000 cas par an (Figure 01). (Plan national du cancer . 2014).

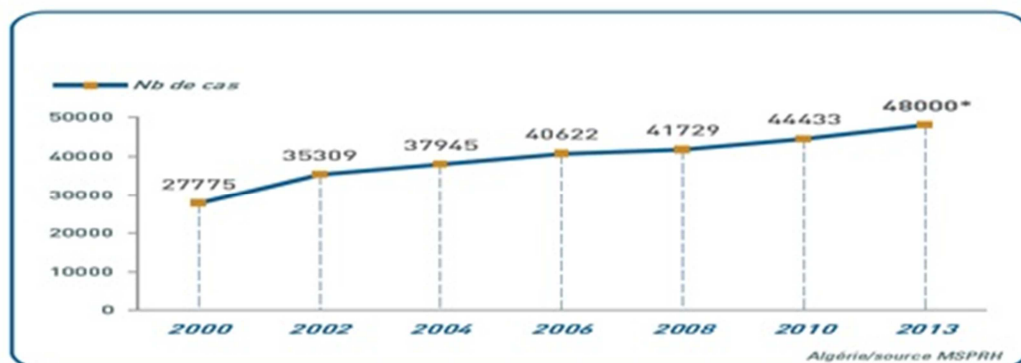


Figure 01 : Evolution estimée du nombre de cas de Cancer. (Plan National Cancer . 2014)

L'enquête nationale réalisée en 2004 par l'Institut National de Santé Publique (INSP) sur l'incidence et la prévalence des cancers sur la base des 31 000 cas de cancers enregistrés en 2002 relevait que seul un 1/3 des cancers était diagnostiqué à un stade précoce, les 2/3 restants l'étant à des stades invasifs et métastatiques. (Plan national du cancer. 2014).

Près de 40% des patients n'étaient pas retrouvés dans le circuit thérapeutique et seul 1/3 des malades bénéficiaient d'un protocole thérapeutique complet. Le délai moyen d'attente pour une cure de radiothérapie était de six (06) mois.

Actuellement, l'âge moyen pour tous les cancers est de 54 ans. Cet âge est bas comparé à l'âge médian des cancers dans les pays développés (62 ans en moyenne). L'ascension de la courbe d'incidence s'amorce tôt, avant 40 ans puis évolue de manière exponentielle jusqu'à la fin de la vie. Dès l'âge de 60 ans, les taux d'incidence enregistrés en Algérie s'alignent sur ceux enregistrés dans les pays développés, particulièrement ceux d'Europe du Sud. Ceci se varie autant pour les hommes que pour les femmes. (Plan national du cancer. 2014).

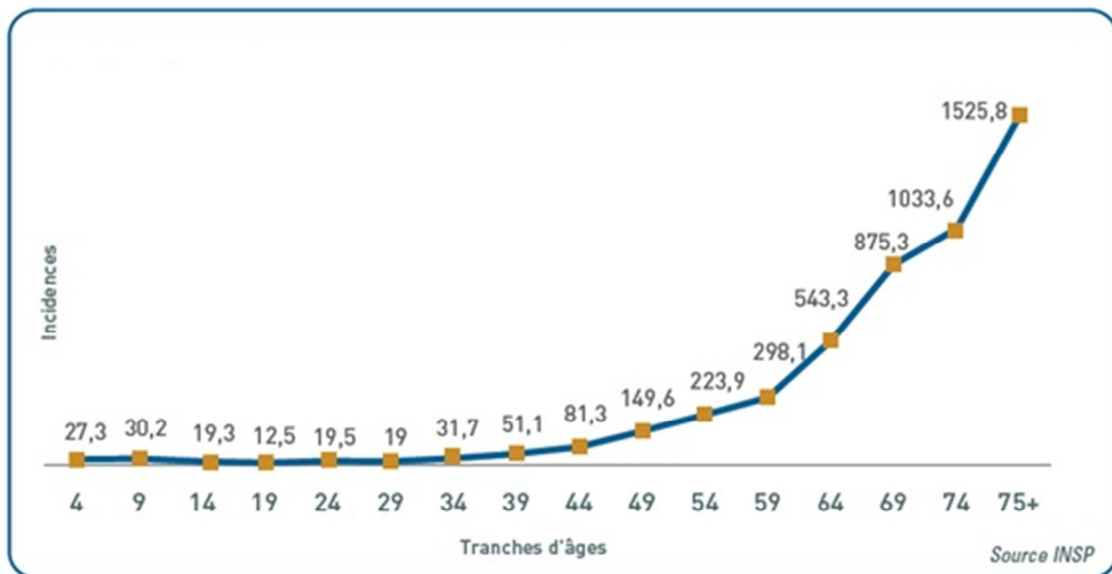


Figure 02 : Répartition de l'incidence par tranches d'âges des cancers chez l'homme

(Incidence pour 100.000-Année 2010). (Plan national du cancer. 2014)

L'incidence brute des cancers en Algérie est en augmentation constante depuis 10 ans avec près de 128 nouveaux cas pour 100.000 hommes et 132 pour 100.000 femmes en 2011.

La répartition des cancers par tranches d'âges souligne bien la tendance observée depuis le début de leur enregistrement, à savoir, un nombre de cas plus élevé chez les femmes, une apparition plus précoce du cancer chez les femmes (39 ans) que chez les hommes (49 ans) et une diminution du nombre de cas à partir de 65 ans chez les femmes, âge auquel commence l'ascension de l'incidence masculine. (Plan national du cancer. 2014)

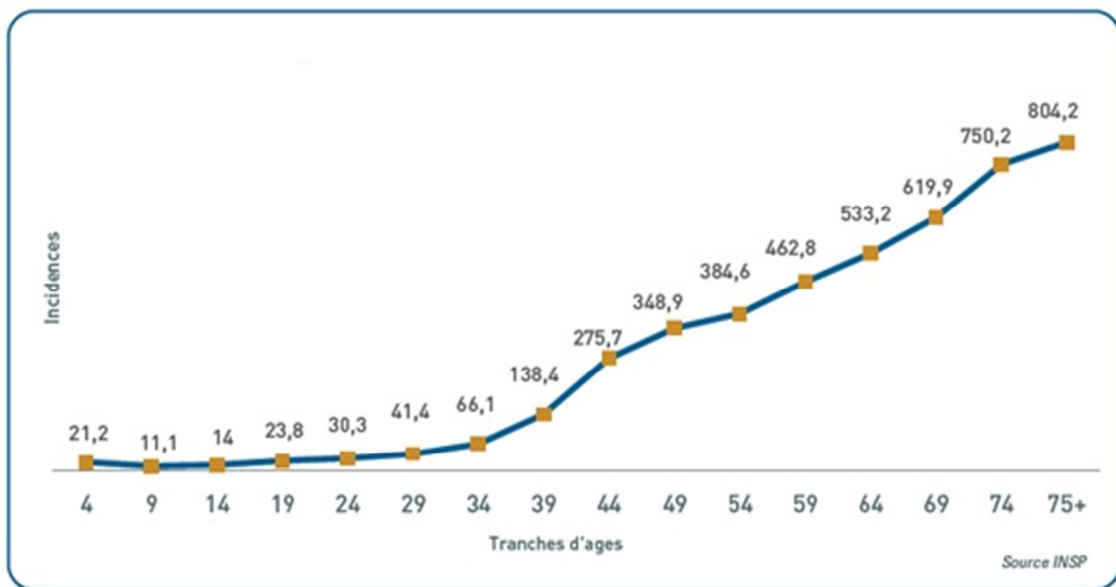


Figure 03 : Répartition par tranches d'âges des cancers chez la femme

(Incidence pour 100.000-Année 2010). (Plan national du cancer. 2014)

Les formes de cancer les plus fréquentes chez l'homme sont ceux du poumon, du colo-rectum, de la vessie, de la prostate et de l'estomac. Ils constituent 52,5% de tous les cancers masculins. Le cancer du poumon à lui seul représente environ 15% des cancers masculins. Ceci confirme et consolide les tendances depuis 2001 avec la prédominance, chez l'homme, des cancers liés au tabagisme (poumon - vessie), du cancer de la prostate qui connaît une augmentation rapide depuis le début des années 2000 et des cancers digestifs notamment colorectaux. L'élévation de l'incidence des cancers de la prostate se confirme. Il est, aujourd'hui, le 3ème cancer chez l'homme. (Plan national du cancer. 2014)

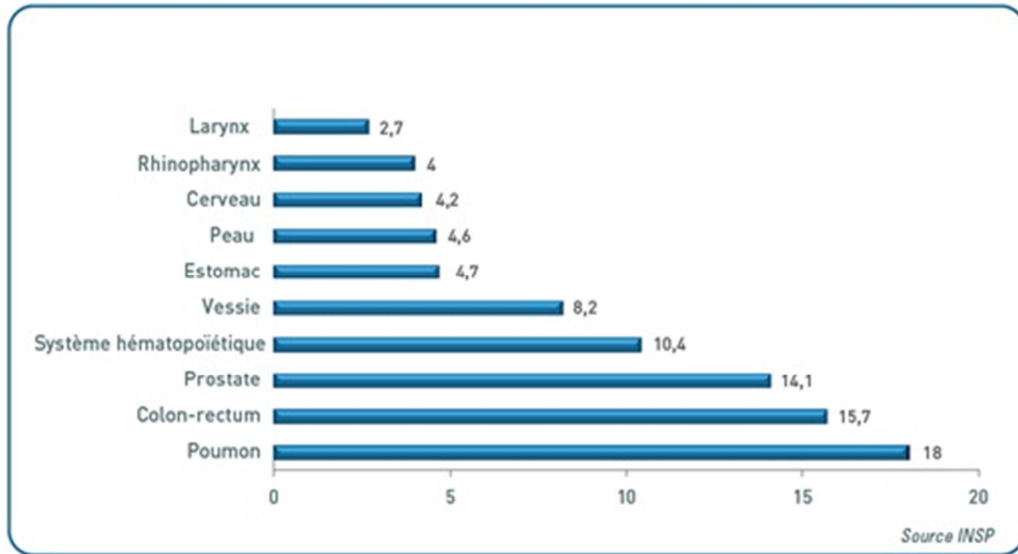


Figure 04 : Les formes de cancers les plus fréquents chez l'homme en Algérie en 2010

(Plan national du cancer. 2014)

Les formes de cancer les plus fréquentes chez la femme sont celles du sein, du colorectal, de la thyroïde, du col de l'utérus, et de l'ovaire. Les cancers du sein (40,45%) et du col de l'utérus (12,5%) qui totalisent, à eux deux, 52,95% de tous les cancers féminins. (Plan national du cancer. 2014)

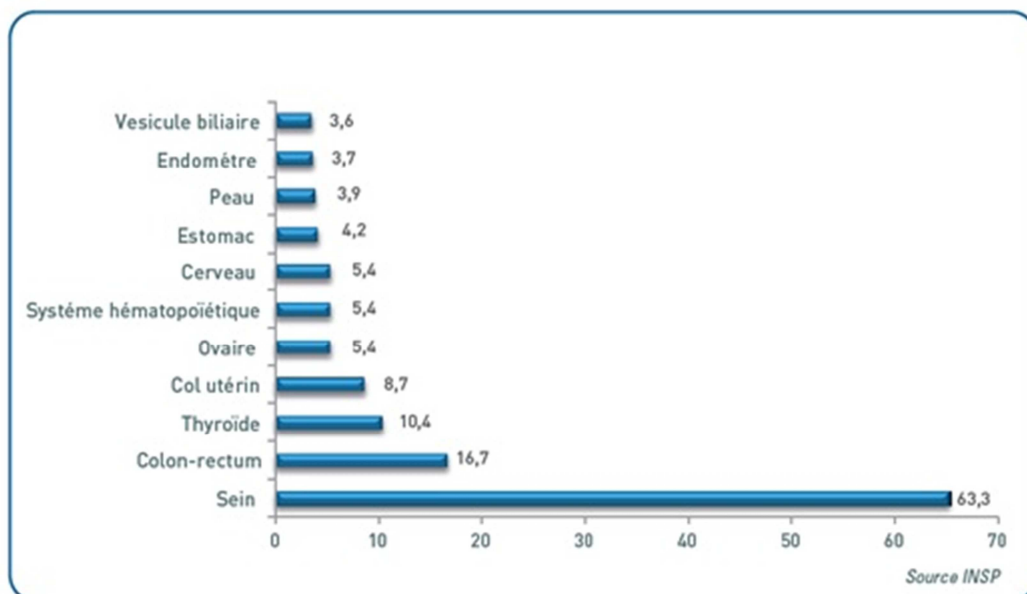


Figure 05 : Les formes de cancers les plus fréquents chez la femme en Algérie en 2010

(Plan national du cancer. 2014)

Par ailleurs, de plus en plus d'enfants et d'adolescents sont touchés par le cancer. L'incidence du cancer augmente, tous les ans, de 1% chez les enfants et de 1,5% chez les adolescents. Les formes de cancer les plus fréquentes chez l'enfant sont celles du système hématopoïétique, des ganglions lymphatiques, de l'encéphale, de l'os et du rein. Ils constituent 59,4% de tous les cancers de l'enfant de sexe masculin et 58,3% de tous les cancers de l'enfant de sexe féminin. (Plan national du cancer. 2014).

3 .Les caractéristiques des cancers

3.1 Les caractères évolutifs

Les cancers ou tumeurs malignes ont habituellement une croissance rapide. Elles donnent naissance à une dissémination tumorale à distance (surtout par voie lymphatique et sanguine) avec éclosion et développement de tumeurs secondaires dans d'autres viscères : les métastases. Les tumeurs malignes ont tendance à récidiver après éradication locale. L'évolution, en l'absence de traitement, se fait spontanément vers la mort.

3.2 Les caractères macroscopiques

Les tumeurs malignes sont mal limitées, non encapsulées ; elles détruisent et envahissent l'organe dans lequel elles ont pris naissance, ainsi que les organes de voisinage. Leurs contours sont irréguliers. Les foyers de nécrose et d'hémorragie sont habituels.

3.3 Les caractères histologiques

Les cellules tumorales malignes présentent habituellement des caractères anormaux (caractères cytologiques de malignité). Le tissu tumoral est plus ou moins différencié. Il «caricature » le tissu normal orthologue.

4 .La classification des cancers

La classification des cancers suivant le type de cellule, de tissu ou l'organe affecté au départ.

Les différentes composantes de chaque tumeur (cellules tumorales et stroma) peuvent présenter des aspects morphologiques particuliers qui peuvent être regroupés par types histologiques. Les tumeurs sont ainsi classées en fonction de critères histologiques communs,

définis par les classifications internationales, éditées par l’OMS, et remises à jour régulièrement. La reconnaissance de ces critères et le classement de la tumeur dans le type adéquat sont la base du diagnostic anatomopathologique de toute tumeur.

En pratique, les tumeurs sont classées en fonction de l’organe dont elles dérivent (ex : sein, foie, rein, os,...), puis en fonction de leur type histologique. Le type histologique correspond à la cellule normale dont la tumeur semble dériver.

