

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



Université Constantine I
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Animale

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie Animale

Spécialité : Génétique Moléculaire

Intitulé:

Cancer du pancréas Etude Rétrospective (2014-2012) et, Etude génétique du polymorphisme C677T de la méthylène tétrahydrofolate réductase (*MTHFR*) dans l'Est Algérien

Présenté par : *KHANFRI Zakaria*

Soutenu Le : 24/06/2014

DABBACHE Maissa

Devant le Jury d'évaluation

Président du jury : Mr REZGOUNE. ML

MAA Université Constantine 1

Rapporteur : M^{lle} BENLATRÈCHE. M

MAA Université Constantine 1

Examineurs : Mme BOUDOUKHANE.B

MAA Université Constantine 1

Année universitaire
2013-2014

Remerciements



En préambule à ce mémoire, Nous souhaitons adresser nos remerciements

les plus sincères à Dieu de nous avoir accordé des connaissances de la science, et de nous avoir aidés à réaliser ce travail.

La première personne que nous tenons à remercier sincèrement est notre encadreur Mlle BENLATRÈCHE Moufida maitre assistante à l'UC1, nous lui sommes reconnaissants, pour le temps conséquent (elle a veillé avec nous jusqu'à 3h du matin), ses qualités pédagogiques et scientifiques, sa franchise, sa sympathie et sa disponibilité non seulement pour la réalisation de ce mémoire mais aussi durant tout le parcours de notre formation. Nous avons beaucoup appris à ses cotés et nous lui adressons notre gratitude pour tous cela

Sincèrement vous nous faites l'honneur d'être notre encadreur

Nos remerciements s'adressent également à Monsieur REZGOUNE M^{ed}.Larbi, pour avoir accepté d'être le président du jury et à Melle BOUDOUKHANE I. d'être l'examinatrice de ce modeste travail.

Nous remercions également Monsieur le professeur d'oncologie médicale

FILALI Taha, vous nous faites l'honneur de nous accepter avec une très grande amabilité dans votre groupe, merci

A Dr. CHIROUF et ses résidents de nous avoir beaucoup aidé. Ainsi a toute l'équipe qui travaille au niveau de cet organisme

Nous tenons à remercier spécialement Mme SATTA Dalila notre mère de la génétique et Mme CHAOUI N et tous nos enseignants qui ont veillé sans relâche de nous transmettre le savoir durant toutes ces 5 années dans un cadre de respect mutuel Enfin à toute personne qui a participé de près ou de loin pour l'accomplissement de ce modeste travail, et à tous les patients cancéreux qu'Allah vous guérit

Les études sont avant tout

Notre unique et seul atout



Ils représentent la lumière de notre existence

L'étoile brillante de notre réjouissance

DEDICACES



Je dédie ce mémoire à ...

Ma mère Nadia la plus belle chose dans ma vie, Aucune dédicace ne serait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge de l'adulte.

À mon père Mourad pour sa patience, sa confiance et son respect de mes choix, rien au monde ne vont les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

À mes très chères sœurs Rahima, Maroua et Saffa de l'amour et de l'affection que je porte pour vous, je vous souhaite une bonne continuation dans votre vie.

À mes cousins Mouhamed et son épouse Wafa, Brahim, Okba et Rabeh et à mes cousines, Sara et son époux Adel, Naima, Amina et Yasmine je vous considère comme mes frères et mes sœurs.

À ma Grand-Mère Houria et à la mémoire de mon grand père ZEDDAM Lakfider.

À mes enseignants et sur tous Melle BENLATRÈCHE Moufida.

À mon grand père Ahmed et à la mémoire de ma grand-mère Aicha.

À toute ma famille et à tous mes amis Zoubeir, Ahmed, Ala, Hichem, Farouk

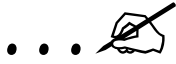
À la formidable promotion 2014 du Master 2 Génétique Des Cancers.

KHANFRI Zakaria

Dédicace



Je dédie ce modeste mémoire



Ce mémoire est dédié :

À toutes les personnes atteintes de cette maladie

À la mémoire de mes parents, qui m'ont toujours poussé et motivé dans mes études.

À mes sœurs et mon frère et mes cousines.

À ma très chère tante : Aicha.

À mes très chers : Anis et loudjein.

À mes proches ami(e)s, et toute ma famille.

À toutes les personnes qui connaissent Maïssa.

Que Dieu le puissant m'éclaire le bon chemin de ma vie et tout ce qui me semble flou et sombre

Merci À Tous...

DABBACHE Maïssa

Liste des Abréviations:

ADN: Acide Désoxyribonucléique.

ADNc: Acide Désoxyribonucléique complémentaire.

AKT2: sérine-thréonine kinase.

ARF: Alternate Reading Frame.

ARN: Acide Ribonucléique.

BET: Bromure d'ETHidium.

BRCA2: Breast Cancer2

CDK2A: Cycline Dependent Kinase 2 A.

DNMT: DNA Méthyltransférases.

DO: Densité Optique.

DPC4: Deleted in Pancreatic Carcinoma 4.

EDTA: Ethylène Diamine Tétra-Acétique

EGF: Epidermal Growth Factor.

EGFR: Epidermal Growth Factor Receptor.

FAMMM: Familial Atypical Mole-Maligant Melanoma.

FGF: Fibroblast Growth Factor.

GDP: Guanosine diphosphate.

GTP: Guanosine triphosphate.

HER2: Human Epidermal growth factor Receptor 2.

HGF: Hepatocyte Growth Factor.

HIF: Hypoxia Inducible Factors.

Hinf I: Haemophilus influenzae1.

IGF-R1: Insulin-like growth Factor 1.

IMC: Indice de Masse Corporel.

kDa: kilo Daltone.

K-Ras: Kirsten Rat Sarcoma.

MAP kinase: Mitogen Activated Protein Kinase.

Mdm2: Murine Double Minute2.

miARN: Micro ARN.

MMP : Matrix MetalloProteinases.

MTHFR: 5,10 méthylène tétrahydrofolate réductase.

MTS1: Multiple Tumor Suppressor1.

NEM-1 : néoplasie endocrine multiples de type1.

NF- κ B: Nuclear Factor-kappaB.

NGF : nerve growth factor.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

P21 : Protéine 21kDa.

P53: Protéine 53kDa.

PALLD: gène Palladin.

Pan IN: Pancreatic Intraepithelial Neoplasia.

PCR: Polymérase Chaîne Réaction

PDAC: Pancreatic Ductal AdenoCarcinoma.

PDGF: Platelet Derived Growth Factor.

Pi3K: phosphatidyl-inositol-3 kinase.

PP: PolyPéptide

PTEN: Phosphatase and TENsing homolog.

Rb: Rétinoblastome.

RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism.

SDS: Sodium Dodécyle Sulfate.

SMAD4: Mothers Against Decapentaplegic homolog 4.

SSTR2: SomatoStatine Reseptor2.

STAT: Signal Transducers and Activators of Transcription.

TGF- β : Transforming Growth Factor beta.

TE: Tris Ethylène Diamine Tétra-Acétique

TNF- α : Tumor Necrosis Factor alpha.

TNM: Tumor, Nod, Metastasis.

TP53:Tumor Protein 53kDa.

uPA: urokinase plasminogen activator.

VIPome: Vasoactive Intestinal Peptidome.

VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor.

Sommaire

Résumé.....	01
Introduction.....	04
Partie bibliographique.....	07
1. Pancréas.....	07
1.1. Définition.....	07
1.2. Symptômes.....	07
1.3. Épidémiologie.....	08
1.4. Physiologie.....	09
1.4.1. Anatomie:.....	09
1.4.2 Histologie.....	10
❖ Le pancréas exocrine.....	10
❖ Le pancréas endocrine.....	11
1.4.3. Fonctions.....	11
1.5. Classification TNM (tumor, nod, metastasis).....	12
1.6. Facteurs de risque.....	13
1.7. Types de cancer	14
1.7.1 Le cancer de pancréas exocrine.....	16
1.7.2 Le cancer de pancréas endocrine.....	16
1.8. Physiopathologie du cancer du pancréas.....	17
2. Biologie Moléculaire, et, cancer du pancréas.....	19
2.1. Les oncogènes.....	19
• K	-
ras.....	19
• ERBB2.....	19
2.2. Gènes suppresseurs de tumeur.....	20
• P53.....	20
• Smad4/DPC4.....	20
• INK4A/ARF.....	20
2.3 Autres.....	21
• SSTR2.....	21

• PTEN.....	21
2.4 Facteurs de croissance	22
• Epidermal growth factor (EGF).....	22
• Fibroblast growth factor (FGF).....	22
2.5 Autres voies de signalisation.....	22
• Akt/kinase B.....	22
• NF-κB.....	22
2.6 Les autres altérations.....	23
➤ Activité télomérase	23
➤ Méthylation de l'ADN	23
➤ MicroARN.....	23
➤ Facteur d'invasion tumorale	24
➤ Angiogénèse.....	24
2.7. Le cancer du pancréas familial.....	25
2.8 MTHFR et cancer du pancréas.....	25
2.8.1. La protéine MTHFR.....	26
2.8.2. Rôle de la MTHFR.....	26
2.8.3. Gène de la MTHFR.....	28
2.8.4. Mutation C677T.....	30
PATIENTS ET METHODES.....	32
1. Recrutement des sujets.....	32
• Critères d'inclusions.....	32
• Critères d'exclusions.....	33
2. Prélèvement.....	33
3. Questionnaire et Enregistrements.....	33
• Questionnaire.....	33
• Enregistrement.....	34
4. Manipulations sur le sang total.....	34
4.1. Extraction de l'ADN.....	34

• Principe.....	34
4.2. Détermination de la pureté et la concentration de l'ADN.....	35
4.2.1. Détermination de la pureté.....	35
• Principe.....	35
4.2.2. Détermination de la concentration de l'ADN.....	35
• Principe.....	35
5. Génotypage de la MTHFR.....	36
1. La PCR (Polymérase Chaîne Réaction).....	36
1.1. Préparation du milieu réactionnel (ou mix) de PCR.....	36
1.2. Déroulement des cycles de la PCR.....	37
1.3. Contrôle des produits de la PCR.....	37
2. Digestion des produits de PCR.....	37
1. Digestion par l'enzyme de restriction HinfI.....	38
2. Conditions de migration.....	38
- Préparation d'un gel d'agarose.....	38
- Dépôts des échantillons.....	38
- Migration.....	38
3. Révélation du profil électrophorétique.....	39
3. Profils RFLP obtenus.....	39
6. Analyse statistique.....	40
6.1. Statistique descriptive.....	40
6.2. L'enquête analytique.....	40
6.3. Calcul de l'odds ratio.....	41
6.4. Les intervalles de confiance.....	42
6.5. Choix de la p value.....	42
Résultats et discussion.....	43
1. fréquence de Cancer de Pancréas par rapport aux autres cancers.....	43
2. Aspect Clinique des patients atteints d'un cancer du pancréas.....	44
3. Âge et Sexe Ratio.....	45
4. Moyennes d'âge.....	47

5. Répartition en Tranche d'âge.....	47
6. Répartition des fréquences génotypiques dans les deux groupes.....	48
7. Répartition des fréquences alléliques dans les deux groupes.....	50
Conclusion et perspectives.....	52

Liste des tableaux

Tableau 1: La fréquence des symptômes par rapport aux différentes parties du pancréas ...	08
Tableau 2: Classement de l'incidence selon le cancer digestif en Algérie.....	09
Tableau 3: Illustration de la classification TNM.....	12
Tableau 4: Les différents types du cancer pancréatique exocrine.....	15
Tableau 5: Les différents types du cancer pancréatique endocrine.....	15
Tableau 6: Classification et origine des divers types de tumeurs du pancréas.....	16
Tableau 7: Principales altérations moléculaires au cours du cancer pancréatique.....	25
Tableau 8: fréquence de Cancer de Pancréas par rapport aux autres cancers, chaque année, et pendant 02 ans.....	43
Tableau 9: Moyenne d'âge.....	47
Tableau 10: Répartition en Tranche d'âge.....	47
Tableau 11: fréquence génotypique du polymorphisme C677T de la MTHFR.....	48
Tableau 12: Fréquences alléliques de la MTHFR dans la population malade et témoins.....	50
Tableau 13: Calcul des Odds ratio des sujets malades ayant un allèle T par rapport aux témoins ayant un génotype CC.....	51
Tableau 14: Préparation du milieu réactionnel du PCR pour MTHFR.....	57
Tableau 15: Déroulement des cycles de la PCR dans le thermocycleur.....	58
Tableau 16: préparation du milieu de digestion par l'enzyme Hinf I.....	59

Liste des figures

Figure 01 : Anatomie et situation du pancréas chez l'Homme	10
Figure 02 : Altérations Génétiques associées à la progression tumorale de l'Adénocarcinome du Pancréas.....	18
Figure 03 : Répercussions métaboliques de l'activité de la MTHFR.....	27
Figure 04 : structure de gène de la MTHFR avec la localisation des protéines et de mutations connus.....	29
Figure 05 : localisation cytogénétique du gène de la MTHFR	30
Figure 06 : Représentation schématique de 41 mutations graves du gène MTHFR et des deux polymorphismes particulièrement étudiés.....	31
Figure07 : Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose 1,5 % des fragments amplifiés(198 pb) par PCR du gène MTHFR.....	37
Figure08 : site de restriction par l'enzyme Hinf I.....	38
Figure09 : Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose des fragments issus par clivage de HinfI présentant différents génotypes d'MTHFR.....	40
Figure10 : Fréquence de cancer de pancréas par rapport aux autres types de Cancer dans l'est Algérien (dans notre échantillon).....	44
Figure11 : Répartition des Patients Selon le sexe.....	46
Figure12 : Répartition en tranche d'âge des patients.....	48
Figure13 : Répartition des fréquences génotypiques dans la population de Témoins et dans les cancéreux.....	49
Figure14 : Répartition des fréquences alléliques de la MTHFR dans la population témoin et dans les cancéreux.....	50

Résumé

Notre étude sur des patients présentant un cancer du pancréas, a, révélé, la non implication de l'allèle T, dans la survenue d'un cancer du pancréas.

Les résultats de notre étude montrent que, Le génotype homozygote muté TT, correspond à une fréquence de 23,53% chez les cancéreux, et de 11,76% chez les témoins; Ainsi l'allèle T présente une fréquence de 38,24% chez les cancéreux ; alors que chez les témoins, sa fréquence est de 35,29%.

Dans toutes les études de taille suffisante pour se prêter à ce type d'analyse, la mutation C677T de la *MTHFR* est liée au cancer du pancréas indépendamment des autres facteurs de risque. Cela, ne signifie pas, autant que la mutation C677T de la *MTHFR*, ne soit pas corrélée, à, certains de ces facteurs. Par exemple comme le suggèrent certaines études, la mutation C677T est, plus fréquente chez le sujet âgé, et chez le sexe masculin exposé au tabac, et elle présente un gradient nord sud sur le globe terrestre, c'est-à-dire là où le stress psychosociologique dû à la vie moderne, est vraiment extrême.

À ce stade de notre travail nous ne pouvons tirer des conclusions en ce qui concerne l'implication, de l'allèle T, et la survenue, d'un cancer de pancréas, et/ou la localisation de l'atteinte, au niveau de l'organe, en question, comme rapporté dans la littérature.

Les travaux doivent se poursuivre; il nous apparait intéressant d'élargir l'échantillon, en étudiant ce polymorphisme avec d'autres facteurs génétiques et non génétiques, pour qu'on puisse élucider l'étiologie de ces complexes pathologies.

Mots clés : Cancer du pancréas, *MTHFR*, Polymorphisme

Summary

Our study on patients with pancreatic cancer has revealed the non-involvement of the T allele in the development of pancreatic cancer.

The results of our study show that the homozygous mutant genotype TT corresponds to a frequency of 23.53% in cancer patients, and 11.76% in controls; and the T allele has a frequency of 38.24% in cancer patients; whereas in controls, its frequency is 35.29%.