Les cancers peuvent être classés selon leurs types et leurs stades.

4.1 La classification selon le type

On distingue les tumeurs solides des tumeurs liquides.

- **Les tumeurs solides** se sont des cancers formés des tumeurs principales, représentant une masse individualisée avec un certain volume, et accompagnée ou non de métastases. Les tumeurs solides représentent plus de 90% de tous les cancers.

Parmi les tumeurs solides, on distingue :

- ✓ Les carcinomes ou adénocarcinomes, qui sont des cancers développés à partir d'un épithélium (ex. peau, œsophage, VADS, col utérin, poumon, sein, prostate, colon, ...),
- ✓ Les sarcomes, qui sont des cancers proliférant dans des tissus conjonctifs comme les os ou les tissus mous (muscles, graisse), ou encore des tumeurs au niveau du système nerveux central.
- **Les tumeurs liquides** regroupent l’ensemble des cancers hématopoïétiques atteignant les cellules sanguines. Leur localisation est diffuse dans l'organisme, on les retrouve principalement dans la moelle osseuse, les ganglions ou le sang. Il s’agit ici des leucémies, des lymphomes et des myélomes.

4.2 La classification selon le stade

Une première classification par stades a été proposée depuis longtemps notamment par les différentes sociétés savantes qui ont traité telle ou telle localisation. Cette classification est comme suit (Héron, 2009):

- **Le carcinome in situ (stade 0)**

C'est la phase la plus précoce du cancer. Il est petit, très limité et n'a pas encore ébauché le processus d'invasion (Héron, 2009).

- **La maladie localisée (stade I ou II)**

La tumeur est encore peu volumineuse, mais les cellules de la tumeur maligne ont tendance à quitter leur tissu d'origine et à s'infiltrer dans les tissus voisins (Héron, 2009).

- **La maladie localement avancée (stade III)**

La membrane basale est rompue par les cellules de la tumeur. Les cellules des cancers infiltrant peuvent se détacher de la tumeur d'origine et se propager par les vaisseaux sanguins ou lymphatiques. Ils s'accumulent alors dans les tissus et ganglions lymphatiques voisins. A ce stade, certaines cellules cancéreuses ne sont plus localisées mais ont atteint les ganglions lymphatiques situés à proximité du site initial de la tumeur ou, par contiguïté, se sont propagées vers les tissus du voisinage. On parle d'invasion locale (Héron, 2009).

- **La maladie à distance ou métastatique (stade IV)**

Les cellules cancéreuses essaimées depuis le site primitif de la tumeur, ont pénétré dans les vaisseaux lymphatiques ou sanguins du voisinage et se propagent par cette circulation à distance du site primitif. Elles ont pu se fixer dans les organes rencontrés sur leur passage comme les poumons, le foie, le cerveau ou les os et y former une autre tumeur qu'on appelle métastase. On dit alors que le cancer est métastatique (Héron, 2009).

5. L'évaluation du pronostic du cancer

La classification des tumeurs en fonction de l'organe d'origine et de leur type histologique fournit des informations importantes pour évaluer leur pronostic. Toutefois, d'autres paramètres permettent de préciser le potentiel évolutif.

Il s'agit du degré de différenciation (grade) et du degré d'extension (stade) de la tumeur, ainsi que dans certains cas de marqueurs moléculaires.

5.1 Le grade

Le grade d'un cancer se fonde sur des critères histologiques tels le degré de différenciation tumorale, l'activité mitotique, le degré d'atypies cyto-nucléaires ou l'extension de la nécrose. Il est défini différemment pour chaque type de tumeur.

5.2 Le stade

Le stade (ou degré d'extension) des cancers se fonde sur la taille de la tumeur primitive et/ou son extension aux tissus et organes de voisinage (T), l'importance de la dissémination aux ganglions lymphatiques régionaux (N) et la présence ou l'absence de métastases (M).

Le système de classification TNM est actuellement le plus communément utilisé dans le monde. Chacune de ces trois lettres est suivie d'un chiffre variant de 0 (absent) à 4 au maximum, ou d'un X en cas d'impossibilité d'évaluation. Ces chiffres peuvent être suivis d'une lettre, qui apporte une précision supplémentaire. Le score est précédé de la lettre c si l'évaluation du stade est clinique ou de la lettre p si elle est faite par un pathologiste.

Exemple : adénocarcinome colique stade pT4aN1bMX, le pathologiste a détecté une infiltration tumorale de la séreuse et de 2 ou 3 ganglions, mais ignore s'il existe des métastases à distance. Le score TNM permet ensuite de déterminer le stade (ex : adénocarcinome colique T3N0M0 = stade IIA, ou T3N1aM0 = stade IIIB).

Après une résection chirurgicale, le stade d'une tumeur doit être complété par une évaluation de la qualité de la résection, qui est exprimée par la lettre R, suivie des chiffres 0 (exérèse complète), 1 (envahissement microscopique des limites) ou 2 (envahissement macroscopique des limites).

Si l'évaluation du stade est faite après un traitement (ex : radio- ou chimiothérapie), le score TNM est précédé de la lettre y. Par exemple, un adénocarcinome rectal réséqué après radiothérapie aura un score ypT0N1a s'il ne persiste plus de tumeur primitive identifiable et qu'un seul ganglion régional est envahi.

Les classifications du stade TNM sont actualisées régulièrement. Aussi, il est important d'indiquer le référentiel utilisé lorsque l'on indique le stade TNM d'une tumeur. Par exemple, un adénocarcinome de l'estomac ayant envahi la sous-séreuse était classé « T2b » selon la 6^e édition, alors qu'il est maintenant classé « T3 » selon la 7^{ème} édition. (Sedrati, 2012).

6 .Mécanisme de cancérogenèse

Les progrès de la biologie moléculaire ont permis de proposer un modèle général de la cancérogenèse qui comprend trois étapes successives (Beckman et *al.*, 2005 ; Bignold, 2004 ; Bocchetta et *al.*, 2004 ; Kinzler et *al.*, 1996).

La première étape est l'initiation, désigne une altération au niveau du génome de la cellule sous l'action d'un facteur cancérigène. Elle consiste le plus souvent en une mutation ou délétion d'une ou plusieurs bases de l'ADN.

La cellule acquiert ainsi des caractéristiques précancéreuses mais pas nécessairement transmises aux cellules filles. Dans le cas où la cellule initiée s'échappe du processus de réparation de l'ADN, elle passe à la phase de promotion qui correspond à la prolifération anormale des cellules initiées (clones de cellules).

Cette multiplication des cellules augmente en parallèle avec les mutations de l'ADN qui sont des conséquences de stimuli exogènes et endogènes (incluent l'alcool, le tabac, certaines hormones, les radiations, et l'alimentation), et font partie des facteurs qui contribuent au développement tumoral. L'influence des facteurs de croissance cellulaires et de régulation du cycle cellulaire est également déterminante au cours de cette phase. Toutefois l'initiation et la promotion tumorale entraînent un avantage prolifératif relativement bénin.

C'est dans l'étape de la progression de la cancérogenèse que se manifeste l'accumulation de nouvelles mutations géniques qui confèrent aux cellules tous les signes histologiques d'une tumeur maligne (Weinberg, 1989). Cette transformation maligne permet aux cellules l'acquisition d'une capacité proliférative indéfinie et une propension à se disséminer dans d'autres sites que leurs sites naturels (Gupta et *al.*,2006)(Figure 06) .

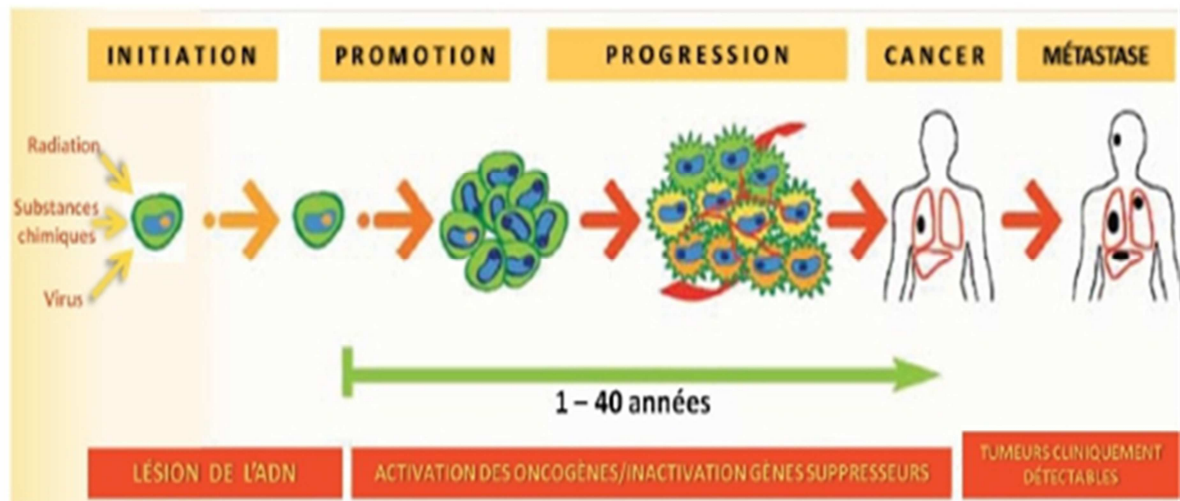


Figure 06 : Étapes de la cancérogenèse. (Béliveau et *al.*, 2007)

En suivant ces stades de développement, les cellules cancéreuses acquièrent des caractéristiques qui définissent leurs changements phénotypiques : Premièrement, elles deviennent indépendantes des signaux normaux de prolifération cellulaire. Deuxièmement, elles sont insensibles aux signaux antiprolifératifs. Troisièmement, il s'installe une résistance à l'apoptose. Quatrièmement, elles adoptent une capacité anormale d'angiogenèse. Cinquièmement, elles deviennent invasives et mènent à la formation de métastases. Sixièmement, leur capacité de réplication de l'ADN est illimitée (Weinberg, 2000).

En plus de ces six principales caractéristiques, deux caractéristiques émergentes ont récemment été définies. Ainsi, les tumeurs se distinguent par la modification du métabolisme énergétique et par l'échappement de la destruction par les cellules immunitaires. Avec les années, l'approfondissement des connaissances a permis de définir deux nouvelles caractéristiques du cancer : l'instabilité du génome menée par des mutations ainsi que la présence de molécules liées au caractère inflammatoire dans le microenvironnement tumoral (Weinberg, 2011). La combinaison de ces dix caractéristiques permet l'identification de biomarqueurs et leur ciblage thérapeutique dans le but de mieux comprendre les composantes du cancer et de mieux les traiter.

Le développement néoplasique confère aux cellules des mécanismes moléculaires adaptatifs régulant des voies de prolifération, de survie et d'invasion pour former le cancer. Ces

caractéristiques spécifiques sont nommées en fonction des phases de développement et des biomarqueurs impliqués dans la génération de lésions malignes (Weinberg, 2000).

7. Les facteurs de prédisposition au cancer

7.1 Les facteurs exogènes

Les carcinogènes exogènes sont issus de notre environnement et leur action néfaste résulte de toutes les expositions auxquelles un organisme humain est soumis, que celles-ci soient volontaires ou involontaires (facteurs exogènes = facteurs non génétiques).

- **Les agents chimiques** : tel que :
 - amiante (responsable des cancers bronchiques)
 - arsenic (responsable des cancers cutanés et pulmonaires)
 - benzène, moutarde azotée (responsable des cancers du poumon et du larynx, également du cancer de la vessie)
 - cadmium (responsable du cancer de la prostate)
 - hydrocarbures aromatiques polycycliques, isolés du pétrole, des goudrons, de la fumée de tabac (responsable du cancer broncho pulmonaire)
 - amines aromatiques présentes dans les colorants (responsable du cancer de la vessie)
- **Les agents physiques**: Avec les radiations solaires, responsables des mélanomes et cancers cutanés.
- **Les agents infectieux, bactéries et virus inducteurs de cancers** : comme le virus HPV, responsable du cancer du col de l'utérus, ou encore le virus de l'hépatite responsable de carcinome hépatocellulaire
- **L'alimentation**: C'est un facteur que l'on doit corréler à des caractéristiques physiologiques telles que le surpoids et l'obésité, et qui joue un rôle prépondérant dans la survenue de cancers.

Certains facteurs exogènes vont agir directement au niveau de l'ADN en provoquant des altérations (ex. la consommation de tabac), d'autres vont provoquer des états inflammatoires

favorisant l'apparition de cellules cancéreuses (ex. la consommation d'alcool). Certaines substances ne nécessitent pas de transformation métabolique préalable (ex. benzène), ils exercent alors leur action cancérigène sur des molécules riches en électrons (protéines, acides nucléiques). D'autres doivent au contraire subir des modifications structurales, *in situ* ou *in vivo*, au cours de leur métabolisme pour acquérir leur pouvoir cancérigène (ex. hydrocarbures aromatiques polycycliques)

7.2 Les facteurs endogènes

Il s'agit des ROS (Reactive Oxygen Species) et des RONS (molécules réactives à l'oxygène et à l'azote, N pour Nitrogen) qui chaque jour font subir des millions d'agressions génomiques.

En effet, l'organisme produit en permanence des espèces réactives à l'oxygène, Elles sont également générées lors des réactions immunitaires et sous l'effet d'oxydants environnementaux, comme le tabac ou la pollution. Cependant, cet équilibre peut parfois être dépassé. Le stress oxydatif devient alors pathologique dès que le système de détoxification est submergé par les ROS et RONS. Ce déséquilibre peut résulter d'un déficit en antioxydant, à la suite d'une surproduction en radicaux, ou encore en raison d'une déficience des enzymes protectrices. Il est aujourd'hui démontré que l'accumulation de ces dérivés toxiques de l'oxygène est impliquée dans de nombreuses pathologies dont les cancers. (Toullec A et *al.*, 2010; Laurent G et *al.*, 2008)

7.3 Les facteurs génétiques

Des gènes normaux, *a posteriori* dénommés **proto-oncogènes**, codent pour des protéines impliquées à différents niveaux dans la prolifération cellulaire. Certaines formes mutées de ces gènes, **les oncogènes**, codent pour des protéines de stimulation qualitativement et/ou quantitativement plus puissantes, lesquelles sont capables d'induire et/ou maintenir une prolifération cellulaire excessive.

Au contraire, des **gènes suppresseurs de tumeur** qui codent pour des protéines normales, inhibitrices de la prolifération cellulaire, mais des mutations peuvent rendre ces dernières

inactives, privant ainsi les cellules des "freins" homéostatiques capables de limiter leur prolifération.

Tableau 01 : Exemples de gènes impliqués dans différents cancers (oncogènes).

Gènes codant pour des facteurs de croissance (FC) ou pour leurs récepteurs (R).	
PDGF	"Platelet Derived Growth Factor", FC, gliomes malins (tumeurs cérébrales).
erb-B	R de l'EGF ("Epidermal Growth Factor"), glioblastome (tumeur cérébrale).
erb-B2 ou HER-2	R de FC, cancer du sein, de l'ovaire.
RET	R de FC, cancer de la thyroïde.

Gènes impliqués dans l'amplification de la transduction de messages de stimulation.	
Ki-ras	Cancer du poumon.
N-ras	Leucémies.

Gènes codant pour des facteurs de transcription activateurs de gènes de prolifération.	
C-myc	Leucémies, cancer du sein, de l'estomac, du poumon.
N-myc	Neuroblastome, glioblastome.
L-myc	Cancer du poumon.

Gènes codant pour d'autres facteurs.	
Bcl-2	Code pour une protéine qui, normalement, bloque le suicide cellulaire (apoptose). Lymphome B.
Bcl-1	(ou PRAD1). Code pour la cycline D1 (Cf. Cycle Cellulaire). Cancer du sein, de la tête et du cou.
MDM2	Code pour un antagoniste de la protéine codée par le gène p53 suppresseur de tumeur. Sarcomes, et nombreuses autres tumeurs.

Tableau 02 : Exemple de gènes suppresseurs de tumeurs pouvant être mutés dans certains cas de cancer.

Gènes codant pour des protéines cytoplasmiques.	
APC	Cancer du colon, de l'estomac.
DPC4	Code pour une molécule impliquée dans une voie de signalisation inhibant la prolifération cellulaire. Cancer du pancréas.
NF-1	Code pour une protéine inhibant la protéine Ras stimulant la prolifération cellulaire. Neurofibrome, pheochromocytome, leucemie myeloide chronique.
NF-2	Meningiome, ependymome, schwanome.
Gènes codant pour des protéines nucléaires.	
MTS-1	Code pour la protéine p16 qui constitue un frein essentiel de l'horloge du cycle cellulaire. Divers cancers.
RB	Code pour la protéine RB qui constitue un frein essentiel du cycle cellulaire. Rétinoblastome, ostéosarcome, cancer de la vessie, cancer du poumon (petites cellules), cancer du sein.
p53	Code pour la protéine p53, qui peut interrompre la division cellulaire et déclencher l'apoptose (suicide) des cellules anormales. Divers cancers.
WT1	Cancer du rein (Tumeur de Wilms).
Gènes codant pour d'autres protéines.	
BRCA-1	Cancer du sein et de l'ovaire.
BRCA-2	Cancer du sein.
VHL	Cancer du rein.

B permettant le retour à la transcription (phase G2)

- Enfin, il se forme un complexe d'initiation de l'anaphase comprenant une protéine, l'ubiquitine, des kinases et des cyclines. La formation de ce complexe induit la mitose puis se dissocie dans les cellules filles.

Ainsi, P53 a été observée pour la première fois en 1979 en tant qu'antigène spécifique de certains sarcomes induits chimiquement dans les souris (DeLeo et *al.*, 1979 **site in** Séverine B,2005). Elle a été également trouvée dans les cellules transformées par certains virus (Lane and Crawford, 1979; Linzer et *al.*, 1979 **site in** Séverine B,2005). et surtout complexée à l'antigène Large-T du SV40 (Harlow et al., 1981; Oren et *al.*, 1981 **site in** Séverine B,2005).. P53 a aussi été trouvée dans les cellules transformées par des agents chimiques et dans les cellules tumorales (Crawford et *al.*, 1981 **site in** Séverine B,2005). P53 a d'abord été décrite comme une protéine nucléaire (Dippold et *al.*, 1981). Mais par la suite il a été montré que P53 est cytoplasmique dans les cellules normales et est transloqué au noyau dans les cellules transformées (Rotter et *al.*, 1983 **site in** Séverine B,2005). En 1981, on suggère déjà (Dippold et *al.*, 1981 **site in** Séverine B,2005). le rôle de P53 dans la régulation de la division cellulaire et son altération dans les cellules cancéreuses. La découverte d'anticorps anti-P53 dans le sérum des patients atteints de cancer (Lane and Crawford, 1979; Crawford et *al.*, 1982 **site in** Séverine B,2005). a renforcé cette hypothèse selon laquelle P53 est modifiée dans les cellules cancéreuses (en quantité, type ou présentation) de telle façon qu'elle devienne immunogène. Il a ainsi été qualifié d'"antigène cellulaire des tumeurs". Le clonage de l'ADNc révélant ainsi la séquence de P53 a ouvert la voie à l'identification des mutations de P53 dans les cancers (Oren et *al.*, 1983 **site in** Séverine B,2005).

1. Le gène P53

Le gène p53 est situé sur le chromosome 17p13.1, il a été très conservé pendant l'évolution.

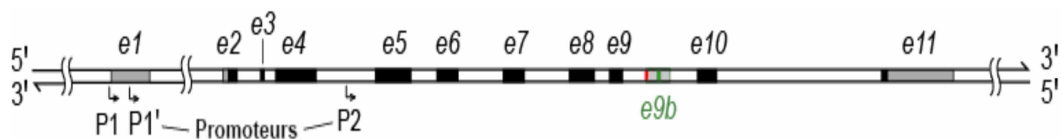


Figure 08 : Structure du gène P53(<http://hermandenis.perso.sfr.fr>)

Le gène couvre environ 20 kb. Il comporte trois promoteurs, 10 introns et 11 exons qui contiennent tous, à l'exception du premier, une phase ouverte de lecture, spécifiant les acides aminés de la protéine. L'intron 9 contient un exon facultatif (e9b), qui renferme deux petites phases ouvertes. (Aylon et *al.*, 2007).

2. La protéine P53

La protéine p53 est une phosphoprotéine de 393 acides aminés de poids moléculaire 53 kDa. On la trouve en très petite quantité dans les cellules normales, mais en grande abondance dans les cellules transformées en culture ou dans les tumeurs humaines. (Figure 09)

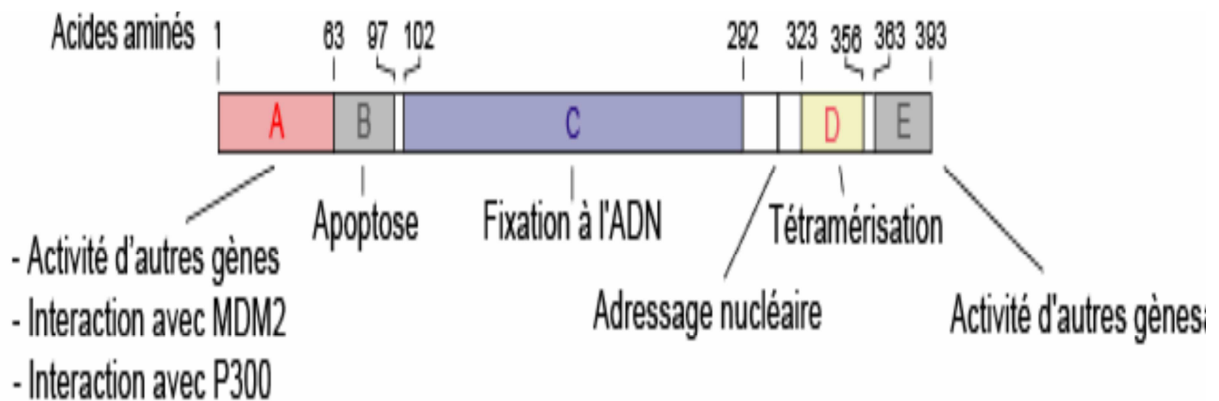


Figure 09 : Domaines de la protéine P53.(<http://hermandenis.perso.sfr.fr>)

La protéine contient 393 acides aminés, répartis en cinq domaines principaux. Les domaines A et E modulent l'activité transcriptionnelle de plusieurs gènes cibles, le premier ayant un effet stimulateur, tandis que le second a plutôt un effet inhibiteur. Le domaine de transactivation (A) sert également de site de fixation pour les protéines MDM2 et P300. Le domaine B gouverne l'apoptose. Le domaine C permet à la protéine de se lier à l'ADN des gènes dont il gouverne la transcription. Le domaine D est indispensable à la formation de tétramères, elle-même indispensable à l'activité de la protéine. Deux petits domaines d'adressage nucléaires permettent à la protéine de migrer dans le noyau, où elle remplit sa fonction en tant que facteur de transcription. (Aylon et *al.*, 2007).

3. La transcription du P53

La transcription peut démarrer à partir de l'un des trois promoteurs. Si les promoteurs P1 ou P1' sont utilisés, l'ARN messager réunit tous les exons que contient le gène et la version complète de la protéine est synthétisée (sauf l'exon E9b). Si c'est le promoteur P2 qui est employé, l'ARN réunit seulement les exons 5 à 11, les exons 1 à 4 sont éliminés et une version de la protéine amputée de ses 133 acides aminés initiaux. Dans le premier cas, la protéine comporte 393 acides aminés. Dans le second, elle n'en comporte que 260 acides aminés. (Aylon et al., 2007).

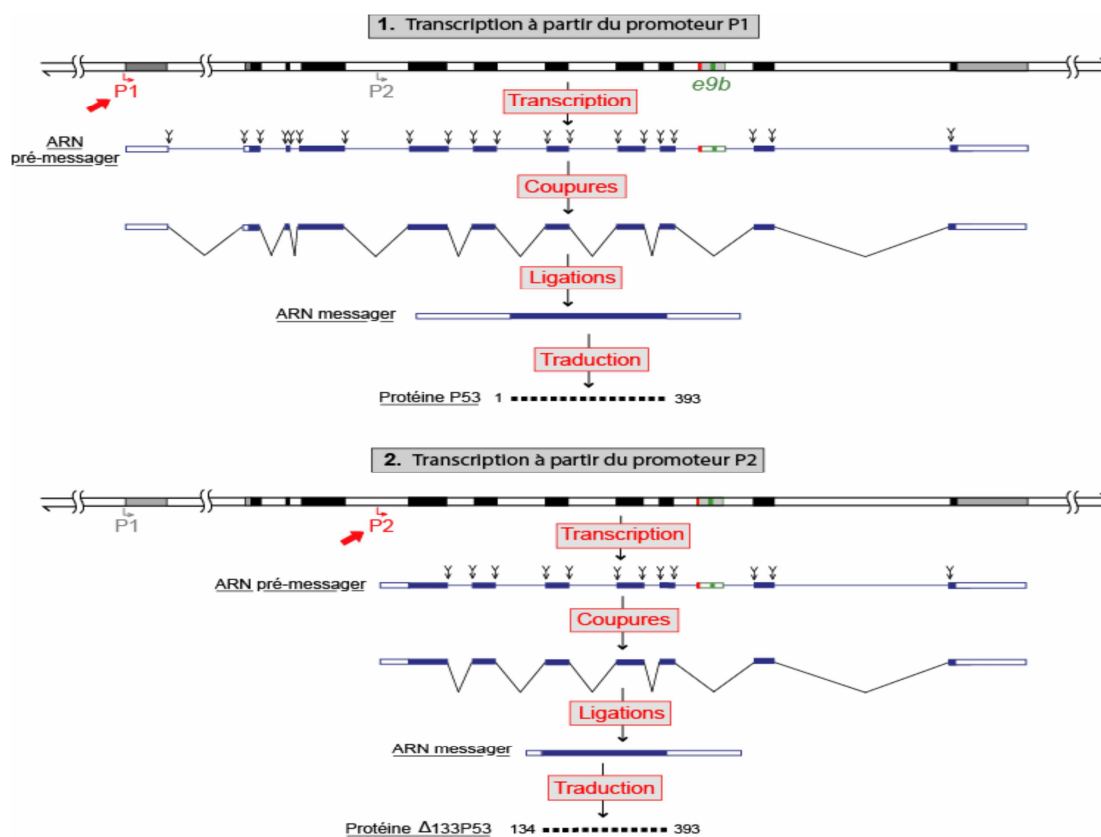


Figure 10 : Transcription du gène P53.(<http://hermandenis.perso.sfr.fr>)

4. La traduction de la p53

La phase ouverte de lecture de l'ARN messager comporte deux signaux d'amorçage différents. La traduction de l'ARN messager « normal » peut débuter au niveau de deux codons d'amorçage différents (AUG), ce qui crée deux versions de la protéine incluant ou excluant les 40 acides aminés initiaux. (Aylon et al., 2007).

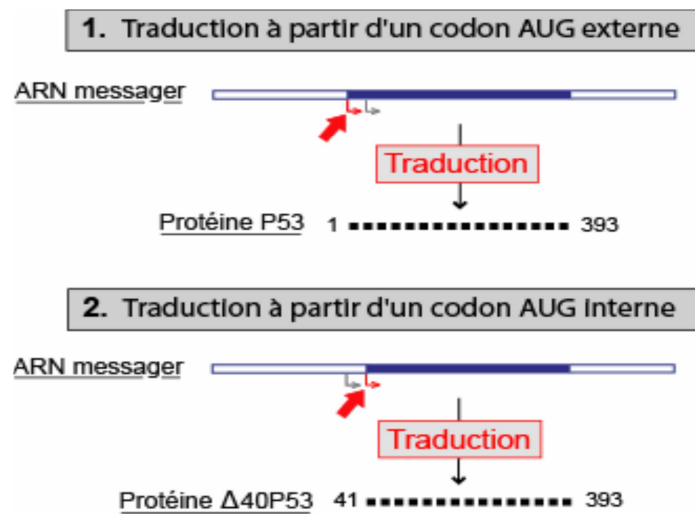


Figure 11 : Traduction de l'ARN messager P53.(<http://hermandenis.perso.sfr.fr>)

5. Les fonctions de la P 53

5.1.La régulation du cycle cellulaire

Une des fonctions majeures reconnues pour P53 aujourd'hui est son rôle de régulateur du cycle cellulaire. L'analyse de l'expression de P53 au cours du cycle cellulaire dans des fibroblastes en culture a montré que la synthèse et la quantité de P53 sont accrues en fin de phase G1, ce qui suggère un rôle pour P53 dans la progression des cellules quiescentes vers un état prolifératif. (Reich and Levine , 1984).

Cette hypothèse a ensuite été confirmée : P53 peut induire un arrêt de croissance en étant dirigé vers le noyau où elle bloque les cellules principalement en phase G1 (Baker et *al.*,1990;Diller et *al.*, 1990; Mercer et *al.*, 1990; Michalovitz et *al.*, 1990; Gannon and Lane,1991; Martinez et *al.*, 1991). De plus il a été montré que ce blocage peut-être consécutif à un dommage causé à la cellule et notamment s'il induit des lésions au niveau de l'ADN (Kastan et *al.* , 1991).

5.2Un gène suppresseur de tumeur

En 1989, lors d'un congrès, basé sur les travaux de Oren (Eliyahu et *al.* , 1989; Michalovitz et *al.*, 1990), Levine démontre pourquoi p53 pourrait être un gène suppresseur de tumeur (Levine, 1989):

- Dans de nombreuses tumeurs humaines et murines, p53 est retrouvé muté voire délété, ce qui altère sa fonction.
- Injecté dans des cellules transformées par un oncogène, il peut reverser cet état de transformation.
- Comme le gène Rb, son produit protéique serait inhibé par interaction avec des protéines virales pour conduire à la transformation cellulaire.