In all studies of sufficient size to lend itself to this type of analysis, the *MTHFR* C677T mutation is linked to pancreatic cancer irrespective of other risk factors. This does not mean, as far as the *MTHFR* C677T mutation, is not correlated to some of these factors. For example, as some studies suggest, the C677T mutation is more common in the elderly and in males exposed to tobacco, and it has a north south gradient over the globe, that is to say where the psychosocial stress of modern life, is really extreme.

At this stage of our work we cannot draw conclusions regarding the implication of the T allele and the occurrence of a cancer of the pancreas, and / or location of the interference, at the organ in question, as reported in the literature.

Work must continue; it seems interesting to us to increase the sample by studying this polymorphism with other genetic and non-genetic factors, so we can clarify the etiology of these complex diseases.

Key words: Pancreatic cancer, *MTHFR*, Polymorphism

إن دراستنا على المرضى الذين يعانون من سرطان البنكرياس، قد كشفت عدم تورط الأليل T في الإصابة بهذا النوع من السرطان البنكرياس.

نتائج الدراسة تظهر أن لدينا طفرة لمتماثل النمط الجيني TT يتوافق مع تردد 23.53% عند مرضى السرطان، و11.76% عند الشهود؛ والأليل T لديه تردد 38.24% عند مرضى السرطان؛ في حين أن تردده عند الشهود هو 35.29%.

في جميع الدراسات ذات حجم كاف لتكون مناسبة لهذا النوع من التحليل، الطفرة C677T في *MTHFR* مرتبطة بسرطان البنكرياس بشكل مستقل عن عوامل الخطر الأخرى. هذا لا يعني، أن الطفرة C677T في *MTHFR*، ليست مرتبطة ببعض هذه العوامل. على سبيل المثال، كما تشير بعض الدراسات، أن الطفرة C677T هي أكثر شيوعاً عند كبار السن والذكور المدخنون، وتمثل تدرج شمال جنوب في جميع أنحاء العالم، أي أين يتواجد بكثرة الإجهاد النفسي للحياة الحديثة.

إن بحثنا هذا لا يمكننا من استخلاص استنتاجات بشأن الآثار المترتبة عن تواجد الأليل T وحدث سرطان البنكرياس، و / أو مكان الإصابة، على مستوى العضو، كما ورد في بعض الأبحاث

يجب مواصلة العمل؛ مع وجوب تكبير العينة من خلال دراسة هذا التعدد مع عوامل أخرى وراثية و غير وراثية، حتى نتمكن من إلقاء الضوء على مسببات هذه الأمراض المعقدة.

كلمات مفتاحية: سرطان البنكرياس ، *MTHFR*، متغير جيني

Introduction

Le cancer est une maladie caractérisée par la prolifération incontrôlée de cellules, liée à un échappement aux mécanismes de régulation qui assure le développement harmonieux de l'organisme.

L'apparition d'une cellule cancéreuse est liée à l'accumulation d'anomalies dans son ADN (son patrimoine génétique): elle subit des mutations. Son comportement anormal est dû au dérèglement de certains de ses gènes. L'étude génétique des cellules cancéreuses confirme que leur ADN est endommagé en plusieurs endroits, mais l'emplacement des mutations sur l'ADN -donc les gènes touchés- varie d'un malade à l'autre.

La maladie est décrite depuis l'Antiquité. C'est le médecin grec Hippocrate qui, en comparant les tumeurs à un crabe, leur a donné pour la première fois les noms grecs de « karkinos » et « karkinoma ». La comparaison est justifiée par l'aspect de certaines tumeurs, dont les prolongements rappellent les pattes de l'animal.

Longtemps, le cancer a été considéré comme incurable. Aujourd'hui, nombre de cancers sont guéris ou vécus comme des maladies chroniques. Pourtant, lorsqu'il est écrit au singulier, le mot garde une charge symbolique puissante, associée à des évocations particulièrement sombres. Une description de notre compréhension actuelle des cancers, sur le plan médical et biologique, invite à dépasser cette représentation.

Le mot cancer désigne en fait un groupe de maladies très différentes les unes des autres. C'est pourquoi on ne devrait pas parler du cancer, mais des cancers, au pluriel.

Une première façon de les classer consiste à désigner l'endroit du corps où la tumeur se forme: le poumon, le sein, la peau, ou le pancréas par exemple.

Une autre manière, plus fine, fait appel aux différents types de tissu qui constituent le corps humain.

Avec les progrès de la recherche biologique et médicale, la classification des cancers s'est encore complexifiée. Pour une même localisation, les tumeurs affichent en effet, d'un malade à l'autre, des caractéristiques et des comportements différents : certains cancers du sein sont

sensibles au traitement par des hormones, d'autres non ; la chimiothérapie est plus efficace sur certains cancers du poumon que sur d'autres, etc.

Pour lutter contre la maladie et prévoir son évolution, il est très important de savoir de quel type de cancer il s'agit.

Près de 20 000 personnes meurent du cancer chaque année [1]. En Algérie, on assiste à une véritable transition épidémiologique marquée par l'amorce de la transition démographique, l'augmentation de l'espérance de vie des personnes âgées, la transformation de l'environnement et les changements de mode de vie, avec le tabagisme en recrudescence épidémique. Avec le poids des maladies infectieuses qui demeure encore élevées, les maladies chroniques et non transmissibles prennent une place grandissante, et constituent actuellement des problèmes majeurs de santé publique.

30 000 nouveaux cas de cancer, en Algérie sont diagnostiqués chaque année, avec une augmentation de 50% du nombre de cas entre 1986 et 2000. Près de 20 000 personnes meurent du cancer chaque année [1].

L'OMS qui fait de la lutte contre le cancer une de ses principales préoccupations, a, dans ce contexte, plaidé auprès des agences et donateurs internationaux pour un accroissement des financements pour soutenir les programmes de recherche et de prévention pour, du moins, contenir le développement de cette maladie. L'Algérie accorde à cette démarche toute l'importance nécessaire afin d'offrir à ses malades les meilleures conditions de suivi et de traitement en multipliant les centres anti-cancer à travers le pays.

Des unités de radiothérapie et d'oncologie dotées d'équipements modernes, notamment des scanners de dernière génération, d'IRM (imagerie par résonance magnétique), ainsi que le réaménagement des laboratoires d'anatomie pathologique.

Ces nouvelles structures, dont la plupart sont opérationnelles, ont été créées pour renforcer les centres anti-cancer, inscrits dans le cadre du plan national de lutte contre cette pathologie qui bénéficie d'un budget global 24,9 milliards de dinars.

Mais malheureusement, notre politique nationale de lutte contre le cancer, reste sans écho sur le terrain, face à des esprits qui témoignent de l'absence totale de la conscience professionnelle, à un point où, si un dossier d'un patient existe, il est toujours incomplet.

Il s'agit d'une constatation, d'un état de fait, qui demande, à être amélioré.

Lors du commencement de ce travail, en 2014, il était, déjà connu que l'inhibition du gène de la méthylène tétrahydrofolate réductase (*MTHFR*) par les ARN antisens, est capable de réduire la survie des cellules cancéreuses in vitro et in vivo [2].

Ainsi que différentes études ont démontré l'implication du polymorphisme C677T de la *MTHFR* dans la survenue de différentes pathologies, y compris le cancer du pancréas [3,4].

Pour ces raisons, et dans ce contexte, Lors de Commencement de ce travail, en 2014, on a opté pour la réalisation de deux types d'Observation une:

- rétrospective sur le cancer de pancréas, depuis juin 2014 jusqu'à 2012.
- Et une autre transversale Cas-témoins, dont les objectifs sont :
 - ✓ Réaliser l'étude moléculaire du gène *MTHFR* sur notre population de cancéreux et témoins supposés sains.
 - ✓ Établir la fréquence du polymorphisme *MTHFR* au sein de la population de patients présentant un cancer du pancréas de l'est Algérien.
 - ✓ Rechercher la relation entre le polymorphisme du gène *MTHFR* (C677T) et la survenue d'un cancer du pancréas.

1. Pancréas

1.1. Définition :

Le cancer du pancréas est une tumeur maligne [5]. Une croissance rapide et incontrôlée d'une cellule pancréatique endommagée (anormale) peut donner naissance à une tumeur, elle se développe le plus souvent du pancréas exocrine sous la forme d'un adénocarcinome (cancer du tissu glandulaire), plus rarement du pancréas endocrine (cellules β de langerhans qui secrètent l'insuline), sous la forme d'un insulinome [6].

La forme la plus courante et la plus mortelle (>85% des cas) [7], se situe dans le pancréas exocrine, qui est représentée par l'adénocarcinome pancréatique canalaire ou PDAC (Pancreatic Ductal AdenoCarcinoma) [7]. Les autres tumeurs malignes étant représentées par les cancers acinaires, le carcinome endocrine, les lymphomes, les métastases (rein, sein, poumon, mélanome) [8].

1.2. Symptômes :

En général, le cancer du pancréas se développe discrètement [5], lorsque la tumeur progresse elle provoque les symptômes suivants :

- **Des douleurs abdominales**, en particulier la nuit et en position allongée, qui peuvent également se traduire par des douleurs du dos. Ces dernières sont plus fréquentes lorsque le cancer touche la queue du pancréas (à l'opposé de l'intestin grêle).
- **L'Ictère et des démangeaisons**. Lorsque la tumeur se situe dans la tête du pancréas, celle-ci comprime le canal qui évacue la bile et gêne son passage vers l'intestin. La bile s'accumule et le patient a les yeux et le teint jaunâtre, ses selles sont pâles et ses urines foncées, et il se gratte sur tout le corps.
- **Une Perte de poids** (amaigrissement) massive et rapide, sans cause identifiable
- **Une Anorexie**, avec des nausées et des vomissements
- **Une Asthénie générale** ;
- une sensation permanente d'**Estomac plein**.

Chez les personnes diabétiques, le cancer du pancréas peut se manifester par une aggravation subite de leur diabète [9].

Tableau 01 : La fréquence des symptômes par rapport aux différentes parties du pancréas [10]

	Tête	Corps/queue
Amaigrissement	90%	100%
Hépatomégalie cholestatique	85%	Rare
Ictère	80%	7%
Douleurs (épigastrique)	70%	90%
Nausées	40%	40%
Asthénie	35%	45%
Urines foncées et selles décolorées	65%	Rare
Prurit	25%	Rare
Grosse vésicule à la palpation	30%	Rare
Masse palpable épigastrique	15%	25%

1.3. Epidémiologie :

Les cancers constituent à l'échelle planétaire un problème majeur de santé publique, en effet, on prévoit une augmentation de 45% du nombre de décès par cancer dans le monde entre 2007 et 2030 (de 7,9 à 11,5 millions) [11].

En Algérie, selon le registre des tumeurs d'Alger, l'incidence est estimée à 3.2/105 habitants, pour l'homme et 1.7/105 habitants pour les femmes [12].

Le cancer pancréatique représente la cinquième cause de décès par cancer dans les pays occidentaux [13], et son incidence est plus élevée chez les hommes que chez les femmes (avec un sex-ratio égal à 2. Le pic d'incidence du cancer du pancréas est à la 7ème décade : 2 /3 des cas sont diagnostiqués après 65ans [12]. Il est rare avant 50 ans (moins de 5% des cas) [14].

Dans le monde le cancer du pancréas exocrine représente 2% de l'ensemble des cancers, soit 140 000 nouveaux cas par an. Les variations de l'incidence sont peu marquées dans le monde. Ce cancer est rare en Afrique, au Moyen-Orient, et en Inde. Les taux d'incidence les plus élevés sont observés en Amérique du Nord (8 nouveaux cas par an pour 100 000 hommes, et

5 pour 100 000 femmes), et en Europe du Nord ; dans ces régions les cancers du pancréas représentent 3% de l'ensemble des cancers. Les taux d'incidence standardisés à l'Europe sont de 6,5 pour 100 000 hommes, et de 3,4 pour 100 000 femmes [14].

Tableau 02 : Classement de l'incidence selon le cancer digestif en Algérie [15]

Type de cancer	Localisation
Cancer colorectal	44%
Cancer de l'estomac	26%
Hépatocarcinome	12%
Cancer du pancréas	7%
Cancer des voies biliaires	5%
Cancer l'œsophage	4%
Autres	3%

1.4. Physiologie :

1.4.1. Anatomie :

Le pancréas est un organe plat de l'abdomen situé derrière l'estomac [5]. Plus précisément à l'une des extrémités, il est entouré du duodénum (partie supérieure de l'intestin grêle), à l'autre extrémité il tend vers la rate [16]. C'est une glande jaunâtre d'environ 15 cm de long, de 5cm de large et de 2 à 3 cm de diamètre [17]. Il est composé de trois parties :

- Tête qui repose à l'intérieur de la concavité du duodénum ;
- Un corps se trouvant derrière le fond de l'estomac
- Une queue qui se termine en butée contre la rate [18].

Le pancréas à deux conduits extérieurs : l'un, principal, l'autre est accessoire.

- Conduit principal (canal de Wirsung) : ce conduit parcourt la glande d'une extrémité à l'autre, il commence à l'extrémité gauche ou queue et parcourt le corps du pancréas à peu près suivant son grand axe. Il traverse la tête du pancréas ensuite la paroi duodénale ou il est accolé au conduit cholédoque.
- Conduit accessoire (canal de Santorini) : ce conduit traverse la partie supérieure de la tête du pancréas et s'étend du coude formé par le conduit principal dans l'incisure de la glande, au sommet de la papille duodénale mineuse de la partie descendante [19].

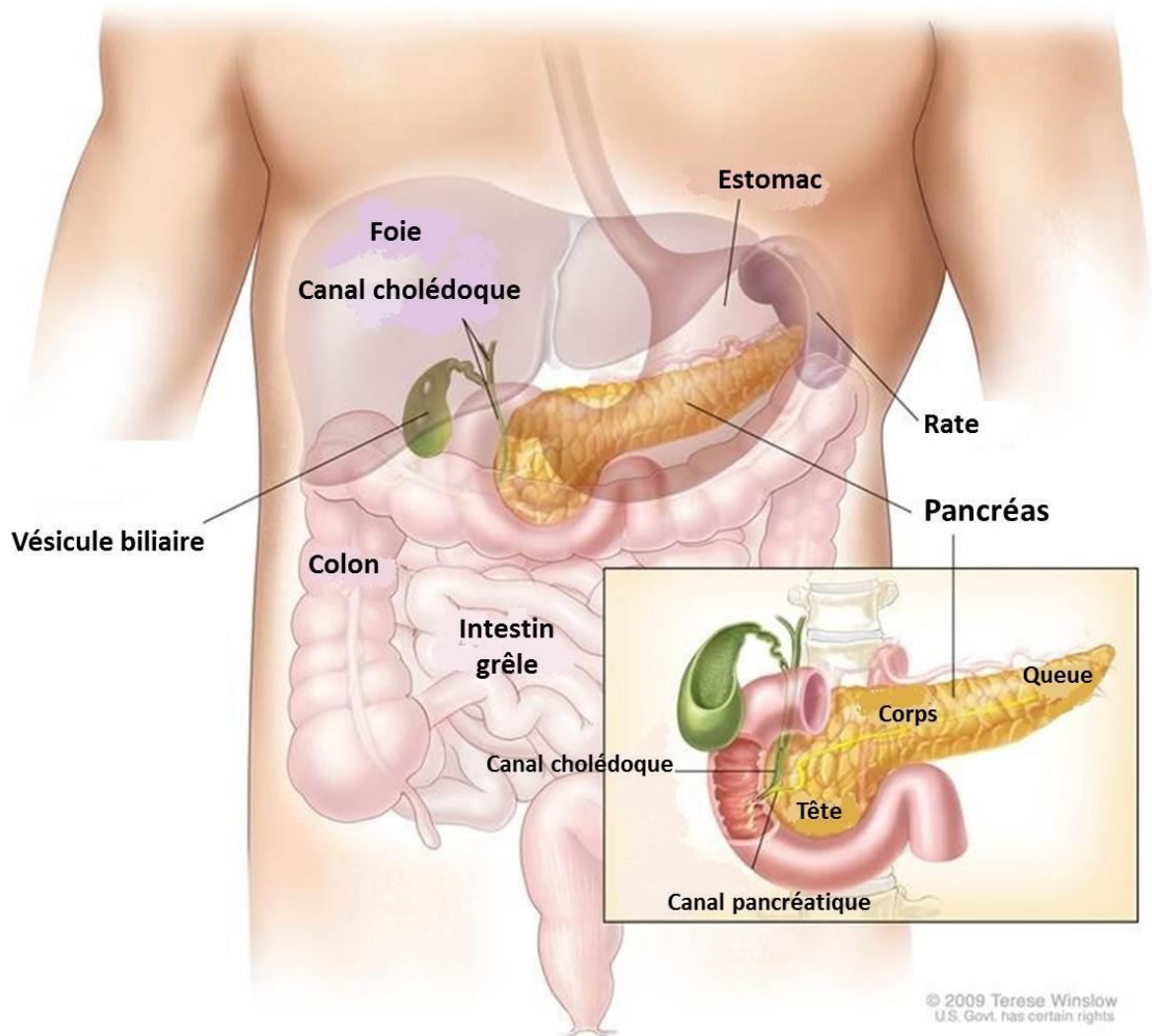


Figure 1 : Anatomie et situation du pancréas chez l'Homme [20]

1.4.2. Histologie :

Le pancréas est une glande qui comporte deux parties distinctes tant au niveau anatomique que fonctionnel :

- Une partie exocrine
- Une partie endocrine [21].