Si P53 n'était pas détectée dans les cellules normales, c'est parce qu'elle a une conformation différente de P53 dans les cellules tumorales. Les anticorps anti-P53 disponibles à l'époque ne pouvaient se lier qu'à la forme mutée présente dans les cellules cancéreuses et pas à la forme normale. Dès 1983, l'expression de P53 était corrélée avec la régression de la tumeur (Rotter, 1983).

5.3 L'activité anti apoptotique de la P53

Certaines cellules P53 nulles répondent mieux aux signaux pro-apoptotiques que des cellules ayant une P53 fonctionnelle. Une hypothèse retenue pour expliquer cet effet paradoxal repose sur la fonction de réparation de l'ADN présentée par P53. Les dommages à l'ADN, s'ils ne sont pas réparés au bout d'un certain temps, déclenchent le processus apoptotique. Or, si P53 est capable de réparer certains d'entre eux, l'apoptose n'a plus lieu d'être induite. (Malcomson et *al.*, 1995 ; Vikhanskaya et *al.*, 1995; Lassus et *al.*, 1999).

Des expériences dans lesquelles il a été montré que P53 protège les cellules de l'apoptose induite par des agents génotoxiques en agissant sur la réparation viennent étayer cette hypothèse (McKay et *al.*, 2001).

Une deuxième explication fait intervenir l'activité de frein de la prolifération cellulaire de P53. En effet, l'effecteur majeur de P53, P21, est connu pour augmenter la survie cellulaire face à des agents génotoxiques et pro-apoptotiques (Gorospe et *al.*, 1997; Bissonnette and Hunting, 1998; Bunz et *al.*, 1998; Bunz et *al.*, 1999; Mariette et *al.*, 2002) (Polyak et *al.*, 1996; Wang et *al.*, 1999). P53 active aussi la transcription de gènes anti-apoptotiques tels DcR2. (Meng et *al.*, 2000) ou HB-EGF (Fang et *al.*, 2001).

5.4 La régulation de l'activité des autres protéines

L'activité pro-apoptotique de P53 passe aussi par sa capacité à promouvoir la translocation du récepteur Fas/CD95 du cytoplasme à la membrane plasmique où il acquiert son activité (Bennett et *al.*, 1998). P53 peut également induire le transport de TNF-R1 à la membrane.

De même, P53 peut induire la translocation de la protéine pro-apoptotique Bax du cytoplasme à la mitochondrie (Schuler et *al.*, 2000). La présence de Bax à la mitochondrie est indispensable au relargage du cytochrome C et au déclenchement de l'apoptose. L'activité pro-apoptotique mais transcription indépendante de P53 passe entre autres par la caspase-8 (Ding et *al.*, 2001).

5.5 P53 un facteur de Transcription

Dès les premières études réalisées sur P53 il a été montré qu'elle pouvait lier l'ADN. Mais ce n'est qu'avec l'utilisation de protéines de fusion que l'on a pu montrer que P53 peut activer la transcription de gènes rapporteurs notamment par sa partie N-terminale (Yuangang et *al.*, 2004).

La démonstration selon laquelle la liaison de P53 à l'ADN est indispensable à l'induction de la transcription est due à l'équipe de Prives (Farmer et *al.*, 1992).

Il a été montré que P53 se lie sur une séquence spécifique de l'ADN (contenant certaines bases critiques dont des guanines) (Arnold et *al.*, 2009). La séquence consensus comporte 2 motifs palindromiques 5'-PuPuPuC(A/T)(T/A)GPyPyPy-3' séparés par 0 à 13 pb.

5.6 La réparation de l'ADN

La protéine P53 est capable de lier diverses protéines impliquées dans la réparation de l'ADN (XBP, XPD, WRN, DNA polymérase α , RPA). De plus, P53 possède des propriétés intrinsèques qui lui permettent de détecter (Degtyareva et *al.*, 2001) et de réparer elle-même certains dommages de l'ADN (Willers et *al.*, 2000; McKay et *al.*, 2001). Elle aide notamment à la résolution des jonctions de Holliday (Yang et *al.*, 2002; Sengupta et *al.*, 2003) et de certaines coupures double brins (Dahm-Daphi et *al.*, 2005). En outre, P53 est dotée d'une activité 3'-5' exonucléase et de transfert de brin (Jason et *al.*, 2014).

5.7 La régulation du métabolisme

La protéine P53 peut influencer le métabolisme énergétique des cellules. Elle ralentit la dégradation du glucose en stimulant l'activité du gène *tigar+* qui bloque la glycolyse en inhibant une enzyme clé de cette voie métabolique (Green et *al.*, 2006).

Ainsi, la P53 stimule la respiration en activant le gène $sco2^+$. La protéine P53 favorise la dégradation du glucose ce qui accroît la concentration intracellulaire de glutathion réduit, utilisé par les cellules pour éliminer les radicaux oxydants par la glutathion peroxydase. La protéine P53 pourrait contribuer à protéger l'ADN contre les agressions de ces radicaux.

D'autre part, la protéine P53 pourrait avoir un effet sur la recombinaison, la reproduction, l'angiogenèse, la sénescence et la différenciation. Elle est capable de se lier aux protéines RAD51 et EAD54 ce qui entraîne l'inhibition de la recombinaison homologe. Il a été observé que les femmes ayant un codon proline en position 72 à la place de l'arginine ont des problèmes d'implantation dans des embryons. (Feng et al., 2007).

6. P53 et cancer

Le gène de la P53 est aujourd'hui considéré comme un gène suppresseur de tumeur car il est le gène le plus souvent muté dans les cancers. Les mutations de p53 donnent un avantage sélectif pour les cellules puisqu'elles ne sont plus réprimées au niveau de leur croissance.

Malgré son rôle majeur dans la cellule, des lignées cellulaires dépourvues de P53 ont été décrites, indiquant que la cellule peut survivre en son absence. De même les souris KO pour p53 sont plus susceptibles au développement de tumeurs. (Donehower et al., 1992).

En raison de sa qualité de suppresseur de tumeur, on a très vite pensé que la réintroduction de P53 dans des cellules tumorales pourrait permettre de reverser le phénotype tumoral. La transfection de p53 dans des cellules transformées induit un arrêt de leur prolifération dû à un blocage en phase G1 ou une entrée en apoptose mais parfois dans certaines cellules aucun de ces effets n'est visible (Patricia et al., 2013).

Les MEFS (Myeloid Elf-1 like factors) déficientes pour p53 présentent des anomalies chromosomiques dues à la réplication des centrosomes. Elles présentent des phénotypes similaires à ceux observés dès 1890 par von Hansemann dans les cellules cancéreuses.

7. Les mutations et les polymorphismes du gène P53

7.1 Les Mutations du P53

Le gène P53 est muté dans 50% des cancers sporadiques (Figure 14), dans la moitié des cas sa fonction est inhibée par des antagonistes oncogènes tels que MDM2 (Murine double minute 2 homologue.) (Soussi et *al.*, 2001). Les mutations du gène P53 sont identifiées sur tous les exons avec une prédominance dans le domaine de liaison à l'ADN. Aussi bien, il est muté dans un large spectre de cancers. Contrairement aux autres gènes suppresseurs de tumeurs qui sont inactivés par translocation ou délétion, plus de 80% des altérations de P53 sont dues à des mutations faux-sens qui stabilisent le niveau d'expression de p53 (Soussi et *al.*, 2005).

90% des mutations sont regroupées dans le domaine central (résidus 110 à 290) de la protéine P53 ciblant la séquence spécifique de liaison à l'ADN entraînant l'inhibition de son activité transcriptionnelle. Environ 30% de mutations concernent les 6 codons R175, R245, R248, R249, R273 et R282 (Bullock et *al.*, 2001 ; Patricia et *al.*, 2013).

On peut distinguer deux types de mutations de p53:

- Les mutations du groupe I: exemple du codon R248, la plupart des mutations affectent le domaine de liaison à l'ADN mais la conformation reste intacte ((Patricia et *al.*, 2013).
- Les mutations du groupe II: exemple du codon R175, la mutation touche les résidus de la protéine interagissant avec l'ADN, la mutation est localisée en dehors du domaine de liaison à l'ADN, incluant les domaines de transactivation et d'oligomérisation (Soussi et *al.*, 2001).

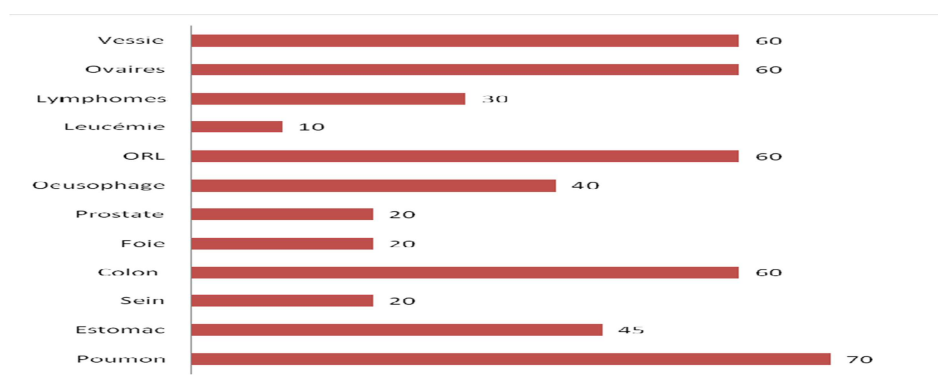


Figure 12 : Le pourcentage des mutations de P53 par type d'organe. (Soussi et *al.*, 2000)

L'analyse de toutes les mutations ponctuelles qui modifient le gène p53 montre que 51% sont des transitions G:C ->A:T et 49% d'entre elles sont situés au niveau d'un nucléotide CpG.

Dans les cellules humaines, la cytosine présente dans ces dinucléotides CpG est fréquemment méthylée. La désamination spontanée d'une cytosine conduit à la formation d'un mésappariement U:G qui est efficacement réparé par une uracile DNA glycosylase. Par contre, la désamination d'une 5-méthylcytosine conduit à un mésappariement T:G dont la réparation peut conduire à une transition C->T.

- Les cinq codons les plus fréquemment impliqués dans les cancers (codons 175, 245, 248, 273 et 282) contiennent de tels dinucléotides.
- 30% des mutations sont compatibles avec un phénomène de désamination sauf les mutations associées au tabagisme.

7.2 Les polymorphismes du P53

De nombreux Single nucleotide polymorphisms (SNPs) sont présents au niveau du locus P53, ils peuvent augmenter le risque de cancer et affecter la réponse à des schémas thérapeutiques.

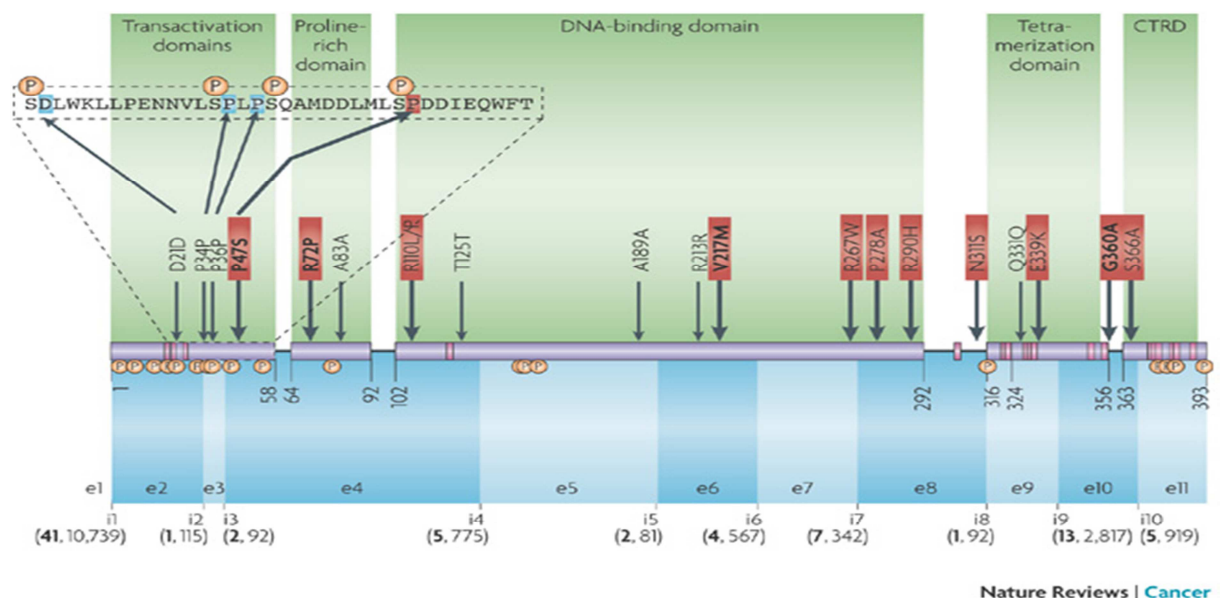


Figure 13 : Les différents polymorphismes de gène P53 (Whibley et al., 2009)

- **Le polymorphisme Pro 47 Ser**

Le polymorphisme p53-47 Proline / Sérine (dénommé ci-après p53-47Pro ou p53-47Ser), est le résultat d'une substitution d'une C par une T à la position 1 du codon 47, ce SNP a été signalé dans les populations de origine africaine (Felley-Bosco et *al.*, 1993). La variante p53-47Ser, diminue l'induction de certains gènes pro-apoptotique en réduisant le niveau de phosphorylation à la sérine 46 résidu adjacent (Li et *al.*, 2005).

- **Le polymorphisme Val 217 Met et Gly 360Ala**

Le polymorphisme p53-217 valine / méthionine est le seul polymorphisme trouvé dans le DBD de p53, qui pourrait être susceptible d'influer sur l'activité de protéine. Sa fonction a été testée uniquement dans la levure et la variante p53-217Met a montré une capacité de transactivation accrue (Kato et *al.*, 2003). Une étude effectuée sur la levure montre que l'induction de certaines gènes p53 est légèrement diminué avec la variante p53-360Ala (Kato et *al.*, 2003). Cependant, il n'y a pas de confirmation du rôle de ces SNPs dans un système de mammifère ou même dans les cancers humains.

- **Le polymorphisme Arg 72 Pro**

C'est le polymorphisme le plus étudié dans le gène P53 ; c'est une variation de Proline en arginine au niveau du codon 72 (appelée p53-72Pro ou p53-72Arg, respectivement) localisé sur l'exon 4 du gène P53. Ce SNP est dû à un changement dans la séquence d'ADN codant pour le domaine riche en proline de p53 (CCC ou CCG). Des expériences dans des lignées cellulaires humaines ont suggéré que la variante p53-72Arg est plus efficace dans l'induction de l'apoptose, alors que p53-72Pro serait plus efficace dans la transactivation de lap21 et d'induire l'arrêt du cycle cellulaire (Dumont et *al.*, 2003; Pim et Banks, 2004; Salvioli et *al.*, 2005; Sullivan et *al.*, 2004). Cependant, des études de l'association de ces variantes polymorphes avec le risque de cancer ont été controversées (Whibley et *al.*, 2009). Plusieurs modèles de souris humanisées conçus pour produire le polymorphisme p53-72Pro / Arg ont été récemment rapportés, ces modèles ont révélé des effets spécifiques des tissus du polymorphisme du codon 72, ce qui peut expliquer les résultats controversés dans les études humaines. (Azzam et *al.*, 2011; Frank et *al.*, 2011; Zhu et *al.*, 2010).

PARTIE PRATIQUE

1. Population d'étude

Cette partie d'étude a concerné 82 échantillons d'ADN collectés de la banque d'ADN du laboratoire de Biologie et Génétique Moléculaire de l'Université Constantine 3, cet échantillon unit 2 populations :

-Une population de témoins : Elle comprend 41 échantillons d'ADN.

- Critères d'inclusion : sujets âgés de 30 à 75 ans et sans antécédents familiaux de cancer.
- Critères d'exclusion : sujets âgés de moins de 30 ans et avec antécédents personnels ou familiaux de cancer.

-Une population de patients : Elle regroupe 41 échantillons d'ADN de patients atteints par l'un des trois types de cancer : le cancer du sein, le cancer du col de l'utérus et le cancer du poumon répartis comme suit :

- 9 ADNs de patients atteints du cancer du sein.
- 13 ADNs de patients atteints du cancer du col de l'utérus.
- 19 ADNs de patients atteints du cancer de poumon.

2. Méthodologie

L'approche que nous avons choisie pour mettre en évidence le polymorphisme du codon 72 au niveau de l'exon 4 du gène de la P53 est une PCR- RFLP qui consiste tout d'abord à amplifier la région d'intérêt par PCR puis de différencier les génotypes par digestion d'une enzyme de restriction spécifique. Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de biologie moléculaire de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université des frères Mentouri Constantine 1.

Notre méthodologie applique l'algorithme de travail suivant :

- Recueil de l'ADN.
- Une amplification de l'ADN par PCR (Polymerase chaine reaction).
- Un contrôle des produits de PCR de l'exon amplifié par électrophorèse sur gel d'agarose.
- Une digestion des produits de PCR par l'enzyme de restriction *Bsh1236I*.
- Electrophorèse des produits de digestion sur gel d'agarose

2.1 Recueil de l'ADN

Notre échantillon ADN extrait a été pris directement de la banque d'ADN du Laboratoire de Biologie et Génétique Moléculaire de l'Université Constantine 3.

2.2 L'amplification de l'ADN par PCR

La PCR est une méthode de Biologie Moléculaire, elle a été mise au point en 1985 par Kary Mullis. Ce procédé révolutionnaire couplé à l'utilisation d'une ADN polymérase thermorésistante permet d'obtenir, sans clonage, une amplification considérable d'un fragment donné d'ADN. Une série de réactions appelées cycles (un cycle qui contient trois étapes : une dénaturation, une hybridation et une élongation) permettant la réplication d'une matrice d'ADN double brin est répétée en boucle.

Avant procéder à notre PCR, nous avons préparés un mix de PCR (ou milieu réactionnel) comprenant des désoxyribonucléotides triphosphates (dNtp), une enzyme d'amplification *in vitro* (Taq polymérase), un environnement réactionnel (tampons, MgCl₂, H₂O) et deux amorces oligonucléotidiques (tableau 03).

Tableau 03 : Composants du mélange réactionnel de PCR .

Composant et concentration initiale	Volume
Eau distillée	16.7 µl
Tampon 10 x	2.5 µl
MgCl ₂ (25mM)	1.5 µl
dNTP (5mM)	2 µl
Amorce S (10 PM)	0.5 µl
Amorce R (10 PM)	0.5 µl
Taq polymérase	0.3 µl

Les amorces utilisées sont comme suit :

l'Oligo F (Forward primer): 5' '-TCC CCC TTG CCG TCC CAA- 3'

l'Oligo R (Reverse primer) : 5'-CGT GCA AGT CAC AGA CTT- 3'.

Après avoir préparé le mix de la PCR, nous avons pris 24 µl de ce mélange avec 1µl d'ADN pour chaque échantillon. Ensuite le déroulement des cycles de la PCR a été assuré par le thermocycleur, et les conditions d'amplification étaient comme suit :

-Une dénaturation initiale à 94°C pendant 6 minutes, suivie de 35 cycles de PCR, comprenant chacun une dénaturation à 94°C pendant 30 secondes, une hybridation à 58°C pendant 30 secondes et une élongation à 72°C pendant 30 secondes.

-Une élongation finale à 72°C pendant 5 minutes.

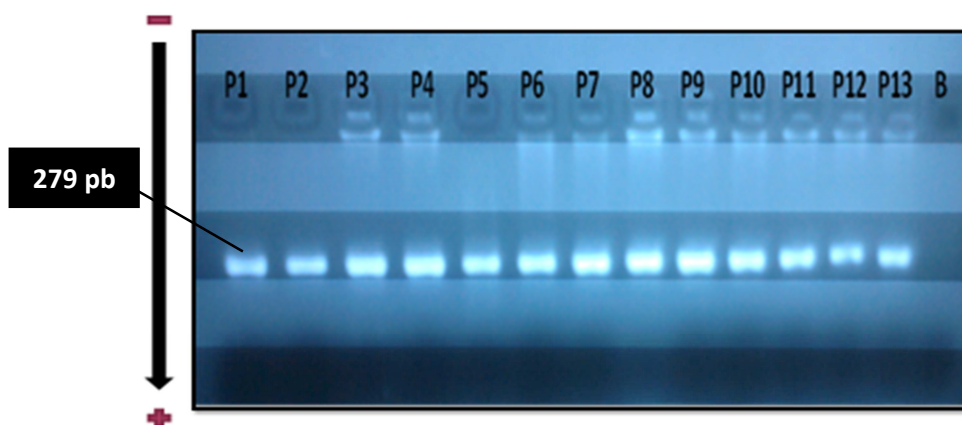
2.3 Contrôle des produits PCR

Le contrôle des produits PCR s'effectue par électrophorèse. C'est une technique de séparation de macromolécules, elle se base sur le principe de la séparation et l'identification des fragments d'ADN amplifié selon leurs charges et leurs tailles.

Les ADN sont des macromolécules poly anioniques uniformément chargées négativement, la charge relative de l'ADN étant constante. De ce fait, l'ADN peut migrer dans un champ électrique de la cathode (-) vers l'anode (+) dans un tampon de migration du TBE (Tris Borate EDTA).

L'électrophorèse est assurée sur gel d'agarose à 2% sur une cuve horizontale. Le gel a été préparé en mélangeant 2g de poudre d'agarose avec 100 ml du TBE auquel nous avons ajouté 10 µl de tampon de charge : un agent intercalant se fixant entre les bases nucléiques rendant l'ADN fluorescent par exposition aux UV.

Les dépôts se font du côté cathode (-). Le système soumis à une migration sous un courant de 100 volts pendant 30 min, dans chaque puits du gel, la quantité de 10µl du produit de PCR mélangée à 2 µl de tampon de charge été déposée. Ce dernier, permet de suivre le front de migration.



Photographie 1 : Le contrôle des produits PCR

2.4 La digestion enzymatique des produits de PCR

Les produits PCR sont soumis à une digestion enzymatique par *Bsh1236I*. Cette enzyme extraite du *Bacillus sphaerius*, elle reconnaît la séquence palindromique 5'...CG /CG ...3' et clive nucléotides à droite de celle-ci. (Figure 14)



Figure 14 : Site de restriction de l'enzyme *Bsh 1236I*

Pour cela nous préparons une quantité d'un mix pour digestion selon le nombre des amplifias à être digérés. Ce mix contient un tampon, H₂O, l'enzyme de restriction *Bsh 1236I* (tableau 04). Les tubes contenant les produits d'amplification et le mix de digestion sont incubé pendant une nuit à 37C°

Tableau 04 : Mix de digestion

Composant	Volume
Mélange réactionnel de PCR	10 µl
Nucléase sans eau	18 µl
Tampon 10X R	2 µl
<i>Bsh1236I</i>	1-2 µl

2.5 L'électrophorèse des produits de la digestion

Les fragments d'ADN digérés par l'enzyme de restriction sont séparés par électrophorèse sur gel d'agarose 3% (3g d'agarose dans 100 ml de TBE).

Lorsqu'on obtient une nette séparation des différents fragments du marqueur (après 1hde migration) le gel est photographié après transillumination aux UV.

2. 6 Etude statistique analytique

Dans ce travail nous avons effectué une étude statistique vérifiant si une éventuelle association entre le polymorphisme du codon 72 de l'exon 4 du gène de la p53 et la

survenue du cancer. L'étude statistique est basée sur l'évaluation d'un odds ratio (OR) et des P valu.

Les calculs statistiques de tous les échantillons obtenus ainsi que tous les paramètres considérés ont été obtenu par le logiciel Epi info version 6.0

2.6.1 Calcul de l'Odds Ratio

Pour calculer l'OR nous avons établi un tableau de contingence : il est sous forme de tableau croise 2x2.le statut malade /non malade des sujets de l'étude est présenté en colonne et le caractère exposé/non expose en ligne.

	Malade	témoins
Exposé	A	C
Non exposé	B	D

L'intensité de l'association entre le polymorphisme et la survenue du cancer est calculée comme suite :

$$OR = a * d / b * c$$

L'OR représente une mesure d'association épidémiologique entre un facteur et une maladie, en particulier lorsque la maladie est rare parmi la population.

2.6.2 Choix de la « p value »

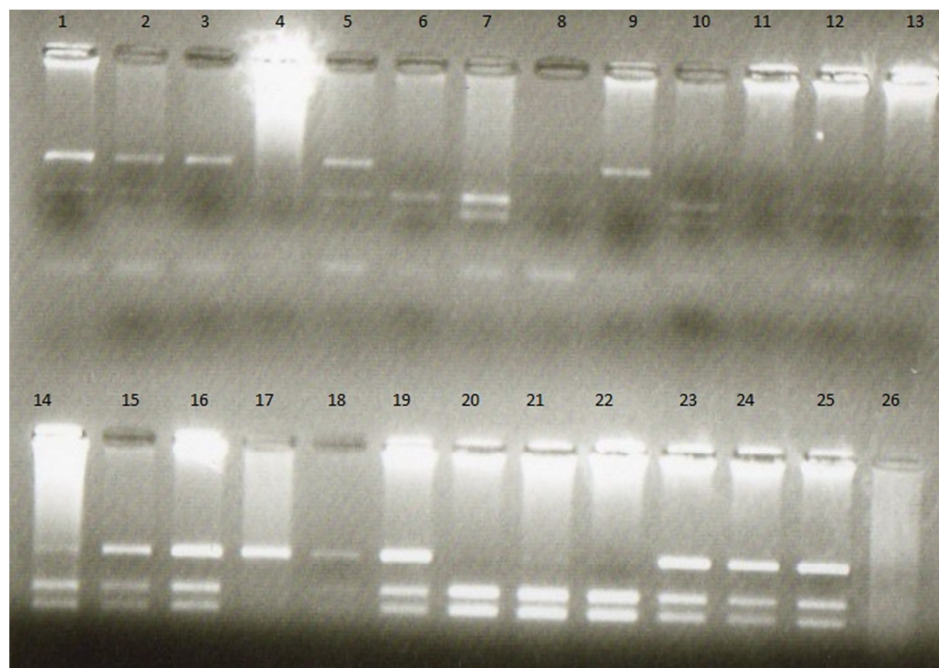
Le seuil critique a priori est de 0.05 (risque α). Si la valeur de p calculée à posteriori est inférieure à ce seuil, la différence entre les paramètres est déclarée statistiquement significative. L'usage a retenue de manière consensuelle l'ensemble des seuils (0.05, 0.01, 0.001) qui représentent des risques raisonnables pour prendre une décision.

RESULTATS

1. Profil RFLP obtenus

Ce polymorphisme, noté Arg72Pro correspond à une est la variation Proline / arginine au niveau du codon 72 localisé sur l'exon 4 du gène P53.

La digestion enzymatique de notre amplifiant par la *Bsh1236I* a donné 3 types de profils différentes : le premier apparaît sur le profil électrophorétique sous forme d'une seule bande de 279pb qui correspond au type homozygote normal (CC), le deuxième génotype du type homozygote normal (GG) apparaît avec deux bandes de taille 160 pb et 119 pb. L'apparition de trois bandes 279 pb, 160 pb et 119 pb ; corresponde au type hétérozygote (CG) (Photographie 2)



Photographie 2 : Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose des fragments issus par le clivage du *Bsh1236I* : l'échantillon n°3,9,17 représentent des homozygotes CC, les échantillons 6,7,20,21,22 représentent des homozygotes GG, les échantillons 1,2,15,16,23,24,25 représentent des hétérozygotes CG

2. Résultats du génotypages

L'analyse moléculaire des échantillons d'acides nucléiques des témoins et des patients a permis de mettre en évidence le polymorphisme du codon 72 de l'exon 4 du gène de la p53, les fréquences alléliques des deux allèles C et G dans l'ensemble de nos échantillons ainsi que les fréquences génotypiques, des homozygotes C/C (Pro/Pro), des hétérozygotes C/G (Pro/Arg) et des homozygotes G/G (Arg/Arg) chez les deux populations témoin et malade.

Tableau 05 : Fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme Arg72Pro du gène de la p53 dans la population témoin.

Génotype	n(%) N =41
CC	12 (29.26%)
CG	10 (24.39%)
GG	19 (46.34%)
L'allèle C	34 (41.46%)
L'allèle G	48 (58.54%)

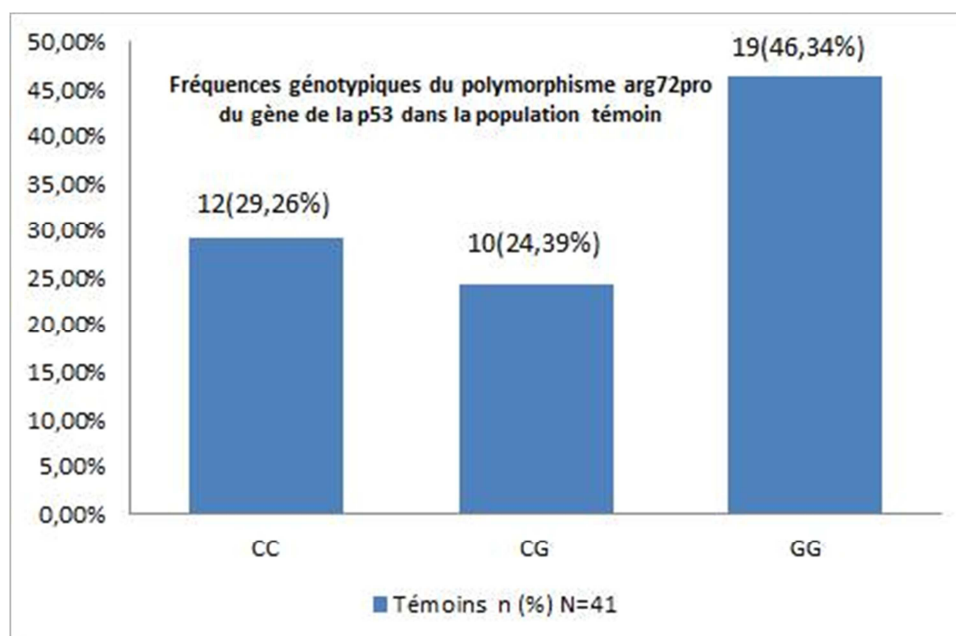


Figure 15 : Fréquences génotypiques du polymorphisme Arg72Pro du gène de la p53 dans la population témoin

Nous avons noté une prédominance de la fréquence génotypique mutée GG chez les témoins par contre les homozygotes sauvages CC représente un taux de 29.26 % qui est considérablement équiprobable à la fréquence des hétérozygotes CG avec un taux de 24.39%. La fréquence de l'allèle G est plus importante par rapport à l'allèle C par un taux de 58.54%.