❖ Le pancréas exocrine :

Représente en volume plus de 90% de l'organe, est composé de deux types cellulaires : les cellules acineuses et les cellules canalaire.

Les **cellules acineuses** sont des cellules épithéliales organisées en acinus. Ces cellules sont spécialisées dans l'élaboration des enzymes digestives.

Les **cellules canalaire** : Ces dernières ont pour fonction de collecter et faciliter le transport des enzymes au travers des différents canaux exocrines [22].

❖ **Le pancréas endocrine :**

La partie endocrine ne représente que 1% du pancréas (en nombre de cellules et en masse) et constituée d'environ un million d'amas de cellules [23], appelées les îlots de Langerhans qui comportent quatre type de cellules :

- cellules alpha α : sécrètent le glucagon (augmentation de glucose dans le sang) .
- cellules bêta β :sécrètent l'insuline (diminution du glucose dans le sang) .
- cellules delta δ : sécrètent la somatostatine (régleme / arrêts cellules α et β) .
- les cellules PP , ou γ (gamma cellules), sécrètent le polypeptide pancréatique qui appartient a la famille des peptides de régulation il est composé de 36 acides aminés son rôle principale semble être un mécanisme d'inhibition de la sécrétion pancréatique exocrine stimulée par la trypsine et la bilirubine [24].

1.4.3. Fonction :

La fonction du pancréas exocrine est la sécrétion d'enzymes responsables de la dégradation des aliments en éléments simples, participant activement au processus de digestion ; elle comporte quatre grandes familles :

1. Les protéases (trypsine, chymotrypsine, carboxypeptidase).
2. Les enzymes glycolytiques (amylase, maltase).
3. Les enzymes lipolytiques (triglycérides lipase, carboxyle ester hydrolase.)
4. Les nucléases (DNAse, RNAse).

On appelle suc pancréatique le mélange des enzymes pancréatiques c'est une solution aqueuse contenant des électrolytes, des bicarbonates et des protéines produite principalement par les cellules canalaire [25 ,26].

La fonction du pancréas endocrine est assurée par les îlots de Langerhans. Ces îlots, dispersés au sein du pancréas exocrine, sont constitués de 4 types cellulaires impliqués dans la sécrétion d'hormones dans la circulation sanguine.

Les cellules α et β régulent le métabolisme du glucose grâce à la production de glucagon et d'insuline respectivement. La somatostatine produite par les cellules δ permet la contraction de la vésicule biliaire, augmente la mobilité intestinale et inhibe la sécrétion de l'insuline et du

glucagon. Le polypeptide pancréatique produit par les cellules PP régule les propriétés sécrétoires des autres types cellulaires présents dans le pancréas [21,22].

1.5. Classification TNM (Tumor, Nod, Metastasis):

Les cliniciens utilisent le stade pour décrire l'étendue du cancer et le pronostic du patient. La classification TNM est couramment utilisée. La combinaison de (T) taille de la tumeur, (N) atteinte des ganglions lymphatiques (nod en anglais) et (M) métastase ou propagation du cancer à un autre organe du corps [27].

Tableau 03 : Illustration de la classification TNM [28]

CLASSIFICATION TNM (AJCC, UICC 2010, 7ème édition) ET STADES du cancer pancréatique
Tumeur primitive (T) :
TX Tumeur non évaluable.
Tis Carcinome in situ.
T1 Tumeur limitée au pancréas, inférieure ou égale à 2 cm dans son plus grand diamètre.
T2 Tumeur limitée au pancréas, supérieure à 2 cm dans son plus grand diamètre.
T3 Tumeur étendue à l'un des organes suivants : duodénum, voie biliaire principale, tissu péri- pancréatique mais sans envahissement du tronc cœliaque, de l'artère mésentérique supérieure.
T4 Tumeur étendue au tronc cœliaque ou à l'artère mésentérique supérieure (tumeur primitive non résécable).
Ganglions régionaux (N) :
NX Renseignements insuffisants pour classer les adénopathies régionales.
N0 Pas de métastase ganglionnaire régionale.
N1 Envahissement des ganglions lymphatiques régionaux.
Métastases viscérales (M) :
MX Métastases non évaluables.
M0 Pas de métastase.
M1 Présence de métastase(s) à distance.
L'analyse histopathologique de la pièce opératoire doit porter sur l'examen d'au moins 10 ganglions et l'étude des marges. Si les marges de résection sont saines, la résection est classée R0; si les marges de résection sont envahies, la résection est classée R1.
Les Stades :
Stade 0 Tis N0 M0.
Stade IA T1 N0 M0.
Stade IB T2 N0 M0.
Stade IIA T3 N0 M0.
Stade IIB T1-3 N1M0.
Stade III T4 tout N M0.
Stade IV M1 quel que soit T et N.

1.6. Facteurs de risque :

Parmi les facteurs de risques les plus redoutables, cité par la littérature, on trouve en premier lieu le tabac [5].

➤ **Le Tabagisme :**

Multiplie par 3 le risque de survenue de ce type de cancer chez les fumeurs [29,30].

➤ **L'Âge :**

différentes études, ont démontré que le risque de contracter un cancer pancréatique augmente avec l'âge. Plus de 80% des cas font partie de la tranche d'âge de 60 à 80 [29].

➤ **Le Sexe :**

Le cancer du pancréas est plus fréquent chez les hommes que chez les femmes [29].

➤ **L'Alcool :**

Une consommation excessive et régulière d'alcool augmenterait le risque de cancer du pancréas, en favorisant le développement d'une inflammation chronique locale appelée pancréatite [31].

➤ **L'Ethnie:**

Des études aux États-Unis ont montré que le cancer du pancréas est plus fréquent dans la population afro-américaine que dans la population blanche. Une partie de cette augmentation du risque peut être due à des facteurs socio-économiques [29].

➤ **L'Obésité :**

La surcharge pondérale est associée à une augmentation de risque du cancer pancréatique. Pour un accroissement de l'IMC (Indice de Masse Corporel) de 5 kg/m², l'augmentation de risque de cancer pancréatique est estimée à environ 14 %, un défaut d'exercice physique est corrélé à une augmentation d'incidence de l'adénocarcinome pancréatique [31].

➤ **L'Alimentation :**

Une alimentation riche en graisses animales et pauvre en fibres augmenterait modérément le risque d'avoir un cancer du pancréas ; à l'inverse, une consommation importante de fruits, de légumes et de vitamine C a un effet préventif [30].

➤ **Les Bactéries :**

Une étude américaine a révélé que, des bactéries de la flore buccale, dont certaines sont retrouvées dans les maladies parodontales, seraient associées au développement de cancers du pancréas et de la pancréatite chronique [32].

➤ **Le Diabète :**

Au moment du diagnostic de cancer du pancréas, un diabète est présent chez 40 à 60% des patients. Les chercheurs se demandent donc s'il existe un lien entre les deux maladies, et si le diabète est une cause ou une conséquence de cancer du pancréas. Actuellement, les données sont insuffisantes pour conclure, mais le diabète est un facteur de risque de cancer du pancréas [33].

➤ **La Pancréatite chronique :**

La pancréatite chronique est une inflammation douloureuse du pancréas. Ayant une pancréatite pendant une longue période peut augmenter le risque de cancer du pancréas [34].

➤ **Facteurs environnementales :**

❖ **L'Irradiation :**

Des études ont montré une association positive entre l'exposition aux rayons X et rayonnements γ et le cancer du pancréas [31].

❖ **Autres sources d'exposition :**

Divers facteurs d'expositions sont suspectés de jouer un rôle dans la survenue de cancer du pancréas exocrine, tels que des solvants, des métaux comme le nickel ou le chrome, la silice ou des insecticides organochlorés, ou encore l'amiante.

Le rôle des amines aromatiques a également été suggéré à travers les risques associés au tabac, à la consommation de viande, et à certaines expositions professionnelles [31].

➤ **Facteurs génétiques :**

Les formes familiales sont rares. Elles expliquent environ 5 % des cancers du pancréas.

❖ **Antécédents familiaux :**

Pour les sujets apparentés au premier degré (parents, frères et sœurs, enfants) d'un patient atteint de cancer du pancréas, le risque est faiblement augmenté (multiplié par 2). Dans le cas où il y a plusieurs cas de cancers du pancréas dans une même famille on parle « d'agrégation », le risque pour les apparentés est alors plus important [30].

1.7. Types de cancer :

Les cancers du pancréas sont regroupés en deux types des cellules .chaque type de cellule peut donner lieu à un type différent de tumeur [17]. Ces tumeurs du pancréas peuvent être

bénignes ou malignes, solides ou kystiques développée à partir du tissu exocrine ou endocrine [35].

Tableau 04 : Les différents types du cancer pancréatique exocrine [25]

	Types de cancer	Symptômes	Localisation des tumeurs	Potentiel tumorigène
E X O C R I N E	Adénocarcinome canalaire	Douleurs abdominales, ictère, anorexie, dépression, altération de l'état général	Ensemble du pancréas	Très souvent malignes et métastatiques
	Cystadénocarcinome mucineux ou séreux	Douleurs abdominales et dorsales, vomissements, diarrhées	Ensemble du pancréas	Très souvent malignes et métastatiques
	Tumeurs acinaires	Douleurs abdominales, jaunisse, perte de poids, anémie, diarrhées	Ensemble du pancréas	Variable
	Tumeurs pseudopapillaires et kystiques	Douleurs abdominales et dorsales, perte de poids	Ensemble du pancréas	Variable
	Tumeur intra-canalaire papillaire et mucineuse (TIPMP)	Douleurs abdominales, nausées, vomissements, perte de poids, jaunisse	Principalement dans la tête du pancréas	Variable
	Carcinome épidermoïde	Douleurs abdominales et dorsales, fatigue, douleurs abdominales, nausées, vomissements	Ensemble du pancréas	Variable
	Pancréatoblastome	Douleurs abdominales, nausées, vomissements	Principalement dans la tête du pancréas	Généralement bénignes

Tableau 05 : Les différents types du cancer pancréatique endocrine [25]

	Types de cancer	Peptide sécrété	Symptômes	Localisation des tumeurs	Potentiel tumorigène
E N D O C R I N E	Gastrinome	Hypersécrétion de gastrine	Ulcères, douleurs abdominales, diarrhées, perte de poids, vomissements	Tête du pancréas, duodénum	Très souvent malignes
	Glucagonome	Hypersécrétion de glucagon	Eruption cutanée, diabète, dépression, confusion	Corps, queue du pancréas	Variable
	Insulinome	Hypersécrétion d'insuline	Hypoglycémie, confusion, tremblements, céphalées	Ensemble du pancréas	Généralement bénignes
	Néoplasie Endocrinienne Multiple (NEM) ou syndrome de Wermer	Hypersécrétion d'un ou plusieurs peptides pancréatiques	Fatigue, faiblesse ou douleur musculaire, constipation, calculs rénaux, ostéoporose précoce	Ensemble du pancréas, Glandes parathyroïdes	Peuvent être malignes dans le pancréas
	Somatostatine	Hypersécrétion de somatostatine	Diabète, douleurs abdominales, diarrhées, ballonnements, lithiase biliaire, perte de poids	Ensemble du pancréas, ampoule de Vater	Variable
	VIPome	Hypersécrétion de VIP	Diarrhée, perte de poids, hypokaliémie, vomissements, douleurs abdominales	Corps, queue du pancréas	Généralement malignes
	Tumeur endocrine non fonctionnelle	Hypersécrétion d'un ou plusieurs peptides pancréatiques	Douleurs abdominales, altération de l'état général	Ensemble du pancréas	Très souvent malignes et métastatiques

Tableau 06 : Classification et origine des divers types de tumeurs du pancréas [17]

Tissu d'origine	Type de tumeur	Comportement biologique		
		Bénin	Intermédiaire	malin
Cellules exocrines	Adénocarcinome canalaire			X
	Cystadénome séreux		X	
	Cystadénocarcinome séreux			X
	Cystadénome mucineux	X		
	Adénome séreux microcystique	X		
	Carcinome des cellules acinaires			X
	Tumeur intracanaulaire papillaire et mucineuse		X	
	Tumeur neuro-endocrine			X
Cellules endocrines	Insulinome		X	
	Gastrinome		X	
	Glucagonome		X	
	Vipome		X	
	Nésideioblastose		X	

1.7.1. Le cancer du pancréas exocrine :

Environ 95 % des cancers du pancréas se développent à partir de cellules glandulaires exocrines. Cette forme porte le nom d'adénocarcinome canalaire ou pancréatique [16].

L'adénocarcinome canalaire pancréatique ou PDAC est la tumeur du pancréas exocrine la plus fréquente environ 80% et la plus grave [25,36].

D'autres tumeurs du pancréas exocrines existent mais sont beaucoup plus rares que le PDAC. Ce sont des tumeurs micro ou macro-kystiques et sont diagnostiquées par imagerie. Parmi elles, on retrouve l'adénome séreux (micro-kystique) considéré comme bénin et les adénomes macro-kystiques comme le cystadénome et cystadénocarcinome mucineux qui peuvent dégénérer [18].

1.7.2. Le cancer du pancréas endocrine :

Environ 5% des cancers du pancréas se développent à partir de cellules endocrine. Cette forme de cancer porte le nom de tumeur ou carcinome endocrine du pancréas [37].

Parmi ces tumeurs on trouve :

- Des tumeurs fonctionnelles. Ce type de tumeur est découvert en raison des effets provoqués par les hormones sécrétés par la tumeur (Insulinome, Gastrinome, Glucagonome,

VIPome «Vasoactive Intestinal Peptidome », Somatostatine). Les symptômes provoqués par ces types de tumeurs sont souvent caractéristiques.

- Des tumeurs non-fonctionnelles. Ce type de tumeur est en général découvert suite de la croissance de la tumeur (effet de masse, perte de poids, douleurs abdominales). Les tumeurs endocrines peuvent être bénignes. Sinon, le degré d'agressivité est déterminé par l'examen au microscope. Le pronostic dépend aussi du bilan d'extension de la tumeur [38].

1.8. Physiopathologie du cancer du pancréas :

Certaines altérations génétiques du cancer du pancréas sont bien caractérisées. Ainsi, la progression vers le cancer invasif se fait à partir de néoplasies pancréatiques épithéliales (en anglais Pancreatic Intraepithelial Neoplasia : PanIN). Les lésions les plus précoces (PanIN-1A et 1-B) sont caractérisées par l'allongement des cellules ductulaires avec une production de mucine en abondance puis la survenue d'anomalies nucléaires modérées (PanIN-2) et plus sévères avec des mitoses anormales caractérisant le carcinome in situ (PanIN-3). Au fur et à mesure que les atypies progressent la fréquence des altérations génétiques augmente [39].

Les cellules cancéreuses peuvent diffuser dans d'autres parties de l'organisme ou elles vont s'installer et se multiplier, c'est ce qu'on appelle les métastases [5,9].