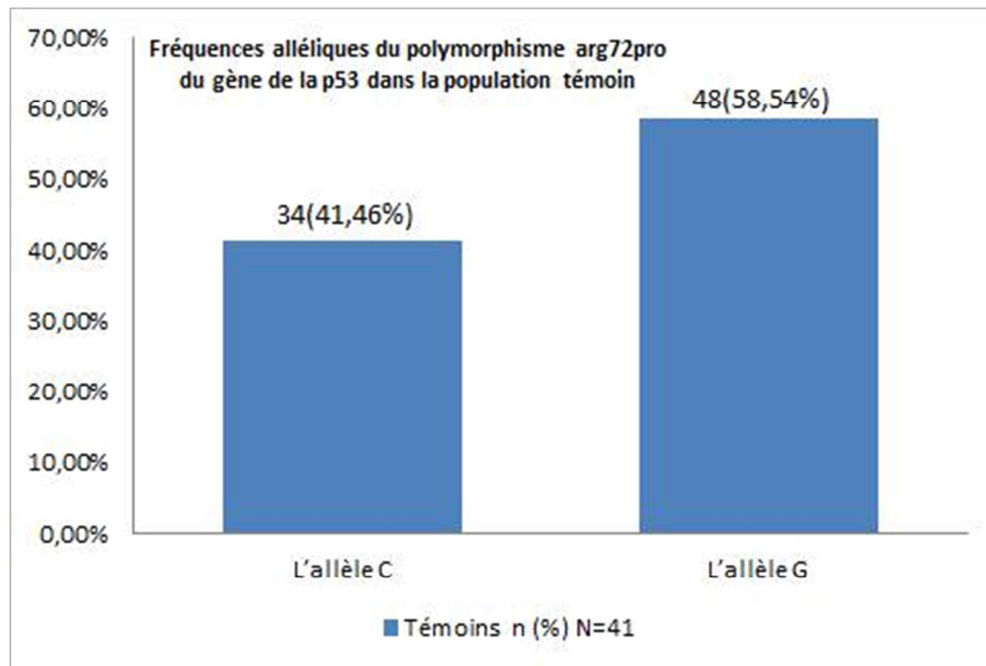


Figure 16 : Fréquences alléliques du polymorphisme Arg72Pro du gène de la p53 dans la population témoin.

Notre population cancéreuse a inclus trois types de cancer : le cancer du poumon, le cancer du col de l'utérus et le cancer du sein. Le tableau ci dessous (tableau 06) montre la répartition génotypique du polymorphisme Arg72Pro ainsi que les fréquences alléliques sur les trois types de populations.

Tableau 06 : Fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme Arg72Pro du gène de la p53 dans la population cancéreuse.

Génotype	Cancer du poumon n(%) N = 19	Cancer du col de l'utérus n(%) N = 13	Cancer du sein n(%) N = 9	Cancer n (%) N = 41
CC	2 (10.52%)	2 (15.38%)	0 (0%)	4 (9.75%)
CG	11 (57.89%)	9 (69.23%)	5 (55.55%)	25 (60.98%)
GG	6 (31.57%)	2 (15.38%)	4 (44.44%)	12 (29.27%)
L'allèle C	15 (39.47%)	13 (50%)	5 (27.78%)	33 (40.24%)
L'allèle G	23 (60.53%)	13 (50%)	13 (72.22%)	49 (59.76%)

Sur les trois types de cancers, la prédominance était attribuée aux hétérozygotes CG ainsi que l'allèle muté G.

Tableau 07 : Fréquences génotypiques du polymorphisme Arg72Pro du gène de la p53 dans la population témoin et la population malade.

Génotype	Cancer n (%) N = 41	Témoins n (%) N = 41	OR	P value
CC	4 (9.75%)	12 (29.26%)	-	-
GC	25 (60.98%)	10 (24.39%)	0.13	0.001
GG	12 (29.27%)	19 (46.34%)	0.53	0.34
L'allèle C	33 (40.24%)	34 (41.46%)	-	-
L'allèle G	49 (59.76%)	48 (58.54%)	0.95	0.87

Après le calcul des Odds ratio et des P value la comparaison des génotypes CC et CG avec l'OR=0.13, P= 0.001, permet de conclure que le génotype CG constitue un facteur de risque pour le cancer donc il y a une association entre le génotype CG du polymorphisme Pro72Arg du gène de la p53 et la survenue de cancer.

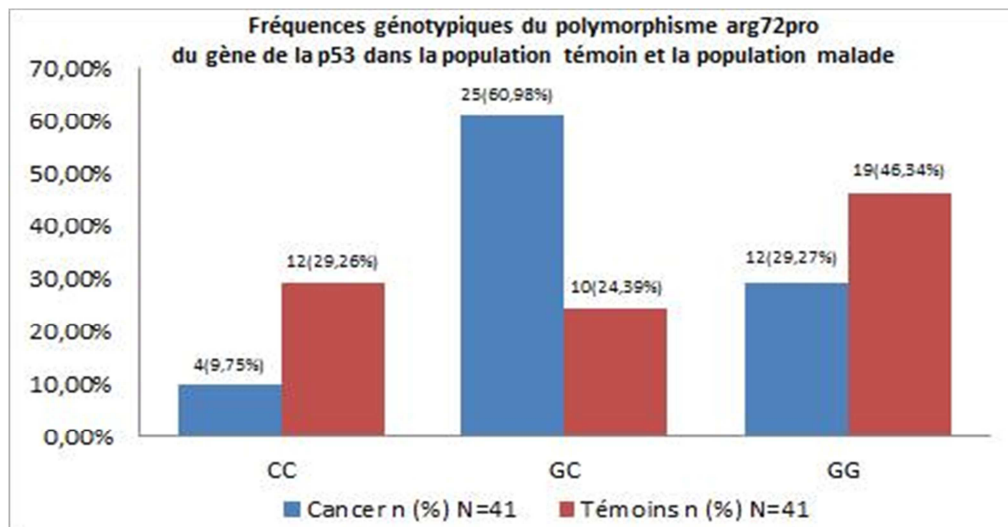


Figure 17: Fréquences génotypiques du polymorphisme Arg72Pro du gène de la p53 dans la population témoin et la population malade.

Par contre, les résultats observés lors de la comparaison du génotype sauvage CC avec le génotype muté GG montrent une relation non significative avec un OR = 0.53 et P = 0.34. On peut dire que le polymorphisme Arg72Pro du gène de la p53 n'est pas associé à la susceptibilité du cancer.

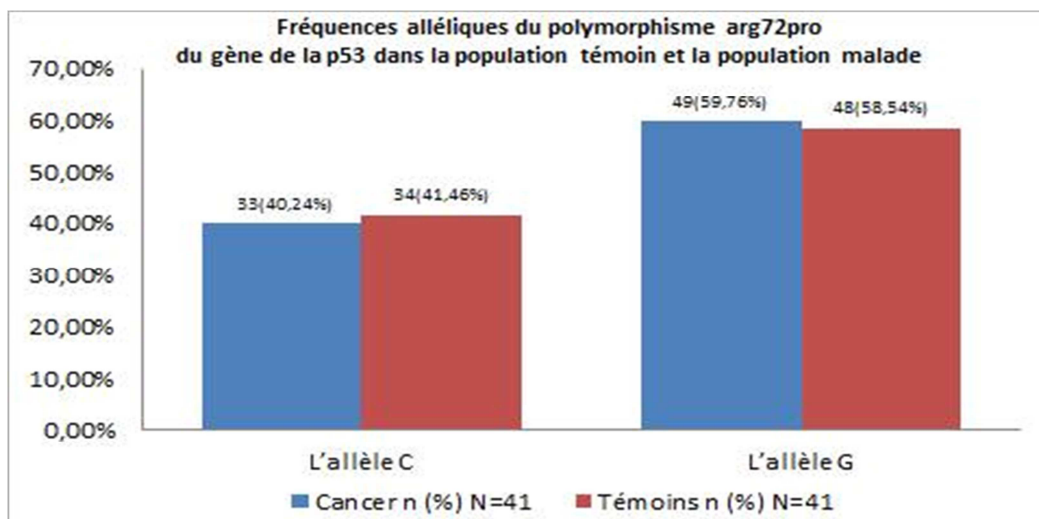


Figure 18 : Fréquences alléliques du polymorphisme Arg72Pro du gène de la p53 dans la population témoin et la population malade.

Cela est confirmé par la comparaison de l'allèle sauvage C avec l'allèle muté G avec un OR = 0.95, P = 0.87. Ce qui nous permet de conclure que l'allèle muté n'est pas lié à un risque de cancer.

DISCUSSION

Récemment, plusieurs études ont fourni des preuves que le polymorphisme du p53 au niveau du codon 72 peut être en corrélation avec certaines tumeurs, comme le cancer du col de l'utérus, le cancer du sein, et le cancer du poumon. En particulier, les deux allèles Arg et Pro ont été révélés être associés à un risque élevé de cancer.

Dans cette étude, nous avons cherché à détecter la fréquence du polymorphisme Arg72Pro dans l'exon 4 de p53, et leurs relations avec le risque accru du cancer. En rapport avec ceci, par PCR, l'amplification du quatrième exon a été réalisée à partir d'échantillons d'ADN isolés dans 41 cas diagnostiqués et l'existence de ce SNP a été testée par une enzyme de restriction.

Les résultats obtenus dans notre travail ont révélé une différence significative entre les deux groupes patients et témoins pour le génotype hétérozygote CG (OR=0.13, P= 0.001), ce qui permet de conclure que le génotype CG constitue un facteur de risque dans la survenue du cancer

L'étude de l'association entre le polymorphisme Arg72Pro et les différents types de cancer a montré qu'il n'y a pas de différence de l'allèle Pro et de l'allèle Arg chez les malades par rapport aux contrôles (OR= 0.95, P=0.87), ce qui pourrait exclure l'éventuelle association entre le polymorphisme Arg72Pro et la survenue du cancer. Ce résultat est parfaitement partagé avec une étude faite sur le cancer hématologique. Le risque de cancer hématologique a doublé dans Arg / Pro hétérozygotes par rapport homozygotes Arg / Arg (P <0,001) , avec une tendance similaire dans homozygotes Pro / Pro. (Ørsted D et al., 2007)

Le polymorphisme du codon 72 du gène p53 ne serait donc pas un facteur de risque génétique dans le cancer. Ces résultats sont en concordance avec ceux trouvés dans plusieurs études réalisées au sein de populations d'origines géographiques différentes :

En 1994, Beckman et al ont fait part, en Inde, d'une différence dans la distribution génotypique du polymorphisme du codon 72 du gène p53 (Beckman et al., 1994), ceci a été confirmé par Inserra et al. Avec une variation dans la distribution allélique et génotypique du polymorphisme du codon 72 du gène p53 aux États-Unis. (Inserra P et al., 2003).

D'autre part, Hamajima et al ont analysé ce SNP dans 147 patients de cancer colorectal et 241 témoins dans une population japonaise, et ils n'ont pas trouvé de relation significative entre les fréquences génotypiques ou alléliques et ce type de cancer.

En accord avec des études antérieures sur le sein, l'estomac et cancer colorectal en Iran, nous avons trouvé des différences significatives dans les fréquences génotypiques ou alléliques entre les patients et le groupes témoins.(Mojtahedi, et *al.*, 2010), aussi ces résultats ont été approuvés de la part de WengY,Lu et son équipe ;treize études ont été identifiés comme des articles admissibles dans cette méta-analyse de p53 Arg72Pro polymorphisme (2731 cas et 7356 témoins), dont neuf sur la leucémie (1266 cas et 4474 contrôles), trois sur le lymphome (1359 cas et 2652 contrôles), et une étude sur le myélome. Les résultats globaux ont suggéré que le variant Arg72 n'a pas été associée à un risque malignités hématologiques. Dans les analyses stratifiées, une augmentation significative du risque du lymphome hodgkinien a été trouvé dans le polymorphisme Arg72Pro de la p53 avec un modèle hétérozygote (Arg / Pro vs Arg / Arg: OR = 1,18, IC à 95%: de 1,02 à 1,35) et le modèle dominant (Arg / Pro + Pro / Pro vs Arg / Arg: OR = 1,18, IC à 95%: 1.03 à 1.34), mais aucune association significative n'a été observée entre le risque de leucémie et de polymorphisme Arg72Pro de la p53. (Weng et *al.*,2012)

Cependant nos résultats sont en contradiction avec ceux issus d'études menées au cours des dix dernières années, où il a été montré une association entre le polymorphisme du codon 72 du gène p53 et le risque du cancer colorectal (Mammano et *al.*, 2009), aussi avec les études portant sur l'association entre le codon 72 p53 polymorphisme et le risque de cancer gastrique. L'objectif de cette étude était de résumer la preuve d'une telle relation. Deux enquêteurs indépendamment recherché sur bases de données *Medline* et *Embase*. Cette méta-analyse a inclus 12 études cas-témoins, qui comprenaient 1665 cas de cancer gastrique et 2358 contrôles. Les résultats combinés sur la base de toutes les études ont montré qu'il n'y avait pas de différence significative dans la distribution des génotypes entre les patients atteints du cancer gastrique et les contrôles. les résultats étaient similaires chez les Asiatiques (Zhou Yet *al.*, 2007).

L'étude de He F et son équipe avec de nombreuses études cas-témoins qui ont étudié l'association entre le polymorphisme du codon 72 Arg / Pro de la p53et le risque de gliome, des résultats contradictoires. Pour mieux comprendre la pathogenèse de gliome, ils ont effectué la présente méta-analyse regroupant les données de toutes les études individuelles

disponibles. Selon les critères d'inclusion, dix publications indépendantes avec 11 études cas-témoins ont été inclus dans cette méta-analyse. L'odds ratio combiné (OR) avec un intervalle de confiance de 95% (IC à 95%) a été calculé pour estimer l'effet de la variante 72 Arg / Pro sur le développement du gliome. Dans l'ensemble, aucune corrélation notable n'a été observée entre les études complètes dans tous les modèles de gènes. (He F et al., 2013)

De plus, dans les analyses stratifiées selon l'origine ethnique, la source des contrôles et sous-types de gliomes, ne modifie pas le risque de gliome.