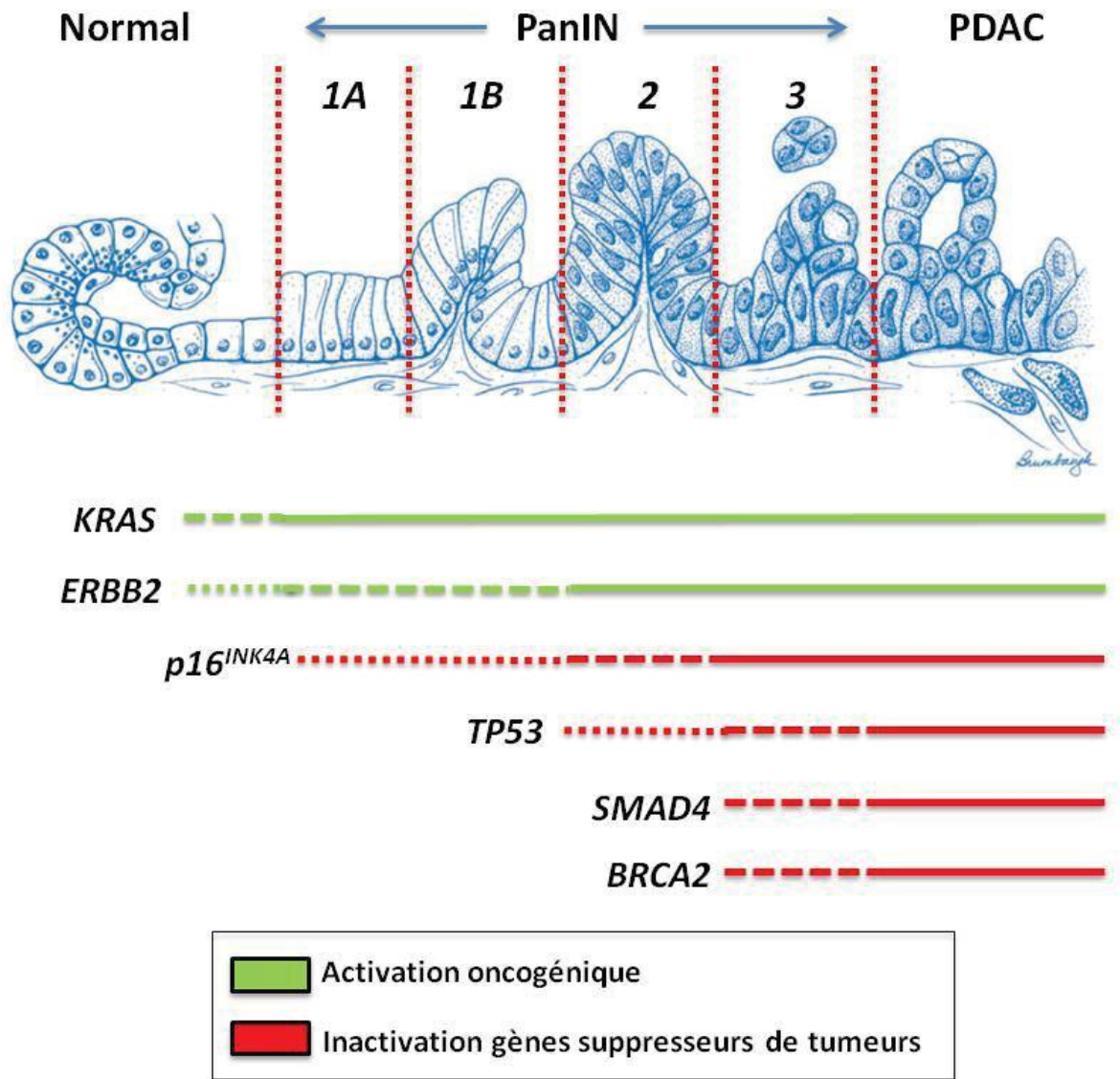


Figure 02 : Altérations Génétiques associées à la progression tumorale de l'Adénocarcinome du Pancréas. L'adénocarcinome du pancréas (PDAC) se développe à partir de lésions dysplasiques des canaux exocrines de grade croissant (PanINs). Ces lésions sont associées à des activations oncogéniques (*KRAS*, *ERBB2*) dans les stades précoces puis à des mutations inactivatrices de gènes suppresseurs de tumeurs (*P16INK4A*, *TP53*, *SMAD4*, *BRCA2*) dans les stades plus avancés [22].

2. Biologie moléculaire et cancer du pancréas :

2.1. Les oncogènes :

➤ ***K-Ras* (Kirsten Rat Sarcoma):**

La présence de la mutation activatrice de *K-Ras* permet l'activation constitutive de cet oncogène qui favorise le développement de tumeurs par les signaux de croissance et de survie cellulaire [36]. Le gène *Kirsten-Ras* est situé sur le chromosome 12p12, il code pour une petite protéine composée de 118 acides aminés de 21 kilo daltons, P21-Ras localisée au contact de la membrane cytoplasmique interne elle appartient à la famille des petites protéines G ; celles-ci possèdent une activité GTPasique correspondant à leur capacité de lier les nucléotides guanyliques GTP et GDP. P21-Ras se présente ainsi sous deux formes, une active liée au GTP et l'autre inactive liée au GDP, elle joue un rôle primordial dans la régulation de la transduction du signal prolifératif induit par les facteurs de croissances [40]. L'activation de l'oncogène *K-Ras* est la mutation la plus fréquemment détectée dans les cancers pancréatiques (90 à 95% des cas). Ces mutations activatrices sont également retrouvées respectivement dans environ 30%, 40% et 90% des lésions pré-cancéreuses PanIN-1A, 1B et PanIN-2/3 [25]. La mutation de cet oncogène porte majoritairement sur le codon 12 (une minorité de tumeurs présentent des mutations atteignant le codon 13) avec remplacement de la séquence GGT codant pour la glycine par une autre séquence nucléotidique, habituellement GAT codant pour l'acide aspartique ou GTT codant pour la valine, plus rarement CGT codant pour l'arginine. Cette mutation s'accompagne d'un changement conformationnel de P21-Ras aboutissant au maintien de cette protéine sous une forme activée en permanence, liée au GTP [40].

➤ ***ERBB2* :**

La protéine *ERBB2* code pour un récepteur des facteurs de croissance de type tyrosine kinase et son activation induit la prolifération cellulaire. Elle est donc considérée comme un puissant oncogène. La surexpression de l'oncogène *ERBB2* est l'un des événements les plus précoces du processus de cancérisation pancréatique. Elle est détectée dans 82 % des PanIN-1A et dans 100 % des PanIN-3 [41].

**ERBB2:HER2* (Human Epidermal growth factor Receptor 2): *Neu*.

2.2. Gènes suppresseurs de tumeur :

➤ ***P53* (Protéine 53) :**

Le gène *P53* code pour un facteur de transcription (phosphoprotéine nucléaire de 53 kDa : *P53*) qui joue un rôle essentiel dans la régulation du cycle cellulaire. Il est localisé sur le chromosome 17p13 [40]. La *P53* est impliquée dans de nombreux processus comme l'arrêt du cycle cellulaire, l'apoptose, la sénescence, la réparation de l'ADN ou encore le métabolisme cellulaire [22]. La perte de fonction de *P53* durant la carcinogenèse conduit donc à une croissance inappropriée des cellules, une augmentation de la survie cellulaire et une instabilité génétique. Plus de 50% des adénocarcinomes pancréatiques présentent des mutations du gène *TP53*. Elles apparaissent dans les stades tardifs de PanINs (PanIN-2/3) ayant déjà acquis des caractéristiques dysplasiques ce qui suggère un rôle de *P53* dans la progression des tumeurs malignes [25].

➤ ***SMAD4* (Mothers Against Decapentaplegic homolog4)/*DPC4* (Deleted in Pancreatic Carcinoma 4) :**

Le gène codant la protéine *SMAD4* (originellement appelé *DPC4*) est inactivé dans plus de 50% des PDAC. La perte d'expression de *SMAD4* est associée le plus souvent à une délétion du locus 18q21.1, contenant *SMAD4* et à une perte d'hétérozygotie. Comme cela a été décrit pour *TP53*, l'inactivation de *SMAD4* est un phénomène tardif, détectée à partir du stade PanIN3 où ce gène est délété dans 28% des PDAC. *SMAD4* est un acteur central de la voie de signalisation du *TGFβ* et est à la base du programme anti-prolifératif et proapoptotique du *TGFβ* (Transforming Growth Factor β) [22].

➤ ***INK4A/ARF* (Alternate Reading Frame) :**

Le gène suppresseur de tumeurs *INK4A* est l'un des gènes les plus fréquemment inactivés dans les cancers pancréatiques. La perte de fonction du gène est retrouvée dans approximativement 90% des cas de cancer avec 40% par délétion homozygote, 40% par mutation d'un allèle et perte du second et enfin 10 à 15% par extinction de l'expression du gène par hyperméthylation du promoteur [25]. *INK4A/ARF* code pour 2 protéines distinctes, par l'utilisation de 2 premiers exons différents et un décalage consécutif du cadre de lecture : *P16INK4A* et *P19ARF*. *INK4A* est un inhibiteur de *CDK4/6*, bloquant la phosphorylation de *Rb* (Rétinoblastome) et donc la progression du cycle cellulaire en G1/S, alors qu'*ARF* stabilise *P53* en inhibant sa dégradation par Mdm2 (Murine Double Minute2). Du fait de la

juxtaposition physique de leur séquence codante, et de la délétion fréquente du locus correspondant, on observe, dans de nombreux cancers pancréatiques, une perte d'*INK4A* et d'*ARF*. Cependant des études récentes ont montré que ces deux protéines pouvaient agir indépendamment. Des mutations héréditaires d'*INK4A* sont associées au syndrome FAMMM (Familial Atypical Mole-Malignant Melanoma), caractérisé par une forte incidence des mélanomes ainsi qu'une augmentation de 13 fois du risque des cancers pancréatiques [42].

**INK4A*: *ARF*: *MTS1* (Multiple Tumor Suppressor1):*P16*:*CDK2A* (Cycline Dependent Kinase 2 A)

2.3. Autres :

➤ ***SSTR2* (SomatoStatine Reseptor2) :**

Le récepteur *SSTR2* est un des 5 récepteurs à la somatostatine et fait partie de la famille des récepteurs couplés aux protéines G. Son expression est perdue dans 90 % des adénocarcinomes pancréatiques [43]. Dans un pancréas sain, ce récepteur se trouve sur la membrane des cellules acineuses. La somatostatine, en se fixant sur ce récepteur, inhibe les sécrétions pancréatiques et possède également un effet antiprolifératif et anti-inflammatoire, la perte d'expression de ce récepteur favorise la prolifération des cellules cancéreuses et la mise en place de l'inflammation [44].

➤ ***PTEN* (Phosphatase and TENSing homolog):**

PTEN est également un gène suppresseur de tumeur fréquemment perdu dans les cancers par mutations ou délétions. Dans les cancers pancréatiques, sa perte n'est que rarement liée à ce type d'altérations génétiques. Il a notamment été montré que la diminution de son expression était corrélée dans les cancers pancréatiques avec la surexpression du *TGFβ*, et que la surexpression de ce dernier dans des lignées cancéreuses pancréatiques humaines et dans le pancréas de souris transgéniques diminuait l'expression de *PTEN*.

Par la suite, des expériences ont démontré qu'en conditions normales, le *TGFβ* induisait l'expression de *PTEN* par une voie dépendante des Smads. L'activation de la voie Ras/Erk, au cours de la cancérogenèse pancréatique, va alors bloquer cette voie dépendante des Smads, inhibant ainsi l'expression de *PTEN*. L'activation de la voie de l'*IGF-I* (Insuline like Growth Factor 1) dans les cancers pancréatiques participe également à l'inactivation de *PTEN* en inhibant sa phosphorylation. Enfin, une hyperméthylation de son promoteur a également été observée dans les tissus humains et les lignées cancéreuses pancréatiques [42].

2.4. Facteurs de croissance :

➤ **EGF (Epidermal Growth Factor) :**

L'*EGFR* est un récepteur membranaire de la famille des récepteurs *ErbB* qui a une activité tyrosine kinase. Il est aussi appelé *Erb1/HER1*. La fixation de son ligand, à savoir *EGF*, *TGF α* ou l'amphiréguline, active 3 voies principales : la voie MAP kinase (Mitogen Activated Protein Kinase), la voie PI3kinase (PhosphoInositide 3-Kinase), et la voie STAT (Signal Transducers and Activators of Transcription) [45,46]. Au cours du cancer du pancréas, on retrouve dans 65% des cas l'amplification du gène de l'*EGFR*, alors que la mutation ponctuelle est plus rare (de l'ordre de 4%). Cette mutation se localise au niveau de 4 exons (exons 18-21). La surexpression de l'*EGFR* est rencontrée dès le stade PanIN de type 1 et dans 25 à 65 % des cas de cancer du pancréas (tout comme celle de son ligand). Dans le cystadénocarcinome mucineux, cette surexpression est mise en évidence dans 60 % des cas alors qu'elle est absente dans la forme bénigne [47].

➤ **FGF (Fibroblast Growth Factor) :**

La voie des récepteurs au fibroblast growth factor (*FGF*) est également impliquée dans la croissance tumorale et dans la progression des adénocarcinomes pancréatique. D'autres facteurs de croissance tels que le nerve growth factor (*NGF*), la gastrine ou encore la bombésine participent également à la croissance tumorale pancréatique [48,49].

2.5. Autres voies de signalisation :

➤ **Akt/kinase B :**

Codant pour une sérine-thréonine kinase impliquée dans la signalisation de la phosphatidylinositol-3 kinase ou Pi3K, est trouvé surexprimé dans 20% des tumeurs pancréatiques humaines [50]. Le degré de phosphorylation d'*Akt* dans les cellules cancéreuses pancréatiques est d'ailleurs inversement corrélé avec la survie des patients [51].

➤ **NF- κ B (Nuclear Factor-kappa B) :**

Est un facteur de transcription impliqué dans de nombreux processus physiologiques tels que l'embryogenèse, la prolifération, l'apoptose, l'invasion, l'angiogénèse, l'inflammation et la réponse immunitaire. Il semble exister une activation constitutive du facteur de transcription *NF- κ B* dans les cellules cancéreuses pancréatiques entraînant leur résistance au ligand de mort *TNF- α* et favorisant plutôt la survie des cellules au détriment de leur mort [52].

2.6. Les autres altérations :

➤ **Activité télomérase :**

Récemment, des hauts niveaux d'activité télomérase ont été retrouvés sur du tissu et du matériel de cytoponction d'adénocarcinomes pancréatiques alors que cette activité est basse voire nulle dans le tissu normal ou inflammatoire [53]. La télomérase est une ribonucléoprotéine qui assure l'élongation des télomères chromosomiques par l'ajout d'hexamères TTAGGG. L'activation de la télomérase associée à une stabilisation des télomères est une des caractéristiques classiques des cellules immortalisées. Une élévation de l'activité télomérase est en effet observée dans de nombreux cancers et participerait au développement mais surtout au maintien de la croissance tumorale [54].

➤ **Méthylation de l'ADN :**

La majeure partie des méthylations de l'ADN survient dans les îlots CpG. Ils sont fréquemment localisés près des sites de transcription des gènes. Les enzymes responsables du maintien des groupements méthyles sur l'ADN sont les DNA méthyltransférases (DNMT) dont la DNMT-1 qui est surexprimée dans approximativement 80% des cancers pancréatiques. Plusieurs gènes suppresseurs de tumeurs présentent une hyperméthylation de leur promoteur entraînant une perte de fonction. Le gène le plus touché dans le cancer du pancréas est le gène *INK4A*. Les autres gènes généralement mutés dans les PDACs, *TP53* et *SMAD4*, n'ont pas montré d'extinction épigénétique. Un phénomène de perte de méthylation, ou hypométhylation est également commun dans les PDACs. L'hypométhylation survient dans la région 5' d'un gène et est associée à la surexpression de la protéine codée par ce gène. Une des protéines le plus fréquemment surexprimée par ce phénomène est la protéine S100P qui joue un rôle important dans l'invasion tumorale en induisant des métastases. Ces phénomènes épigénétiques participent à la progression des tumeurs pancréatiques [25].