De nombreux travaux ont étudié l'association entre le polymorphisme codon 72 et le risque de cancer de la vessie au cours des deux dernières décennies, mais les résultats étaient peu concluantes. Soultzis et al. (2002) ont trouvé que les sujets porteurs du génotype Arg / Arg ont un risque accru de développer le cancer de la vessie chez les Blancs ($P < 0.00002$; $OR = 4.69$ 95%CI 2.13-10.41). Mais les données la recherche de Zhang et al (2011) suggèrent que le génotype Arg / Arg du codon 72 et Arg allèle est associé à un faible risque de cancer de la vessie ($P = 0.02$, $OR = 0.53$; 95%CI 0.31-0.89)

Le polymorphisme du codon 72 de la TP53 se produit dans une région riche en proline qui a été rapporté à jouer un essentiel ; rôle dans la croissance de la répression et les fonctions apoptotiques de P53 protéine (Dumont et al., 2003). Les variants polymorphes Arg et Pro diffèrent dans leur capacité de se lier à la transcription (Chang et al., 2002) . Le variant Arg a été signalé à induire l'apoptose des cellules et supprimer la transformation des cellules plus efficacement que le variant Pro (Dumont et al., 2003).

Des cancers différents ont des fréquences génotypiques et alléliques différentes de polymorphisme du codon 72 de p53. Toutefois, lorsque nous avons regroupé les trois types de cancers.

D'une part, nos résultats doivent être confirmés dans d'autre étude indépendante, D'autre part, il existe plusieurs limites dans notre travail citons : la taille de l'échantillon, la durée limitée du travail, l'hétérogénéité des cancers étudiés.

CONCLUSION

Le développement du cancer est influencée par un certain nombre de facteurs, y compris le sexe, l'âge, les facteurs environnementaux, des conditions héréditaires, divers facteurs génétiques. Parmi ces derniers, le gène suppresseur de tumeur P53 qui représente un puissant candidat à moduler le risque de cancer et est l'un des gènes les plus fréquemment muté dans tous les types de cancers (Dans 50 % des cancers humains).

Dans ce contexte nous avons cherché à démontrer par notre travail le potentiel effet du polymorphisme Arg72Pro du gène P53 sur la survenue du cancer.

Les résultats obtenus dans notre travail ont révélé une différence significative de la répartition des fréquences génotypiques entre les deux groupes patients et témoins. De plus, l'étude de l'association entre le polymorphisme Arg72Pro et la susceptibilité du cancer a permis de conclure que le génotype CG constitue un facteur de risque dans la survenue du cancer (OR=0.13, P= 0.001). Par contre, ceci n'était pas confirmé par l'étude des fréquences alléliques qui a montré qu'il n'y a pas de relation entre l'allèle Arg et le cancer.

Cependant, le faible nombre de notre échantillon de malades reste insuffisant pour une conclusion définitive quant à cette absence d'association. Il est donc essentiel d'élargir l'échantillonnage des patients mais aussi, explorer d'autres paramètres ainsi que d'autres gènes de la voie p53 susceptibles d'être impliqués dans la survenue du cancer.



REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- **Arnold J, Oren M**, (2009) ."The first 30 years of p53: growing ever more complex". *Nat Rev Cancer*. **9(10)**: 749–758.
- **Aylon Y, Oren M**, (2007). "Living with p53, dying of p53". *Cell* (**130**): 597-600.
- **Azzam G, Frank A, Hollstein M, Murphy M**, (2011). "Tissue-specific apoptotic effects of the p53 codon 72 polymorphism in a mouse model". *Cell Cycle* (**10**): 1352-1355.
- **Baker S, Markowitz S, Fearon R, Willson K, Vogelstein B**,(1990). "Suppression of human colorectal carcinoma cell growth by wild-type p53." *Science* **249(4971)**: 912-5.
- **Bargonetti J, Friedman P, Kern S, Vogelstein B, Prives C**,(1991). "Wild-type but not mutant p53 immunopurified proteins bind to sequences adjacent to the SV40 origin of replication." *Cell* **65(6)**: 1083-91.
- **Beaucourt S**,(2005). "Etude de 2 gènes cibles de la protéine P53 : siah (seven in absentia human homologue) et tsap6 (tumor suppressor activated pathway 6) " *Cellular Biology. Université Paris Sud - Paris XI*.
- **Beckman G, Birgander R, Sjölander A, Saha N, Holmberg PA, Kivelä A, Beckman L**, (1994) "Is p53 polymorphism maintained by natural selection? »*Hum Hered* **4(5)**:266-70.
- **Beckta JM, Ahmad SF, Yang H, Valerie K**,(2014). "Revisiting p53 for cancer-specific chemo- and radiotherapy". *Cell Cycle* **13(5)**:710-713.
- **Bennett M, Macdonald K, Chan SW, Luzio JP, Simari R, Weissberg P**, (1998). "Cell surface trafficking of Fas: a rapid mechanism of p53-mediated apoptosis." *Science* **282(5387)**: 290-3.
- **Bissonnette N, Hunting J**, (1998). "p21-induced cycle arrest in G1 protects cells from apoptosis induced by UV-irradiation or RNA polymerase II blockage." *Oncogene* **16(26)**: 3461-9.
- **Boehm J, He Y, Greiner A, Staudt L, Wirth T**, (2001). "Regulation of BOB.1/OBF.1 stability by SIAH." *Embo J* **20(15)**: 4153-62.
- **Bunz F, Hwang M, Torrance C, Waldman T, Zhang Y, Dillehay L, Williams J, Lengauer C, Kinzler W, Vogelstein B**, (1999). "Disruption of p53 in human cancer cells alters the responses to therapeutic agents." *J Clin Invest* **104(3)**: 263-9.

- **Bunz F, Dutriaux A, Lengauer C, Waldman T, Zhou S, Brown JP, Sedivy JM, Kinzler KW, Vogelstein B,** (1998). "Requirement for p53 and p21 to sustain G2 arrest after DNA damage." *Science* **282(5393)**: 1497-501.
- **Chang C, Hsieh Y, Tsai J,** (2002). " The proline form of p53 codon 72 polymorphism is associated with endometriosis". *Fertil Steril* **77**, 43-5.
- **Crawford L V , Pim DC , Gurney E G , Goodfellow P , Taylor-Papadimitriou J** (1981). "Detection of a common feature in several human tumor cell lines--a 53,000-dalton protein." *Proc Natl Acad Sci U S A* **78(1)**: 41-5.
- **Crawford LV, Pim DC, Bulbrook RD,** (1982). "Detection of antibodies against the cellular protein p53 in sera from patients with breast cancer." *Int J Cancer* **30(4)**: 403-8.
- **Dahm-Daphi J, Hubbe P, Horvath F, El-Awady RA, Bouffard KE, Powell SN, Willers H,**(2005). "Nonhomologous end-joining of site-specific but not of radiation-induced DNA double-strand breaks is reduced in the presence of wildtype p53." *Oncogene* **24(10)**: 1663-72.
- **Degtyareva N, Subramanian D, Jack D,**(2001). "Analysis of the binding of p53 to DNAs containing mismatched and bulged bases." *J. Biol Chem* **276(12)**: 8778-84.
- **DeLeo AB, Jay G, Appella E, Dubois GC, Law LW, Old LJ,**(1979). "Detection of a transformation-related antigen in chemically induced sarcomas and other transformed cells of the mouse." *Proc Natl Acad Sci U S A* **76(5)**: 2420-4.
- **Diller L, Kassel J, Nelson C , Gryka M , Litwak G , Gebhardt M , Bressac B , Ozturk M, Baker S, Vogelstein B,**(1990). "p53 functions as a cell cycle control protein in osteosarcomas." *Mol Cell Biol* **10(11)**: 5772-81.
- **Ding HF, Fisher DE,**(2001). "p53, caspase 8, and regulation of apoptosis after ionizing radiation." *J. Pediatr Hematol Oncol* **23(3)**: 185-8.
- **Donehower LA, Harvey M, Slagle BL, McArthur MJ, Montgomery CA Jr, Butel JS, Bradley A,** (1992). "Mice deficient for p53 are developmentally normal but susceptible to spontaneous tumours." *Nature* **356(6366)**: 215-21.
- **Dumont P, Leu JI, Della Pietra AC,**(2003). "The codon 72 polymorphic variants of p53 have markedly different apoptotic potential". *Nat Genet* (**33**):357-65.
- **El-Deiry WS, Kern SE, Pietenpol JA, Kinzler KW, Vogelstein B,**(1992). "Definition of a consensus binding site for p53." *Nat Genet* **1(1)**: 45-9.
- **Eliyahu D, Michalovitz D, Eliyahu S, Pinhasi-Kimhi O, Oren M ,** (1989). "Wild-type p53 can inhibit oncogene-mediated focus formation." *Proc Natl Acad Sci U S A* **86(22)**: 8763.

- **Fang Li, Li G, Liu G, Lee W, Aaronson A,**(2001). "p53 induction of heparin-binding EGF-like growth factor counteracts p53 growth suppression through activation of MAPK and PI3K/Akt signaling cascades." *Embo J* **20(8)**: 1931-9.
- **Farmer G, Bargonetti J, Zhu H, Friedman P, Prywes R, Prives C,** (1992). "Wild-type p53 activates transcription in vitro." *Nature* **358(6381)**: 83-6.
- **Feng L , Lin T, Uranish H i, Gu W, Xu Y,** (2005). "Functional Analysis of the Roles of Posttranslational Modifications at the p53 C Terminus in Regulating p53 Stability and Activity" *Mol Cell Biol* **25(13)**: 5389–5395.
- **Fields S, Jang SK,** (1990). "Presence of a potent transcription activating sequence in the p53 protein." *Science* **249(4972)**: 1046-9.
- **Frank AK, Leu JI, Zhou Y, Devarajan K, Nedelko T, Klein-Szanto A, Hollstein M, Murphy ME ,**(2011). "The codon 72 polymorphism of p53 regulates interaction with NF- κ B and transactivation of genes involved in immunity and inflammation". *Mol Cell Biol* **(31)**: 1201-1213.
- **Gorospe M, Cirielli C, Wang X, Seth P, Capogrossi MC, Holbrook NJ,**(1997). "p21(Waf1/Cip1) protects against p53-mediated apoptosis of human melanoma cells." *Oncogene* **14(8)**: 929-35.
- **Green DR, Chipuk J E,** (2006). "p53 and metabolism: Inside the TIGAR." *Cell* **126(1)**: 30-2.
- **Hanahan D, Weinberg RA,** (2000). " The hallmarks of cancer". *Cell* **(100)**: 57-70.
- **Hanahan.D, Weinberg RA,** (2011). "Hallmarks of cancer: the next generation". *Cell* **(144)**: 646-74.
- **Harlow E, Pim C, Crawford LV,**(1981). "Complex of simian virus 40 large-T antigen and host 53,000-molecular-weight protein in monkey cells." *J Virol* **37(2)**: 564-73
- **He F, Xia Y, Liu H, Li J, Wang C,**(2013) "P53 codon 72 Arg/Pro polymorphism and glioma risk: an updated meta-analysis. Tumour biology". *the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine* **34(5)**:3121-30
- **Heron JF,**(2009). Classification des tumeurs « classification en stades ».
- **Hu W, Feng Z, Teresky AK, Levine AJ,**(2007). "p53 regulates maternal reproduction through LIF." *Nature* **450(7170)**:721-4.
- **Inserra P, Abrahamsen M, Papenfuss M, Giuliano AR,** (2003). "Ethnic variation of the P53 codon 72 polymorphism, HPV persistence, and cervical cancer risk". *Int J STD AIDS* **14(12)**:800-4.

- **Kato S, Han SY, Liu W, Otsuka K, Shibata H, Kanamaru R, Ishioka C,(2003).** "Understanding the function-structure and function-mutation relationships of p53 tumor suppressor protein by high-resolution missense mutation analysis". *Proc Natl Acad Sci U S A* **(100)**: 8424-8429.
- **Kern SE, Kinzler KW, Bruskin A, Jarosz D, Friedman P, Prives C, Vogelstein B,(1991).** "Identification of p53 as a sequence-specific DNA binding protein." *Science* **252(5013)**: 1708-11.
- **Lane DP,(1983).** *Cell. Biol. Int. Rep***7**: 513-514.
- **Lane DP, Crawford LV, (1979).** "T antigen is bound to a host protein in SV40-transformed cells." *Nature* **278(5701)**: 261-3.
- **Lassus P, Bertrand C,(1999).** "Anti-apoptotic activity of p53 maps to the COOH-terminal domain and is retained in a highly oncogenic natural mutant." *Oncogene* **18(33)**: 4699-709.
- **Laurent G, Solari F, Mateescu B, Karaca M, Castel J, Bourachot B, Magnan C, Billaud M, Mehta-Grigoriou F,(2008).** "Oxydative stress contributes by enhancing pancreatic angiogenesis and insulin-signaling Cell Metabolism " *Cell Metab* **(7)2** : 113-124.
- **Levine AJ, Yu X1, Harris SL,(2006).** "The regulation of exosome secretion: a novel function of the p53 protein". *Cancer Res* **1;66(9)**:4795-801.
- **Li X, Dumont M, (2005).**" The codon 47 polymorphism in p53 is functionally significant". *J Biol Chem* **280**: 24245-24251.
- **Linzer DI, Maltzman W, Levine AJ,(1979).** "The SV40 A gene product is required for the production of a 54,000 MW cellular tumor antigen." *Virology* **98(2)**: 308-18
- **Malcomson RD, Oren M, Wyllie AH, Harrison DJ, (1995).** "P53-independent death and p53-induced protection against apoptosis in fibroblasts treated with chemotherapeutic drugs." *Br J Cancer* **72(4)**: 952-7.
- **Mammano E, Belluco C, Bonafé M, Olivieri F, Mugianesi E, Barbi C, Mishto M, Cosci M, Franceschi C, Lise M, Nitti D,(2009).** "Association of p53 polymorphisms and colorectal cancer: Modulation of risk and progression." *EJSO* **(35)4**:415–419
- **Mariette X, Sibia J, Roux S, Meignin V, Janin A,(2002).** "A new defensive mechanism to prevent apoptosis in salivary ductal cells from patients with Sjogren's syndrome: over-expression of p53 and p21." *Rheumatology (Oxford)* **41(1)**: 96-9.

- **Martinez J, Georgoff I, Martinez J, Levine AJ**, (1991). "Cellular localization and cell cycle regulation by a temperature-sensitive p53 protein." *Genes Dev* **5(2)**: 151-9.
- **McKay BC, Becerril C, Ljungman M**,(2001). "P53 plays a protective role against UV- and cisplatin-induced apoptosis in transcription-coupled repair proficient fibroblasts." *Oncogene* **20(46)**: 6805-8.
- **Meng. RD. McDonald. E R**, (2000). "The TRAIL decoy receptor TRUNDD DcR2, TRAIL-R4) is induced by adenovirus-p53 overexpression and can delay TRAIL-, p53-, and KILLER/DR5-dependent colon cancer apoptosis." *Mol Ther* **1(2)**: 130-44.
- **Mercer WE, Shields MT, Amin M, Sauve GJ, Appella E, Romano JW, Ullrich SJ**, (1990). "Negative growth regulation in a glioblastoma tumor cell line that conditionally expresses human wild-type p53." *Proc Natl Acad Sci U S A* **87(16)**: 6166-70.
- **Michalovitz D, Halevy O**, (1990). "Conditional inhibition of transformation and of cell proliferation by a temperature-sensitive mutant of p53." *Cell* **62(4)**: 671-80.
Modifications at the p53 C Terminus in Regulating p53 Stability and Activity." *Mol Cell Biol* **25(13)**: 5389-95.
- **Mojtahedi Z, Haghshenas MR, Hosseini SV, Fattahi MJ, Ghaderi A**, (2010) " p53 codon 72 polymorphism in stomach and colorectal adenocarcinomas in Iranian patients." *Ind. J. of Cancer* vol **47 (1)**:. 31–34.
- **Oren M , Levine A J**, (1983). "Molecular cloning of a cDNA specific for the murine p53 cellular tumor antigen." *Proc Natl Acad Sci U S A* **80(1)**: 56-9.
- **O'Rourke RW, and Miller CW**, (1990). "A potential transcriptional activation element in the p53 protein." *Oncogene* **5(12)**: 1829-32.
- **Ørsted DD, Bojesen SE, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG**,(2007)" Tumor suppressor p53 Arg72Pro polymorphism and longevity, cancer survival, and risk of cancer in the general population" *JEM* vol. **204 no. 6** 1295-1301.
- **P. Kleihues, Stewart BW**, (2003) World Cancer Report Paperback.
- **Patricia A J. Muller M**, (2013)."P53 mutation in cancer." *Nature Cell Biology* **(15)**:2–8.
- **Pim D, Banks L** , (2004). "P53 polymorphic variants at codon 72 exert different effects on cell cycle progression". *Int J Cancer* **(108)**: 196-199.
- **Plan National Cancer du ministre de sante algérienne** , (2014).
- **Polyak.K, Waldman.T, et al**(1996). "Genetic determinants of p53-induced apoptosis and growth arrest." *Genes Dev* **10(15)**: 1945-52.

- **Raisonnier A, Wright F**,(2003) ." Molécules informationnelles".*Cours de Biochimie PCEM2, Biochimie métabolique et Régulations C1*.
- **Reich N C, Levine .A J**, (1984). "Growth regulation of a cellular tumour antigen, p53, in nontransformed cells." *Nature* **308(5955)**: 199-201.
- **Rotter .V**, (1983)."p53, a transformation-related cellular-encoded protein, can be used as a biochemical marker for the detection of primary mouse tumor cells." *Proc Natl Acad Sci U SA* **80(9)**: 2613-7.
- **Rotter V, Abutbul H, Ben-Ze'ev A** ,(1983). "P53 transformation-related protein accumulates in the nucleus of transformed fibroblasts in association with the chromatin and is found in the cytoplasm of non-transformed fibroblasts." *Embo J* **2(7)**: 1041-7.
- **Salvioli S, Bonafé M, Barbi C, Storci G, Trapassi C, Tocco F, Gravina S, Rossi M, Tiberi L, Mondello C, Monti D, Franceschi C**,(2005). "p53 codon 72 alleles influence the response to anticancer drugs in cells from aged people by regulating the cell cycle inhibitor p21WAF1". *Cell Cycle* **4** : 1264-1271.
- **Schuler M,Bossy-Wetzel E** ,(2000). "p53 induces apoptosis by caspase activation through mitochondrial cytochrome c release." *J Biol Chem* **275(10)**: 7337-42.
- **Sedrati k**, (2012) "Cours généralité sur les tumeurs "Université des frères Mentouri
- **Sengupta S, Linke SP, Pedoux R, Yang Q, Farnsworth J, Garfield SH, Valerie K, Shay JW, Ellis NA, Wasylyk B, Harris CC**,(2003). "BLM helicase-dependent transport of p53 to sites of stalled DNA replication forks modulates homologous recombination." *Embo J* **22(5)**: 1210-22.
- **Soulitzis N, Sourvinos G, Dokianakis DN**, (2002). "p53 codon 72 polymorphism and its association with bladder cancer" *Cancer Lett* (**179**): 175-83.
- **Soussi.T, Beroud C**, (2001). "Assessing TP53 status in human tumours to evaluate clinical outcome." *Nat Rev Cancer* **1(3)**: 233-40.
- **Soussi.T, Lozano G**, (2005)."p53 mutation heterogeneity in cancer."*Biochem Biophys Res Commun* **331(3)**: 834-42.
- **Steinmeyer K, Deppert W**,(1988). "DNA binding properties of murine p53." *Oncogene* **3(5)**: 501-7.
- **Toullec A, Gerald D, Despouy G, Bourachot B, Cardon M, Lefort S, Richardson M, Rigaiil G, Parrini MC, Lucchesi C, Bellanger D, Stern MH, Dubois T,Sastre-Garau X, Delattre O, Vincent-Salomon A, Mechta-Grigoriou F**,(2010)."Oxydative stress promotes myofibroblast differentiation and tumour spreading EMBO molecular medicine " *EMBO Mol Med* **2(6)**: 211-230.

- **Vikhanskaya F, D'Incalci M,**(1995). "Decreased cytotoxic effects of doxorubicin in a human ovarian cancer-cell line expressing wild-type p53 and WAF1/CIP1 genes." *Int J Cancer* **61(3)**: 397-401.
- **Wang Y, Blandino G, Givol D,**(1999). "Induced p21waf expression in H1299 cell line promotes cell senescence and protects against cytotoxic effect of radiation and doxorubicin." *Oncogene* **18(16)**: 2643-9.
- **Weng Y¹, Lu L, Yuan G, Guo J, Zhang Z, Xie X, Chen G, Zhang J,** (2012) . "P53 codon 72 polymorphism and Hematological cancer risk : an update meta-analysis". *Plos one* **7(9)** : e45820.
- **Whibley C, Pharoah P, Hollstein M,** (2009). " p53 polymorphisms: cancer implications". *Nature Reviews Cancer* **(9)**: 95-107 l.
- **Willers H, McCarthy EE, Wu B, Wunsch H, Tang W, Taghian DG, Xia F, Powell SN,** (2000). "Dissociation of p53-mediated suppression of homologous recombination from G1/S cell cycle checkpoint control." *Oncogene* **19(5)**: 632-9.
- **Yang.Q, Zhang .R,** (2002). "The processing of Holliday junctions by BLM and WRN helicases is regulated by p53." *J Biol Chem* **277(35)**: 31980-7.
- **Yuangang. L, James. P,**(2004) . " Facilitated Search for Specific Genomic Targets by p53 C-Terminal Basic DNA Binding Domain". *Cancer Biology & Therapy* **3(11)**: 1102-1108.
- **Zhang R, Chen W, Zhang W, Jiang Q, Liu C, Lin Y, Hu Z, Yu S, Xu G,** (2011). "Genetic polymorphisms of p53 codon 72 and bladder cancer susceptibility: a hospital based case-control study".*Genet Test Mol Biomarkers* **(15)**: 337-41.
- **Zhou Y, Li N, Zhuang W, Liu GJ, Wu TX, Yao X, Du L, Wei ML, Wu XT,** (2007). " P53 codon 72 polymorphism and gastric cancer: a meta-analysis of the literature".*International journal of cancer. Journal international du cancer* **121(7)**:1481-6.

ANNEXE

Annexe

La séquence de la P53 EXON 4 279 bp Arg72Pro

gtgggaagcgaaaattccatgggactgactttctgctcttgtctttcagacttcc
tgaaaacaacgttctggtaaggacaagggttgggctggggacctggagggctggg
gacctggagggctggggggctggggggctgaggacctggtcctctgactgctctt
ttcaccatctacag**TCCCCCTTGCCGTCCCAAGCAATGGATGATTTGATGCTGT**
CCCCGGACGATATTGAACAATGGTTCACTGAAGACCCAGGTCCAGATGAAGCTCC
CAGAATGCCAGAGGCTGCTCCCCCGTGGCCCCTGCACCAGCAGCTCCTACACCG
GCGGCCCTGCACCAGCCCCCTCCTGGCCCCTGTCATCTTCTGTCCCTTCCCAGA
AAACCTACCAGGGCAGCTACGGTTTCCGTCTGGGCTTCTTGCATTCTGGGACAGC
CAAGTCTGTGACTTGCACGgtcagttgcctgaggggctggcttccatgagactt
caatgcctggcctatccccctgcatttcttttgtttgggaacttgggattcctc
ttcacccttggcttctgtcagtgtttt

Résumé

TP53 est un gène suppresseur de tumeur impliqué dans le développement de plusieurs types de cancer. Il a été rapporté qu'une variation d'une base au niveau du codon 72 de ce gène, à l'origine d'une substitution d'une Proline (Pro) par une Arginine (Arg), pourrait accroître le risque de la carcinogénèse.

L'objectif de notre travail était d'évaluer la fréquence du polymorphisme Arg72Pro et de rechercher une éventuelle association entre ce polymorphisme et la survenue du cancer. Le polymorphisme a été recherché par la PCR/RFLP.

Les résultats obtenus dans notre étude ont révélé une différence significative entre les deux groupes patients et témoins pour le génotype hétérozygote CG (OR=0.13, P=0.001), ce qui permet de conclure que le génotype CG constitue un facteur de risque dans la survenue du cancer.

Cependant, l'étude de l'association entre le polymorphisme Arg72Pro et les différents types de cancer a montré qu'il n'y a pas de différence de l'allèle Pro et de l'allèle Arg chez les malades par rapport aux contrôles (OR= 0.95, P=0.87), ce qui pourrait exclure l'éventuelle association entre le polymorphisme Arg72Pro et la survenue du cancer.

Ces résultats ne peuvent pas être confirmatifs, une étude plus large est nécessaire, en plus il sera utile de prendre en considération d'autres paramètres cliniques et génétiques et d'inclure d'autres types de cancer.

ملخص

TP53 مورثة حادفة للورم تتدخل في تطور العديد من السرطانات وننوه ان الاختلاف الحاصل لقاعدة على مستوى الكودون 72 من المورثة انما هو اصل استبدال البرولين بالارجنين مما قد يزيد من خطر التسرطن.

غاية عملنا تكمن في تقييم التردد الخاص بتعدد الاشكال Arg 72 Pro و البحث عن العلاقة المحتملة بين هذا الاخير و ظهور السرطان. لقد تم البحث عنه بواسطة تقنية PCR/RFLP .

النتائج التي تحصلنا عليها اظهرت فرقا بين المجموعتين الخاضعتين للبحث مرضى و شواهد بالنسبة للنمط الوراثي المتغاير CG (or =0.13 ; p=0.001) مما يسمح باستنتاج ان النمط الوراثي CG يلعب دور اساسي في ظهور و تطور السرطان.

وبالعكس فان دراسة العلاقة بين متعدد الاشكال Arg72Pro و مختلف انواع السرطان بينت ان لا علاقة بين الاليلين الخاصة بالمرضى مقارنة بالحسابات الاحصائية (or=0.95 ; p=0.87) مما مكننا ان نحذف فرضية العلاقة القائمة بين متعدد الأشكال Arg 72Pro وتشكل السرطان.

هاته النتائج لا يمكن توثيقها مما يتطلب ابحاثا اساسية و اكثر اتساعا زيادة على ذلك ومن اجل نجاعة افضل وجب الوضع في الحسبان معايير اخرى (عيادية ووراثية) و اخضاع انماط اخرى من السرطان للبحث والتبيان.

Abstract

TP53 is a tumor suppressor gene involved in the development of several types of cancer. It has been reported that a base variation at codon 72 of this gene, lead to a substitution of Proline (Pro) by Arginine (Arg), may increase the risk of carcinogenesis.

The purpose of our study was to assess the frequency of Arg72Pro polymorphism and seek a possible association between this polymorphism and the occurrence of cancer. The Arg72ro polymorphism was investigated by PCR / RFLP

The results obtained in our research revealed a significant difference between the patients and control groups for the heterozygous genotype GC (OR = 0.13, P = 0.001), which allows to conclude that the CG genotype is a risk factor in the onset cancer.

However, the study of the association between the polymorphism Arg72 Pro and various types of cancer has shown that no difference in allele Pro and Arg allele frequencies in patients compared to controls (OR = 0.95 , P = 0.87), which could exclude the possible association between the polymorphism Arg72Pro and the occurrence of cancer.

These results cannot be confirmatory, a larger study is will be necessary, in addition it will be useful to consider other clinical and genetic parameters and include other types of cancer.

Etude de l'association entre le polymorphisme Arg72Pro du gène de la P53 et le cancer

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Génétique Moléculaire.

Résumé

TP53 est un gène suppresseur de tumeur impliqué dans le développement de plusieurs types de cancer. Il a été rapporté qu'une variation d'une base au niveau du codon 72 de ce gène, à l'origine d'une substitution d'une Proline (Pro) par une Arginine (Arg), pourrait accroître le risque de la carcinogénèse.

L'objectif de notre travail était d'évaluer la fréquence du polymorphisme Arg72Pro et de rechercher une éventuelle association entre ce polymorphisme et la survenue du cancer. Le polymorphisme a été recherché par la par PCR/RFLP.

Les résultats obtenus dans notre étude ont révélé une différence significative entre les deux groupes patients et témoins pour le génotype hétérozygote CG (OR=0.13, P= 0.001), ce qui permet de conclure que le génotype CG constitue un facteur de risque dans la survenue du cancer.

Cependant, l'étude de l'association entre le polymorphisme Arg72Pro et les différents types de cancer a montré qu'il n'y a pas de différence de l'allèle Pro et de l'allèle Arg chez les malades par rapport aux contrôles (OR= 0.95, P=0.87), ce qui pourrait exclure l'éventuelle association entre le polymorphisme Arg72Pro et la survenue du cancer.

Ces résultats ne peuvent pas être confirmatifs, une étude plus large est nécessaire, en plus il sera utile de prendre en considération d'autres paramètres cliniques et génétiques et d'inclure d'autres types de cancer.

Mots clés : Cancer, P53, Polymorphisme, Arg72Pro, PCR/RFLP

Laboratoire de recherche : Laboratoire de biologie et génétique moléculaire (UMC3)
Laboratoire de biologie moléculaire de la faculté des sciences et de la nature et de la vie (UFMC1)

Jury d'évaluation :

Président du jury : *Mme SATTI Dallila (Professeur - UFM Constantine).*
Rapporteur : *Mme SEDRATI Khadidja (MAA- UFM Constantine).*
Examineur : *Mme BOUDKHANE Ibtissem (MAA- UFM Constantine).*
Mme BENLETRECHE Moufida (MAA- UFM Constantine).

Date de soutenance : 12/06/2016