➤ **MicroARN :**

Ces dernières années, l'étude de l'expression et du rôle des microARNs ou miARNs a suscité le plus grand intérêt. Ils constituent une famille de petits ARN de 18 à 24 nucléotides, très conservés, et impliqués dans la stabilité et la régulation de la traduction des ARNm cibles. Ils jouent ainsi des rôles importants dans la différenciation cellulaire, la prolifération et l'apoptose et participe également à la tumorigenèse. Ainsi, de nombreuses études ont rapporté des altérations de leur expression dans différents cancers humains. De plus, les groupes de

miARNs sont retrouvés dans des zones du génome humain qui sont la cible de fréquentes amplifications, pertes d'hétérozygotie, ou mutations et leur rôle dans certains cancers a été mis en avant. Le miRNome du cancer du pancréas a lui aussi été très étudié dernièrement, montrant une augmentation d'expression de certains miARN comme miR-21, miR-155, miR-221 ou miR-222. L'étude des dérégulations de miARNs peut également mener à la découverte de nouveaux marqueurs moléculaires du cancer, Mais nécessite avant tout, de comprendre leur rôle exact dans la pathologie cancéreuse, leur spécificité tissulaire, ainsi que le moment de leur dérégulation au cours de la tumorigenèse. Enfin, l'expression de certains miARNs peut représenter une valeur prédictive de la survie, comme cela a été suggéré pour miR-21 et miR-196a-2 [42].

➤ **Facteur d'invasion tumorale :**

La croissance et la progression tumorale impliquent une forte capacité des cellules cancéreuses à l'invasion locale et métastatique. Dans le cancer pancréatique, le caractère invasif des cellules tumorales semble être en rapport avec l'action d'enzymes protéolytiques (Matrix MetalloProteinases ou MMP) et de molécule d'adhésion (E-cadhérine). En effet on observe dans ce cancer une augmentation de l'expression de métalloprotéinases (MMP-2, MMP-3 et MMP-9) et une diminution de l'expression de leurs inhibiteurs (TIMP-1) qui participent au modelage de la matrice extracellulaire, la perte de facteurs réduisant la mobilité et l'adhésion cellulaire (comme l'E-cadhérine ou la laminine) est corrélée au mauvais pronostic et/ou au caractère métastatique de ce cancer. L'ensemble de ces anomalies est responsable de l'acquisition d'une mobilité cellulaire et d'une activité collagénolytique favorisant la migration cellulaire. Une augmentation de la conversion du plasminogène en plasmine (via « l'urokinase plasminogen activator » uPA) permettant une dégradation de la matrice extracellulaire [55].

➤ **Angiogenèse :**

Le phénomène d'angiogenèse (formation de nouveaux capillaires sanguins à partir de vaisseaux pré-existants) est également essentiel pour amener les facteurs, les nutriments et l'oxygène indispensables à la croissance d'une tumeur solide. Cependant, la néovascularisation s'établissant de façon anarchique dans les tumeurs, les apports en oxygène et nutriments sont insuffisants. La conséquence de cette hypoxie est l'expression de facteurs de croissance inductibles par l'hypoxie (Hypoxia Inducible Factors - HIF) et la stimulation de

facteurs pro-angiogéniques comme le *VEGF* (Vascular Endothelial Growth Factor), le *PDGF* (Platelet Derived Growth Factor), l'*HGF* (Hepatocyte Growth Factor) ainsi que les *FGF* (Fibroblast Growth Factor) et leurs récepteurs. Des travaux ont d'ailleurs mis en évidence une surexpression du *VEGF* et de son récepteur dans les lignées cancéreuses pancréatiques humaines [55].

Tableau 07 : Principales altérations moléculaires au cours du cancer pancréatique [48]

Oncogènes (activation ou mutation)	
<i>k-ras</i>	75-100 %
<i>c-erb3</i>	60-70 %
<i>c-erb2 (HER/neu)</i>	10-20 %
Gènes suppresseurs de tumeur (mutation ou délétion)	
TP53	50-75 %
<i>p16/MTSI</i>	80-95 %
<i>DPC4</i>	50-55 %
<i>Rb</i>	60-70 %
Facteurs de croissance et leurs récepteurs (amplification ou mutation)	
FGF	60-90 %
FGFR	50-70 %
EGFR	25-65 %

2.7. Le cancer du pancréas familial :

On estime que de 5 à 10% des cancers du pancréas ont une histoire familiale, ils se définissent par la présence de ce type de cancer chez au moins deux parents de premier degré du patient [56]. Des mutations ont été identifiées du gène *Palladin(PALLD)* qui présente une transmission autosomale dominante et qui se situe sur la région 4q32-34 [39].

2.8. *MTHFR* et cancer du pancréas :

Les 5,10 méthylènes tétrahydrofolate réductase, plus communément appelée *MTHFR*, représente l'enzyme clé du métabolisme des folates. Elle catalyse la réduction irréversible du 5,10 méthylène tétrahydrofolate en 5 méthyl tétrahydrofolate. Ce dernier substrat constitue, d'une part, la forme biologique circulante et majeure des folates et, d'autre part, le donneur de carbone pour la reméthylation de l'acide aminé soufré « homocystéine » en acide aminé essentiel « méthionine » [57].

2.8.1. La protéine *MTHFR* :

La *MTHFR* est un dimère de 150 kDa comprenant deux isoformes de tailles variables : 77 kDa et 70 kDa. L'expression de l'ADNc humain de 2,2 kpb donne une protéine de 70 kDa comportant 656 acides aminés [58].

Le site de démarrage de la traduction de l'isoforme de 77 kDa permet l'ajout de codons additionnels en amont de la séquence de l'isoforme de 70 kDa [59].

2.8.2. Rôle de la *MTHFR* :

L'homocystéine est un acide aminé soufré formé à partir du métabolisme de la méthionine. Elle peut suivre soit une voie de transsulfuration, B6 dépendante, qui aboutit à la cystéine, soit une voie de reméthylation, B12 et folates dépendante, qui permet la transformation en retour de l'homocystéine en méthionine. Les polymorphismes génétiques particuliers liés aux enzymes du métabolisme de l'homocystéine ou plus souvent encore, à un déficit relatif des différentes vitamines du groupe B sont la principale cause de l'élévation de cet acide aminé soufré dans le sang [60]. En effet, la concentration plasmatique d'homocystéine plasmatique dépend pour une part notable du polymorphisme de la 5,10 méthylène tétrahydrofolate réductase (*MTHFR*), enzyme clé du métabolisme des folates. Cette enzyme catalyse la réduction irréversible du 5,10 méthylène tétrahydrofolate en 5 méthyl tétrahydrofolate. Ce dernier substrat constitue, d'une part, la forme biologique circulante et majeure des folates et, d'autre part, le donneur de carbone pour la reméthylation de l'homocystéine en méthionine [61].

Les folates jouent un rôle crucial dans la nutrition et dans les mécanismes épigénomiques en contribuant respectivement à la synthèse et l'échange de groupements monocarbones nécessaires à la synthèse ou la méthylation de l'ADN et de l'ARN et à la méthylation de transrégulateurs de l'expression génique. Les mécanismes épigénétiques liés aux folates sont illustrés par leurs effets sur la méthylation de l'ADN.

Le métabolisme des folates joue un rôle crucial dans certains de ces mécanismes, car il équilibre le flux des monocarbones vers la synthèse ou la méthylation de l'ADN et de l'ARN, ainsi que la méthylation des régulateurs de l'expression génique par la S-adénosyl méthionine (SAM). Dans cet équilibre métabolique, le méthyl-tétrahydrofolate (Me-THF) alimente la méthionine synthase B12-dépendante (MS) qui fonctionne au carrefour entre le cycle des folates et celui de la méthionine.

Sur le plan biochimique, les folates sont des co-enzymes impliquées dans la synthèse et l'échange de monocarbones. Ils représentent un groupe de co-enzymes inter-convertibles, qui

diffèrent par leur état d'oxydation, le nombre de fragments d'acide glutamique et les substitutions à un carbone. Le métabolisme des folates suit une régulation complexe, il participe à la synthèse de nucléotides puriques, du thymidylate et de plusieurs acides aminés. La méthionine cellulaire provient de la voie de reméthylation de l'homocystéine et de la dégradation des protéines endogènes et alimentaires.

Le déficit cellulaire en Me-THF conduit à la diminution de la synthèse de la méthionine et à l'accumulation de l'homocystéine, qui produit un stress cellulaire. L'homéostasie de la méthionine est cruciale pour la cellule, car elle est le précurseur immédiat de la SAM, le donneur de méthyle universel dans les réactions de transméthylation. Les conséquences de la carence en folates sur la concentration cellulaire de SAM, de S-adenosylhomocystéine (SAH) et sur le rapport SAM / SAH illustrent l'importance de l'acide folique dans le maintien des régulations liées aux méthylations. Une diminution du rapport SAM / SAH altère la capacité de la cellule à assurer les réactions de transméthylation de l'ADN, de l'ARN, des histones et des co-régulateurs de récepteurs nucléaires, qui jouent un rôle clé dans les mécanismes épigénétiques et épigénomiques [73].

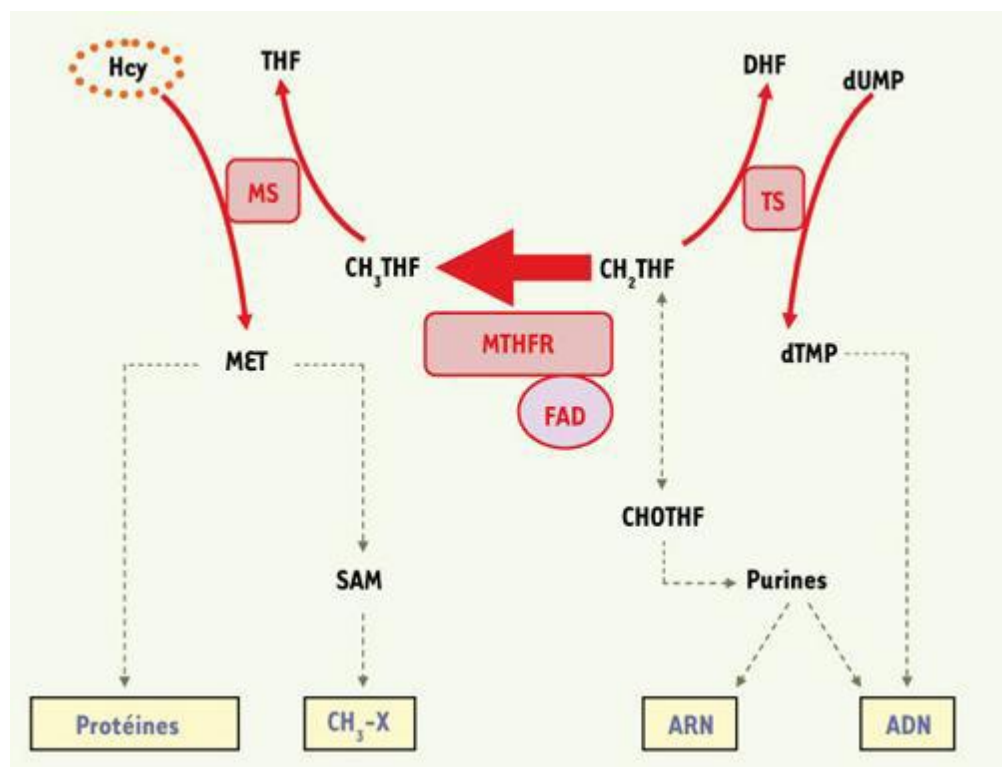


Figure 3. Répercussions métaboliques de l'activité de la *MTHFR* [62].

La 5,10-méthylène tétrahydrofolate réductase (*MTHFR*) catalyse la réduction irréversible du 5,10-méthylène tétrahydrofolate (CH₂THF) en 5-méthyltétrahydrofolate (CH₃THF).

L'activité de la *MTHFR* affecte ainsi la disponibilité du CH₂THF, ce qui influence la synthèse de l'ARN et de l'ADN. Le CH₃THF est requis pour la reméthylation de l'homocystéine (Hcy) en méthionine (MET), qui intervient elle-même dans la synthèse protéique et la méthylation de l'ADN et d'autres composés (CH₃-X). Le FAD est le cofacteur de la *MTHFR*. MS, méthionine synthase ; TS, thymidylate synthase ; THF, tétrahydrofolate ; DHF, dihydrofolate ; CHOTHF, 10-formyltétrahydrofolate ; SAM, S-adenosyl méthionine.

2.8.3 Gène de la *MTHFR* :

C'est une enzyme codée par un gène localisé sur le bras court du chromosome 1 (1p.36.3) [63]. La séquence d'ADNc a été déduite de 2,2 kb de longueur et comprenait 11 exons [64].

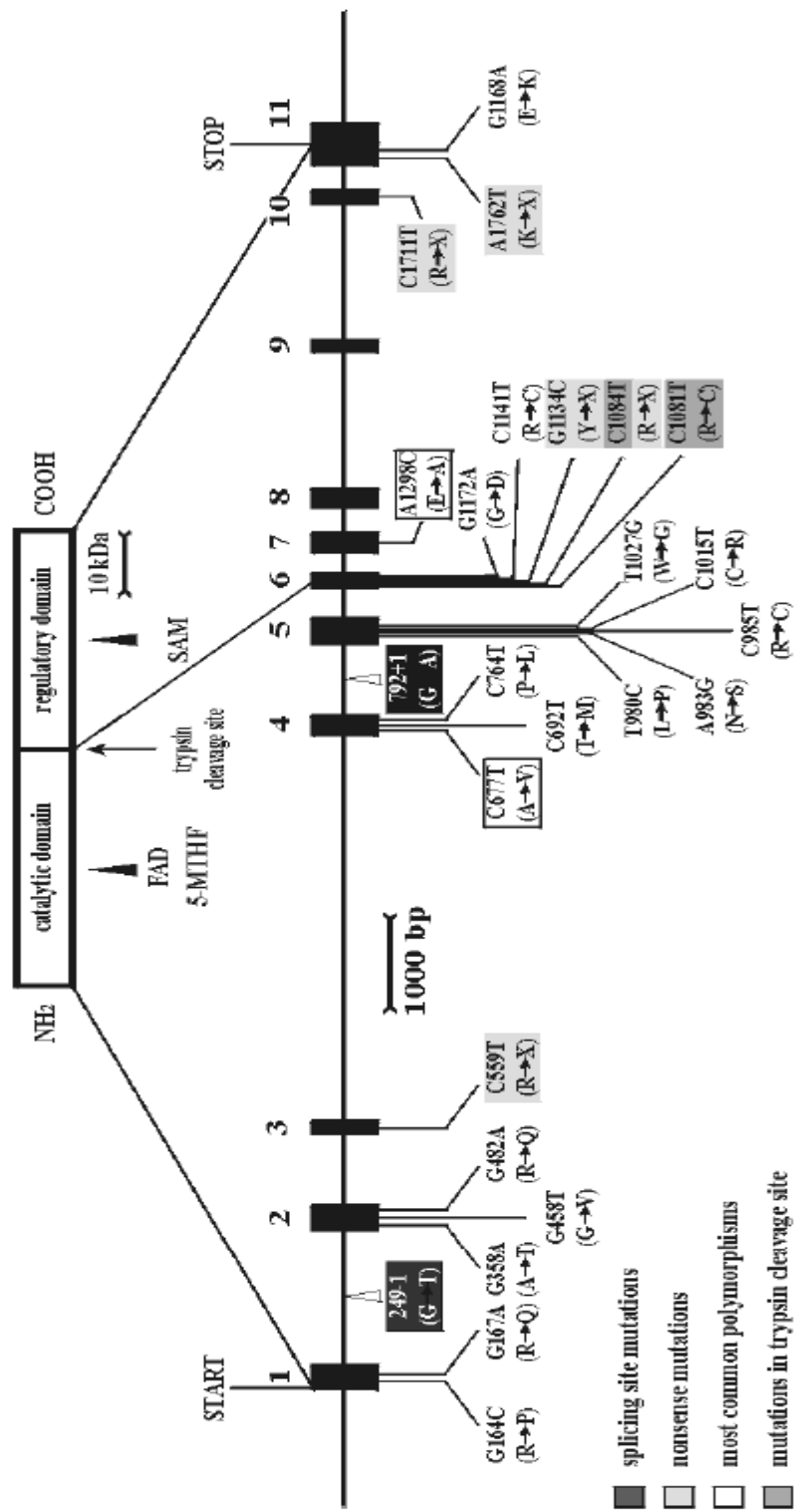


Figure 4 : structure de gène de la *MTHFR* avec la localisation des protéines et de mutations connus [65].

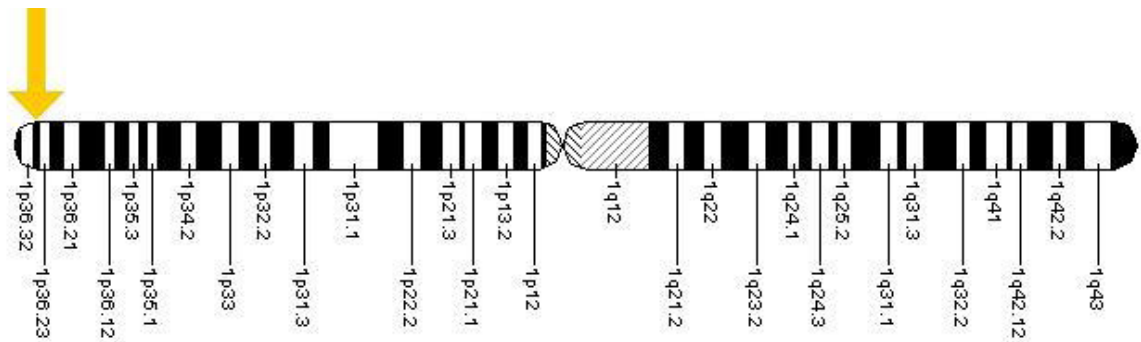


Figure 5: localisation cytogénétique du gène de la *MTHFR* [62].

Plusieurs sites d'amorce de la transcription, d'épissage alternatif et de polyadénylation ont été observés pour le gène *MTHFR*, la proportion de chaque transcription diffère selon les tissus. Il a été mis en évidence qu'il n'y a aucun élément TATA-box pour régler le gène *MTHFR* humain, fournissant ainsi une base pour approfondir les recherches sur le règlement du gène [59].

Un total de 34 mutations rares, mais délétères dans *MTHFR*, ainsi qu'un total de 9 variants communs (polymorphismes) ont été rapportés.

2.8.4. Mutation C677T

Polymorphismes génétiques conduisant à une carence en folate semblent faciliter l'apparition de différents types de cancer. L'acide folique est une partie de la méthylation de l'ADN, dans lequel des groupes méthyle (CH₃) sont transférés à la position 5' de résidus cytosine sur la cytosine-guanine (CpG) dinucléotides dans des réactions catalysées par des protéines (ADN méthyltransférases) [66]. Cette modification épigénétique de l'ADN a plusieurs fonctions, telles que le contrôle de l'expression génique, la stabilisation de la structure de la chromatine, et le maintien de la stabilité génomique [66,67].

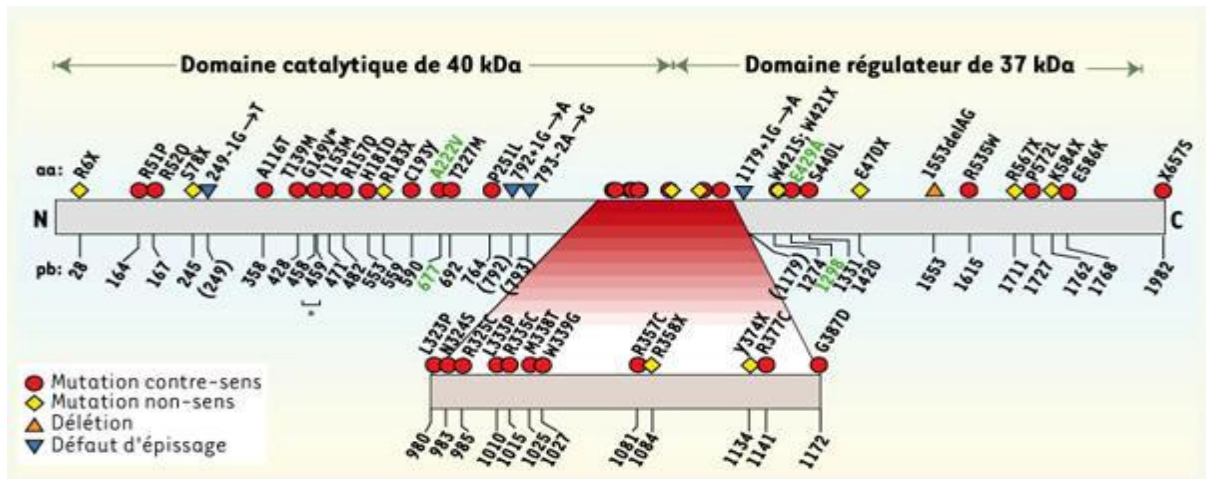


Figure 6. Représentation schématique de 41 mutations graves du gène *MTHFR* et des deux polymorphismes particulièrement étudiés.

Les 41 mutations spécifiées n'ont été identifiées que dans des familles de patients présentant un déficit important de *MTHFR*. La protéine *MTHFR* est représentée par un rectangle et les acides aminés mutés sont indiqués au-dessus, ainsi que les mutations affectant l'épissage du gène. Les nombres sous le rectangle désignent la position des mutations dans la séquence de l'ADNc (GenBank GI: 6174884); 2 mutations différentes ont été identifiées à la position 1274. Les nombres entre parenthèses désignent la présence d'une mutation intronique à proximité du résidu mentionné. Les 2 polymorphismes de *MTHFR* les plus étudiés sont aussi indiqués, en vert [62].

Polymorphisme C677T du gène méthyltétrahydrofolate réductase (*MTHFR*) semble être liée à la susceptibilité au cancer parce que l'activité de l'enzyme *MTHFR* (qui fait partie du métabolisme du folate) est réduite, ce qui peut provoquer l'expression incontrôlée de gènes, l'instabilité génomique, et induire la cancérogenèse [68,69].

En 1995, Frost et al [58]. ont identifié une mutation commune C677T, autosomique récessive, provenant du remplacement d'une cytosine en position 677 par une thymine, et à l'origine de la substitution d'une alanine par une valine en position 222. Le phénotype de ce variant génotypique, appelé " variant thermolabile ", est caractérisé par une diminution d'activité enzymatique de 70 % en cas d'homozygotie (TT), et de 35 % en cas d'hétérozygotie (CT) [70,71]. La teneur en homocystéine plasmatique chez un sujet sain est en général inférieure à 16 $\mu\text{mol/L}$ chez l'homme et 12,5 $\mu\text{mol/L}$ chez la femme non ménopausée. L'hyperhomocystéinémie, lorsqu'elle résulte de carences vitaminiques ou d'un polymorphisme génétique est habituellement modérée (15 à 30 $\mu\text{mol/L}$) ou moyenne (31 à 100 $\mu\text{mol/L}$). L'hyperhomocystéinémie sévère (> 100 $\mu\text{mol/L}$) est dans la plupart des cas associée à des mutations rares [72].

PATIENTS ET METHODES :

L'étude que nous avons entreprise, a duré 03 mois, et elle englobe deux types d'Observation:

-Une rétrospective (sur dossiers), allant de l'année en cours (2014) jusqu'à 2012, et porte sur une population de 35 patients présentent un cancer du pancréas ; et,

-Une observation transversal cas-témoins, qui a porté, sur 51 sujets, dont 17 sont atteints d'un cancer du pancréas et 34 témoins.

2. Recrutement des sujets :

✓ Pour, l'étude transversale cas-témoins, Il s'agit de :

-17 sujets des deux sexes atteints d'un cancer de pancréas âgés entre 19 et 90 ans admis au niveau du centre Hospitalier universitaire de Constantine (CHUC) essentiellement au niveau du service d'oncologie médicale, et d'oncologie radiothérapie ; et,

-34 témoins supposés sains,

✓ Pour l'étude rétrospective, Il s'agit de 35 sujets des deux sexes atteints d'un cancer du pancréas, âgés entre 19 et 90 ans, admis au niveau du CHUC essentiellement au niveau du service d'oncologie médicale, et d'oncologie radiothérapie.

Des critères d'inclusions et d'exclusions ont été établis pour les patients, dans les deux types d'études.

• Critères d'inclusions :

- Pour les cancéreux, nous avons inclus dans notre étude tout patient de l'est algérien, âgé de 19 à 90ans, et présentant un cancer, du pancréas prouvé histologiquement.
- Dans l'étude cas témoins, ont été requis comme critères d'inclusions : l'absence de chimiothérapie, de radiothérapie ou d'hormonothérapie en cours, l'absence de régime spécifique pour une pathologie quelconque, l'absence de trouble cognitif, l'absence de trouble alimentaire, un patient en état général conservé.
- Pour les témoins, nous avons inclus dans notre étude tout patient sain, de l'est algérien, âgé de 19 à 90ans,

- **Critères d'exclusions :**

-Pour, les cancéreux, présence d'autres cancers associés; ou présence d'une métastase dont l'origine est ignorée.

2. Prélèvement

Ce recueil a débuté depuis Mars 2014. Les prélèvements ont été effectués au centre anti cancers de Constantine

➤ Le déroulement du prélèvement :

Nous avons fait une étude cas témoins sur 51 sujets dont 17 sont atteints du cancer du pancréas, et 34 témoins.

Le prélèvement sanguin est effectué, systématiquement à chaque hospitalisation d'un patient pour cause d'un cancer du pancréas.

Le prélèvement sanguin préconisé pour l'extraction de l'ADN est recueilli stérilement dans un tube en présence d'EDTA (en quantité de 6 à 10 ml), et on ne prélève pas sur héparine parce que c'est un inhibiteur de la Taq polymérase.

Le recueil a été effectué au centre anti cancers de Constantine ; chez des sujets au repos avec des tubes.

- Choix du site du prélèvement
- Choix de l'aiguille du prélèvement (aiguille simple en cas d'un prélèvement sur veine normale adaptateur en cas d'un prélèvement sur cathéter)
- Mise en place d'un garrot au moment de la ponction veineuse
- Désinfection soigneuse du site de ponction
- Réalisation de la ponction veineuse
- Identification du tube (nom, prénom du sujet prélevé, type et lieu du prélèvement)

4. Questionnaire et Enregistrements

- **Questionnaire**

Un recueil de données a été effectué au niveau du service d'hospitalisation concerné ; en plus du dossier médical du patient un interrogatoire du patient est mené par nous même (voir Annexe N°1 pour le questionnaire).

- **Enregistrement**

Tous les informations recueillies sont enregistrées soigneusement, portant le nom et le prénom des sujets associés à la numérotation 1, 2, 3, 4, ... sur chaque questionnaire, et il est mentionnés le numéro de dossier, ainsi que le numéro d'enregistrement de chaque sujet correspondant à celui sur notre registre.

5. Manipulations sur le sang total :

Le sang ainsi prélevé, est acheminé directement au laboratoire Central de Biochimie, pour l'analyser.

5.1.Extraction de l'ADN :

Toutes les études génétiques nécessitent la disposition d'échantillons d'acides nucléiques, les leucocytes sanguins représentent la source majeure d'ADN, les autres sources cellulaires peuvent être des biopsies (biopsie de villosités choriales...). Dans la grande majorité de cas la technique d'extraction des acides nucléiques doit être adaptée à l'échantillon, à la nature du génome, au nombre de copies et de méthodes de biologie moléculaire utilisée ultérieurement (PCR...). Les méthodes d'extraction des acides nucléiques sont diverses [74].

Celle employée dans notre étude est une méthode utilisant un solvant inorganique, Na Cl.

- Principe :

L'extraction de l'ADN consiste en l'isolement de leucocytes du sang total par une lyse hypotonique des globules rouges ; ils seront ensuite traités par :

-un détergent Sodium dodécyle sulfate (SDS), qui possède une action lytique sur les membranes cellulaires, il inhibe les nucléases et dénature les protéines par destruction de leur structure tertiaire ; et une protéinase K, qui dénature et dégrade les protéines.

Dans le lysat, l'ADN nucléaire ainsi libéré est associé aux différentes protéines qui seront digérées et éliminées par précipitation au Na Cl. Le surnageant ainsi récupéré est traité par de l'éthanol pur, dans lequel une pelote de l'ADN se forme par précipitation.

L'ADN est solubilisé en phase aqueuse (Tris EDTA 10 :1). Sa pureté ainsi que sa concentration sont estimées par spectrophotométrie à UV (Annexe 2).

- L'ETDA : est un agent chélateur des ions divalents (tels que Mg^{2+}) nécessaires au fonctionnement des nucléases. Il est donc couramment employé comme inhibiteur indirect des DNAses.

4.2. Détermination de la pureté et la concentration de l'ADN :

4.2.1. Détermination de la pureté :

•Principe :

- l'ADN absorbe à 260 nm alors que les protéines (témoins de contamination) Absorbent à 280 nm.
- l'échantillon est dilué au 1/100 dans l'eau distillée (10 µl de l'ADN solubilisé dans 990 µl de l'eau stérile).
- Les DO (densité optique) sont lues à 260 et 280 nm (longueurs d'onde d'absorption des acides nucléiques et des protéines) dans le même type de cuve que celle ayant servi à faire le zéro (eau stérile).
- Par le moyen du rapport de DO 260 nm/ DO 280 nm, la pureté de l'ADN est déterminée en indiquant la contamination de l'ADN par les protéines ou par les ARN.

On considère que

- L'ADN est suffisamment pur lorsque le rapport $R = DO_{260}/DO_{280}$ est compris entre 1,6 et 2 ($1,6 < R \leq 2$).
- L'ADN est contaminé par les protéines si: $DO_{260}/DO_{280} < 1,6$.
- L'ADN est contaminé par les ARN si: $DO_{260}/DO_{280} > 2$.

-La pureté de l'ADN est essentielle pour une action efficace des enzymes de restriction utilisées par la suite. Dans le cas où l'ADN est contaminé, ce dernier ne laisserait pas aboutir à un bon résultat dans les étapes suivantes de son analyse par PCR. Il est donc indispensable de procéder par la réextraction de la pelote de l'ADN afin d'obtenir la pureté souhaitée (Annexe 2). Les ADN purs sont conservés à + 4 °C jusqu'à utilisation.

4.2.2. Détermination de la concentration de l'ADN :

• Principe

La densité optique à 260 nm permet de calculer la concentration de l'ADN sachant que :

A 260 nm une unité de densité optique correspond à :

- 50 mg / ml pour une solution d'ADN double brin
- 250 mg / ml pour une solution d'ADN simple brin.

1 unité de DO260 nm = 50 µg/ml d'ADN double brin.

Exemple :

Pour un ADN solubilisé dans 1000 µl de TE 10 :1 ayant une $DO_{260\text{ nm}} = 0,139$

1 unité de $DO_{260\text{ nm}}$ 50 µg/ ml d'ADN

0,139 de $DO_{260\text{ nm}}$ X

$X = 0,139 \times 50 = 6,95 \mu\text{g/ml}$

Considérant que l'ADN est dilué à 1/100 (10 ml de l'ADN dilué dans 990 ml d'eau stérile),
Donc $6,95 \times 100 = 695 \mu\text{g/ml}$.

Donc :

La concentration de l'ADN en $\mu\text{g/ml}$ = facteur de dilution \times DO 260 \times 50 $\mu\text{g/ml}$.

La qualité de l'ADN peut être vérifiée par un contrôle de taille des molécules d'ADN qui doivent être suffisamment longues pour être digérés. L'ADN génomique doit donc être manipulé en évitant toute action mécanique violente.

5. Génotypage de la *MTHFR* :

Elle consiste à amplifier une partie de l'ADN contenant le gène, puis de différencier les génotypes par digestion d'une enzyme de restriction spécifique.

La détermination du génotype a été effectuée en plusieurs étapes successives :

- la PCR (Polymérase Chaîne Réaction) et contrôle de PCR sur gel d'agarose.
- La digestion du produit de PCR par l'enzyme de restriction Hinf I.
- La séparation des produits de digestion par migration électrophorétique sur un gel d'agarose et distinction des différents génotypes par transillumination sous UV.

1. La PCR (Polymérase Chaîne Réaction)

La PCR est une technique de biologie moléculaire [75] mise au point en 1985 par Kary Mullis et développée par Henri A. Herlich et ses collaborateurs de la compagnie CETUS (Californie, USA).

1.1. Préparation du milieu réactionnel (ou mix) de PCR

Pour préparer le milieu réactionnel (Annexe 3), multiplier la quantité de chaque composant par le nombre de tubes voulu + un, c'est le tube témoin négatif dans lequel on met uniquement le mélange sans ADN.

L'ADN est amplifié par PCR avec deux amorces encadrant la région avec les deux codons polymorphes d'acide aminé 222 de la *MTHFR* (Annexe 3, tableau 14).

1.2. Déroulement des cycles de la PCR

Chaque cycle de la PCR repose sur trois étapes indispensables : Dénaturation, hybridation et élongation (Annexe 3 : Tableau 15)

1.3. Contrôle des produits de la PCR

Le contrôle de la taille des fragments amplifiés s'effectue par une électrophorèse sur un gel d'agarose à 1,5 % additionné a 10 µl de BET (Bromure d'éthidium), ce dernier est un réactif intercalant qui se fixe entre les bases nucléiques à l'intérieur de la double hélice et qui rendra les ADN fluorescents par exposition aux UV (le gel est ensuite coulé sur plaque d'une cuve horizontale).

Dans chaque puits du gel, il est déposé :

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

-3 µl de marqueur de taille (PM 100pb) +10µl H₂O +2µl BBP.

Les dépôts se font du coté cathode (-). Le système soumis à une migration sous un courant de 60 à 120 volts pendant 45 min Cette analyse permet aussi, d'observer si une éventuelle contamination de l'ADN survenue au cours de la PCR.

Après la migration, le gel est soumis au rayon UV. Les molécules de bromure d'éthidium fixées aux ADN émettent une lumière visible et photographiable et permettent de visualiser les fragments amplifiés sous forme de bandes fluorescentes de même taille (figure 7). Ce control permet aussi de vérifier si une éventuelle contamination de l'ADN est survenue au cours de la PCR grâce au puit contenant le blanc (témoin négatif : T).

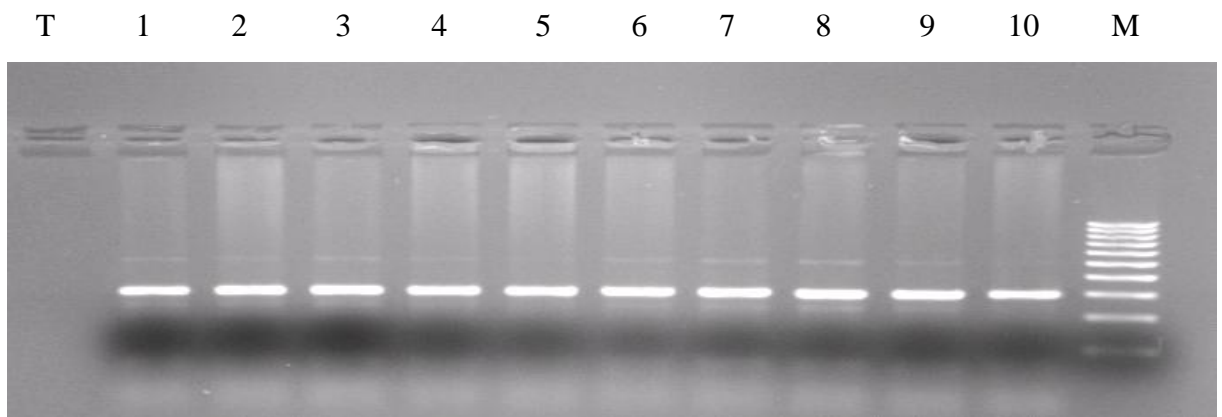


Figure 7 : Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose 1,5 % des fragments amplifiés (198 pb) par PCR du gène *MTHFR*.

2. Digestion des produits de PCR

Préparer le milieu de digestion de l'enzyme Hinf I pour de tubes voulu + 1 témoin (Annexe 4 : tableau 16).

1. Digestion par l'enzyme de restriction *HinfI* :

L'*HinfI* est une enzyme de restriction produite par la bactérie *Haemophilus influenzae* Elle reconnaît et clive la séquence G/ANTC codant pour l'Alanine en position 222 (figure8).

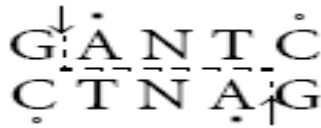


Figure 8: site de restriction par l'enzyme Hinf I

Les produits de la PCR sont soumis à une digestion enzymatique par HinfI. Ils sont incubés pendant une nuit dans une étuve à 37°C.

Après incubation ils sont concentrés dans la même étuve à 65°C pendant 1 heure 30 à 2 heures.

2. Conditions de migration

- Préparation du gel d'agarose (Annexe 4) :

Après préparation du gel d'agarose (3g d'agarose dans 100 ml de TBE 1 X).

Monter le support du gel.

Homogénéiser, couler immédiatement en versant le contenu de bûcher dans le support en plaques de verre en ayant soin de ne pas faire de bulles.

Placer le peigne plat afin de former les puits et laisser polymériser à température ambiante pendant 1h 30 min à 2h 30 minutes.

- Dépôts des échantillons :

Quand le gel est polymérisé, plonger le système (gel + électrodes) dans la cuve horizontale contenant un volume (450ml) du tampon Tris Borate EDTA (TBE 1 X)

Oter le peigne et déposer délicatement au fond de chaque puits un échantillon ou marqueur (Annexe 4).

Nous déposons dans chaque puit du gel 12 à 14 µl du produit digéré et 3 µl du bleu de Bromophénol.

- Migration :

La migration se fait en parallèle avec des fragments d'ADN appelés marqueurs de taille (leurs tailles sont connues), à un voltage de 80 volts

3. Révélation du profil électrophorétique

Le BET fluorescent aux UV s'est fixé sur l'ADN (cette molécule s'intercale entre les bases de la molécule d'ADN) et va permettre de visualiser les fragments de restriction dans le gel placé sur la table à UV.

Lorsqu'on obtient une séparation nette des différents fragments du marqueur (après 2h 30mn), le gel est photographié après transillumination aux UV (figure 9).

3. Profils RFLP obtenus

Ce polymorphisme, noté C677T, correspond à une substitution d'une cytosine par une thymine en position 677 dans la séquence nucléotidique et qui, se traduit dans la séquence protéique par la substitution d'une alanine par une valine sur le codon 222.

La digestion enzymatique de l'amplification de la *MTHFR* par la *Hinf I* a donné des fragments : 175 pb, 198 pb et 23 pb, le premier apparaît sur le profil électrophorétique sous forme d'une seule bande qui correspond au type homozygote muté (TT), le deuxième apparaît aussi sous forme d'une seule bande, il s'agit du type homozygote sauvage (CC). Les deux bandes ensemble, correspondent au type hétérozygote (CT) (voire la figure 9 ci dessous). Le troisième n'est pas visible à cause de son intensité trop faible.

Donc les conditions d'amplification étaient comme suit : une dénaturation initiale à 94 °C pendant 5 minutes, suivie de 30 cycles de PCR, comprenant chacun une dénaturation à 94°C pendant 30 secondes, une hybridation à 65 °C pendant 30 secondes et une élongation à 72 °C pendant 40 secondes, et enfin une élongation finale à 72 °C pendant 10 minutes.

L'amplification a été suivie d'une digestion enzymatique par l'enzyme *HinfI*. Les produits de digestion ont été analysés sur un gel d'agarose à 3 % parallèlement à un marqueur de poids moléculaire. La révélation a été réalisée sous lumière ultraviolette (UV) après coloration au bromure d'éthidium. La présence du polymorphisme se traduisait par la visualisation d'une bande de 175 pb.

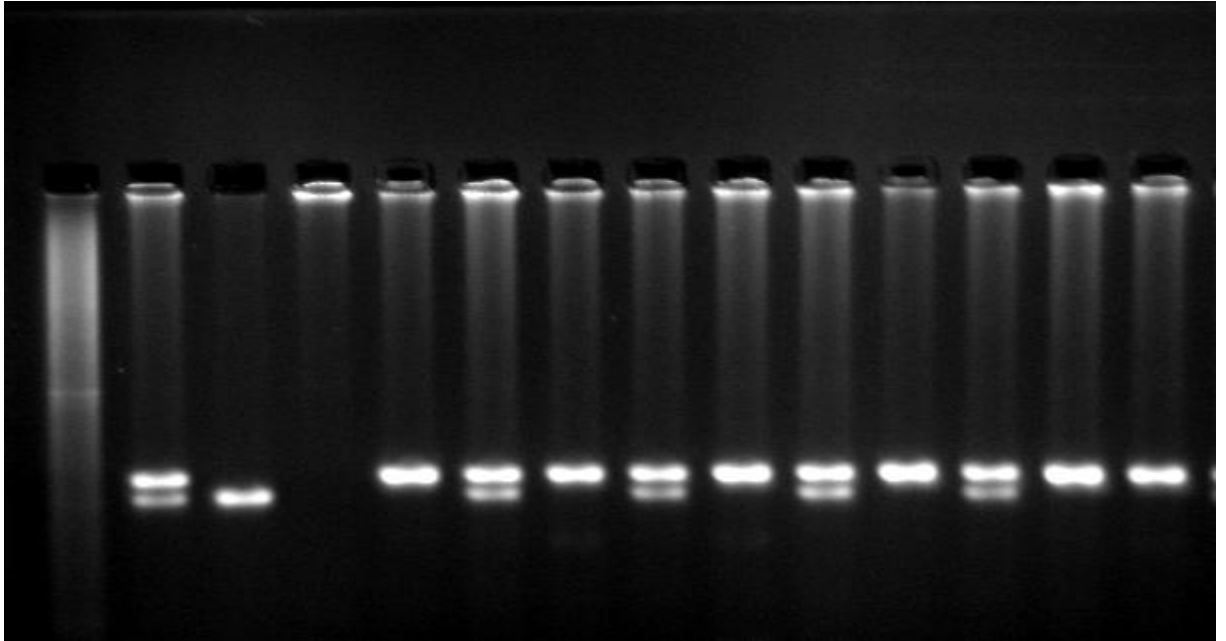


Figure 9 : Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose des fragments issus par clivage de HinfI présentant différents génotypes d'MTHFR.

6. Analyse statistique :

6.1. Statistique descriptive :

Pour l'étude rétrospective, nous avons opté, pour utiliser la statistique descriptive.

- Le calcul de la moyenne arithmétique, et l'écart type

$$X^- = \sum (ni \cdot xi) / n \quad \text{si } n > 30$$

$$X^- = \sum (ni \cdot xi) / (n - 1) \quad \text{si } n \leq 30$$

Pour l'écart type de la moyenne

$$\text{L'écart type} = \delta = \sqrt{\text{Variance}} = \sqrt{\sum (X^- - X)^2 / N - 1} \quad \text{si } n \leq 30$$

$$\text{L'écart type} = \delta = \sqrt{\text{Variance}} = \sqrt{\sum (X^- - X)^2 / N} \quad \text{si } n > 30$$

Les variables quantitatives sont décrites par la moyenne \pm 1 écart type, sauf exception qu'on précisera dans le texte.

6.2. L'enquête analytique :

Dans l'enquête analytique: pour étudier la relation entre un facteur d'exposition et la maladie, nous avons :

- Comparé la moyenne de la variable mesurant l'exposition chez les malades et les non malades.
- Nous avons crée des classes et utilisé des méthodes qualitatives .Ces méthodes permettent de décrire la relation entre le facteur d'exposition et la maladie de manière plus concrète et permet l'utilisation de méthodes statiques plus simples [76].

Le test utilisé dans ces conditions est le χ^2 .

6.3. Calcul de l'odds ratio :

Pour calculer l'odds ratio nous avons établi un tableau de contingence :

Il est présenté sous forme de tableau croisé 2x2. Le statut malade/non malade des sujets de l'étude est présenté en colonne et le caractère exposé/non exposé en ligne.

	Malades	Témoins	Total
Exposée (E+)	a	b	a + b
Non exposés (E-)	c	d	C + d
Total	a + c	b + d	a+ b +c+ d

La mesure de la cote d'un événement est un concept différent du taux ou de survenue de cet événement. La cote est le rapport entre la probabilité de survenue d'un événement et celle de la survenue d'un autre événement en général opposé au premier.

Dans notre enquête on ne peut pas calculer directement le taux de maladie, pas plus que la cote correspondante, puisque les nombres de la maladie sont fixés arbitrairement.

Cependant on peut calculer :

- La cote d'être exposé (Exposure Odds ; EO) pour les cas EO malades = a/c, pour les témoins EO témoins = b/d

- Le rapport des cotes d'exposition qui est l'Odds ratio (Exposure Odds ratio)

$$\text{OR} = \frac{a \times d}{b \times c}$$

L'Odds ratio représente une mesure d'association épidémiologique entre un facteur et une maladie, en particulier lorsque la maladie est rare parmi la population (Prévalence <5%). Dans ce cas l'Odds ratio peut être une bonne approximation du risque relatif que donnerait une enquête de cohorte pour la population.

Pour déterminer s'il existe une stabilité épidémiologique, on a utilisé trois tests statistiques, en cherchant à tester l'hypothèse nulle H_0 selon laquelle il n'y aurait pas d'association entre la maladie et le facteur de risque l'hypothèse nulle est formulé d'une seul manière qui est (H_0 : OR=1).

6.4. Les intervalles de confiance:

Les intervalles de confiance : ont été calculés par la méthode de Cornfield. L'approche estimative de l'analyse statistique vise à quantifier l'effet étudié et le degré de Certitude de cette estimation grâce à un intervalle de confiance, qui identifie généralement une fourchette de valeurs situées de part et d'autre de l'estimation et l'on peut être sûr à 95% de trouver la valeur réelle.

La notion d'un intervalle de confiance repose sur l'idée suivante : Si la même étude était réalisée sur un échantillon différent de patients, les résultats ne seraient pas identiques, mais Seraient proches du résultat véritable qui reste inconnu .l'intervalle de confiance estime cette variation due à l'échantillon [77].

L'intervalle de confiance pour les Odds ratio a été calculé à partir de l'approximation de Fliess.

6.5. 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 pour apparemment arbitraire est nécessaire pour l'homogénéité de la présentation des résultats.

L'usage a retenu de manière consensuelle l'ensemble des seuils (0.05, 0.01, 0.001) qui représentent des risques raisonnables pour prendre une décision.

Le seuil 0.01 doit être choisi lorsqu'en complément d'une étude épidémiologique descriptive, on teste le lien entre deux variables sans que l'on puisse a priori argumenter quand il existe une relation logique entre ces variables.

Résultats :

Notre étude, englobe deux types d'Observation:

- Une rétrospective, allant de l'année en cours (2014) jusqu'à 2012, et porte sur une population de 41 patients présentent un cancer de pancréas ; et,
- Une observation transversal cas-témoins, qui a porté, sur 51 sujets, recrutés, au niveau du CHUC dont 17 sont atteints d'un cancer de pancréas, admis, au niveau de service d'oncologie médicale, et d'oncologie radiothérapie, et 34 témoins sains recrutés au niveau du service de médecine du travail.

4. fréquence de Cancer du pancréas par rapport aux autres cancers :

Vu qu'une des observations, que nous avons entreprise, est une étude descriptive rétrospective, elle a révélé, que la fréquence de cancer de pancréas, montre une augmentation, comme, c'est illustré dans le tableau N°08 et la figure N° 10.

Tableau N°08 fréquence de Cancer du pancréas par rapport aux autres cancers,
chaque année, et pendant 02 ans

Année	Fréquence ‰
2012	11,54
2013	15,4
Jusqu'au juin2014	12,24

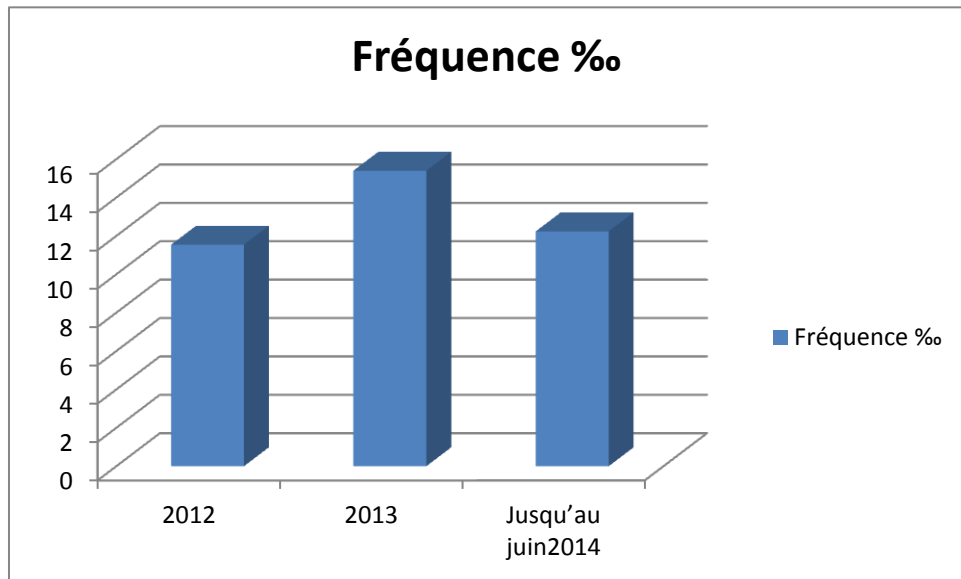


Figure № 10 Fréquence de cancer du pancréas par rapport aux autres types de Cancer dans l'est Algérien (dans notre échantillon)

5. Aspect Clinique des patients atteints d'un cancer du pancréas :

Nos patients sont des cancéreux, atteints d'un cancer du pancréas, à leurs différents stades, et présentant comme pathologie associée un diabète (de type 1 ou type 2), qui peut être une des causes comme il peut être une conséquence au cancer du pancréas.

Nos patients présentent aussi les symptômes cardinaux de ce type de cancer Qui sont les suivants :

- douleur à la partie supérieure de l'abdomen ou du dos
- perte de poids
- jaunisse
- changements de la digestion
 - difficulté à digérer
 - nausées
 - vomissements
 - perte d'appétit
 - sensation de plénitude après un repas léger
 - ballonnement
 - gaz
- changements du transit intestinal
 - selles graisseuses (stéatorrhée) – selles volumineuses et pâles. diarrhée
- fatigue
- saignement gastro-intestinal
- élévation du taux de glycémie (diabète)

- augmentation du volume de la rate
- enflure des jambes
- ascite (accumulation anormale de liquide dans l'abdomen)
- malaise (sensation généralisée d'inconfort ou de mal-être)
- asthénie
- dépression
- anxiété

Ainsi, parmi nos patients, y a ceux qui pressentent, les signes et symptômes rares du cancer du pancréas qui sont les suivants :

- caillots sanguins dans les jambes ou les bras (syndrome de Trousseau)
- augmentation du volume du foie et de la vésicule biliaire
- ganglion lymphatique enflé dans la région de la clavicule gauche
- métastases aux ganglions lymphatiques près du nombril

Les cliniciens affirment qu'aux tout premiers stades, il est possible que le cancer du pancréas ne cause aucun signe ni symptôme. Les symptômes apparaissent lorsque la tumeur se développe dans les tissus et organes avoisinants. Les signes et symptômes du cancer du pancréas dépendent de l'emplacement de la tumeur dans cet organe.

- Les signes et symptômes du cancer du pancréas peuvent aussi être causés par d'autres affections médicales. Il est donc important de consulter un médecin si des symptômes inhabituels se manifestent [78].

63,41% de nos patients, sont métastasés, après avoir comme origine, un cancer de pancréas. Et aucune information au niveau du dossier, sur le stade de cancer pour le 36,59 % patients qui restent.

3.Âge et Sexe Ratio :

Notre échantillon, des cancéreux, pris globalement (dans les deux types, d'observations : rétrospective, et Cas-témoins), est composé de 41 patients âgé de 19 à 90 ans ; et repartis en 20 Homme, et 17 Femme, représentent respectivement 48,78%, 41,46%, (aucune information sur le sexe de 9,75% de nos patients).

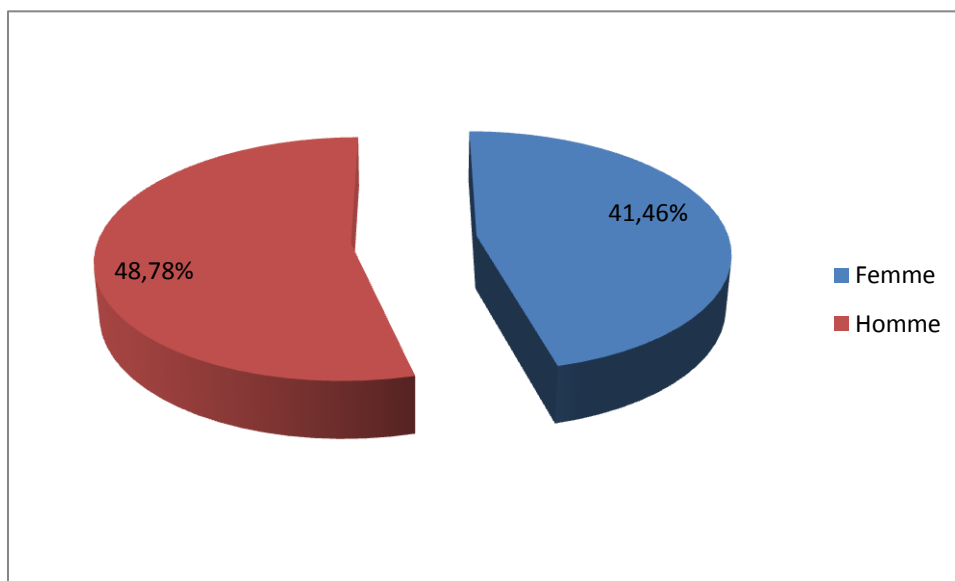


Figure N° 11 : Répartition des Patients Selon le sexe

Cet échantillonnage est réalisé au hasard. Selon certaines études le cancer du pancréas montre, une prépondérance, masculine, dans toutes les populations, dans l'âge moyen [79].

Dans notre échantillon, le nombre des hommes a été supérieur par une proportion de 1,18% (sex-ratio) par rapport à celui de femmes, l'explication peut être:

- Le Hasard, vu la courte période qui nous a été accordé pour réaliser notre étude.
- Le Tabac, qui multiplie le risque par deux ou trois.
- Le mode de vie, vu que dans les pays en voie de développement, et notamment en Algérie ; c'est le sexe masculin qui prédominent le monde de travail; chose que leur obligent à prendre des repas rapide le plus souvent riche en graisse, et pauvre en fibre ; et d'après les chercheurs, les aliments que consomme une personne tout au long de sa vie peuvent affecter le risque de développer certains types de cancer [78].
- La différence hormonale, ainsi que la différence de la masse musculaire entre homme et femme.

4. Moyennes d'âge :

Tableau N° 09 : Moyenne d'âge

	Hommes	Femmes	Total
Moyenne d'âge	63,74 ± 14,56	60,69 ± 11,99	57,42± 12,45

La moyenne d'âge des nos patients, est de $57,42 \pm 12,45$ c'est ce que concorde avec les données de la littérature qu'ont démontré que, le risque des cancers pancréatique augmente avec l'âge, et que, la plupart se produisent chez des personnes de plus de 50 ans [80], avec un pic d'atteinte par un cancer du pancréas enregistré à 70 ans indépendamment de sexe [81]. La moyenne d'âge de femmes cancéreuses est $60,69 \pm 11,99$, et la moyenne d'âge d'hommes est de $63,74 \pm 14,56$. Ce qui concorde avec des nombreuses études qui montrent que le cancer du pancréas touche beaucoup plus les hommes que les femmes avec une moyenne d'âge de 50 ans.

5. Répartition en Tranches d'âge :

Tableau N° 10: Répartition en Tranches d'âge

	N	%
[19-29]	01	1,96 %
[30-40]	9	17,65 %
[41-51]	11	21,57 %
[52-62]	14	27,45 %
[63-73]	07	13,72 %
[74-84]	08	15,69 %
≥ 85	01	1,96 %
Total	51	100 %

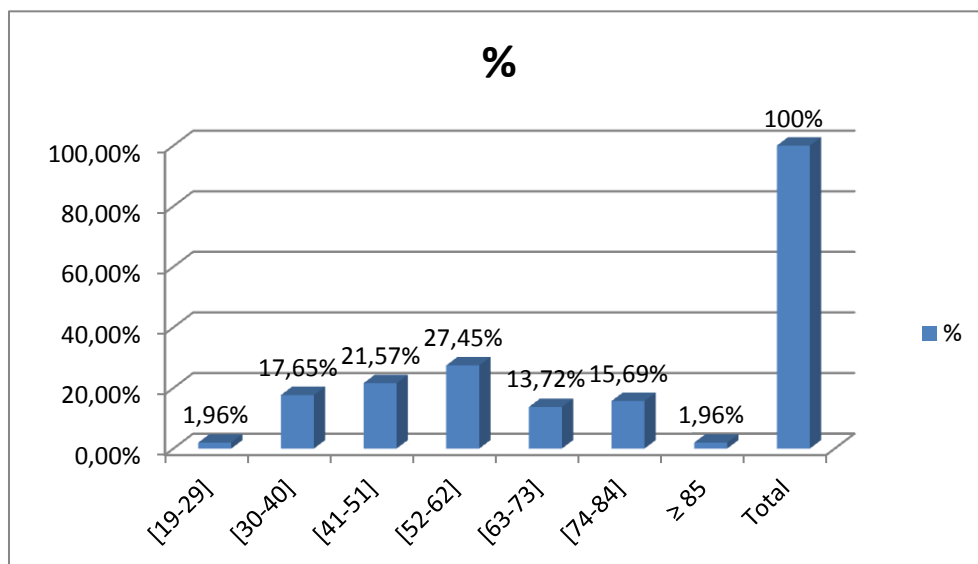


Figure 12 : Répartition en tranches d'âge des patients

Pour ce qui est de la répartition en tranche d'âge le Tableau 10 et la figure 12 ci-dessus montrent que l'apparition du cancer de pancréas est corrélée à la tranche d'âge de 52 à 62 ans.

Et c'est ce que concorde avec de nombreuses études qu'ont démontrés que l'apparition de cette pathologie commence à partir de 50 ans et augmente après en enregistrant un pic à 70ans [78].

6. Répartition des fréquences génotypiques dans les deux groupes :

Vu que le cancer, de pancréas, sur, le plan épidémiologique, est considéré, comme, une pathologie rare, en plus de contraintes de prélèvements, rencontré, lors, de la réalisation, de ce travail, l'étude moléculaire n'a concernée que les 41 patients, inclus, dans l'observation cas-témoins ; repartis en 17 cancéreux, et 34 témoins présumés sains.

Tableau 11 : fréquence génotypique du polymorphisme C677T de la *MTHFR*

Témoins			Cancéreux		
	N	%		N	%
CC	14	41,18%	CC	08	47,06%
CT	16	47,06%	CT	05	29,41%
TT	04	11,76%	TT	04	23,53%
Total	34	100%	Total	17	100%

Le tableau 11 montre la comparaison des fréquences génotypiques entre les témoins et les cancéreux.

Nous avons déterminé le génotype de 34 témoins et 17 Cancéreux.

Le génotype C/T présente la même fréquence que le génotype C/C, chez la population témoins. Cependant, on remarque que le génotype C/C est prédominant chez les cancéreux. Dans notre population témoin, prise au hasard, le génotype C/T représente 47,06% ceci diffère avec certains études réalisées à travers le monde, et concorde avec d'autres [83]. La distribution des génotypes du polymorphisme de la C677T du MTHFR ne diffère pas beaucoup entre les témoins et les Cancéreux, et elle présente le même ordre décroissant en fréquences, correspondant aux génotypes CC, CT, en premier lieu, puis, à un degré moins, TT respectivement (Tableau 11).

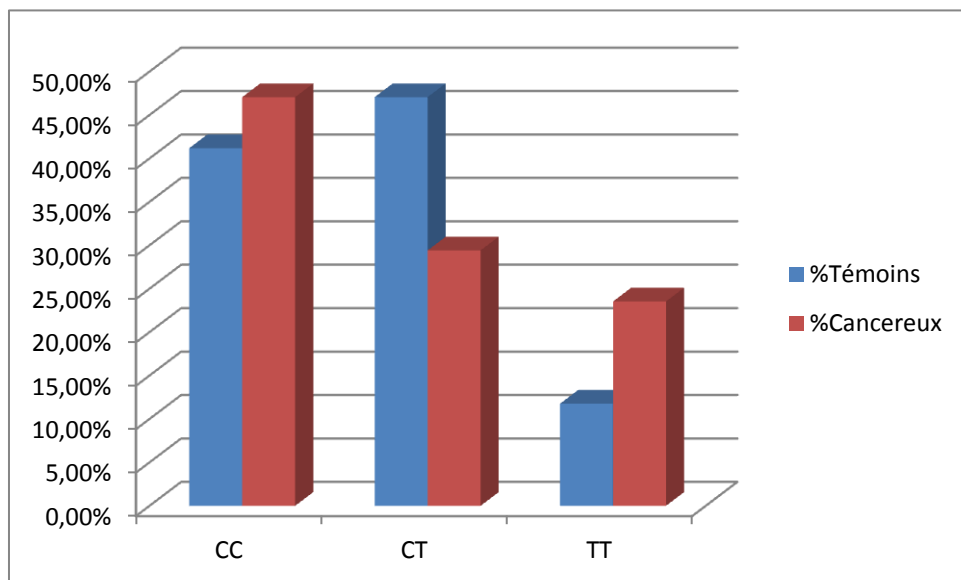


Figure 13 : Répartition des fréquences génotypiques dans la population de Témoins et dans les Cancéreux

Selon les résultats obtenus (Figure 13), on peut observer que les deux génotypes CC, et CT présentent un ordre décroissant inverse, entre les deux groupes (Témoins et Cancéreux), pris chacun séparément.

Le génotype homozygote muté TT, correspond à une fréquence de 23,53% chez les cancéreux, et il est de 11,76% chez, les témoins, montrant que la présence de cette Mutation, est corrélée à la présence d'un cancer de pancréas. Ce résultat ne concorde pas avec un certain nombre d'études [84].

En revanche d'autres études démontrent que la mutation TT 677 de la *MTHFR* est associée au cancer de pancréas, tel que l'étude de Donghni li [85]. (*Cancer Epidemiol Biomarkers, 1470*) cette étude a démontrée que la présence de la mutation C677T dans le gène de la *MTHFR*, chez des patients ; est liée, à un risque hautement significatif, de la survenue d'un cancer de pancréas, indépendamment, de tout autre facteur de risque.

La concordance entre notre étude et l'étude de Donghni li et al, peut être expliqué par le simple Hasard, vu que notre échantillon, est très restreint, en comparaisant au leurs, Ceci incite à poursuivre les études, dans ce contexte.

Un plus grand nombre d'études exhaustives, peut aider à trancher, et à mettre en évidence, si le génotype homozygote muté, constitue vraiment un facteur de risque pour contracter cette pathologie, ou pas.

7. Répartition des fréquences alléliques dans les deux groupes :

Tableau 12: Fréquences alléliques de la *MTHFR* dans la population malade et témoins.

	Témoins		Cancéreux	
	N	%	N	%
C	44	64,71%	21	61,76%
T	24	35,29%	13	38,24%
Total	68	100%	34	100%

Le tableau 12 montre que la répartition des allèles de la *MTHFR* est inégale sur l'ensemble de deux groupes. Cependant on trouve que la fréquence de l'allèle T chez les témoins est la même chez les cancéreux (Figure 14), chez les témoins il est de 35,29% par rapport à 38,24% chez les cancéreux ; ce que confirme la non implication de l'allèle T dans la survenue d'un cancer de pancréas.

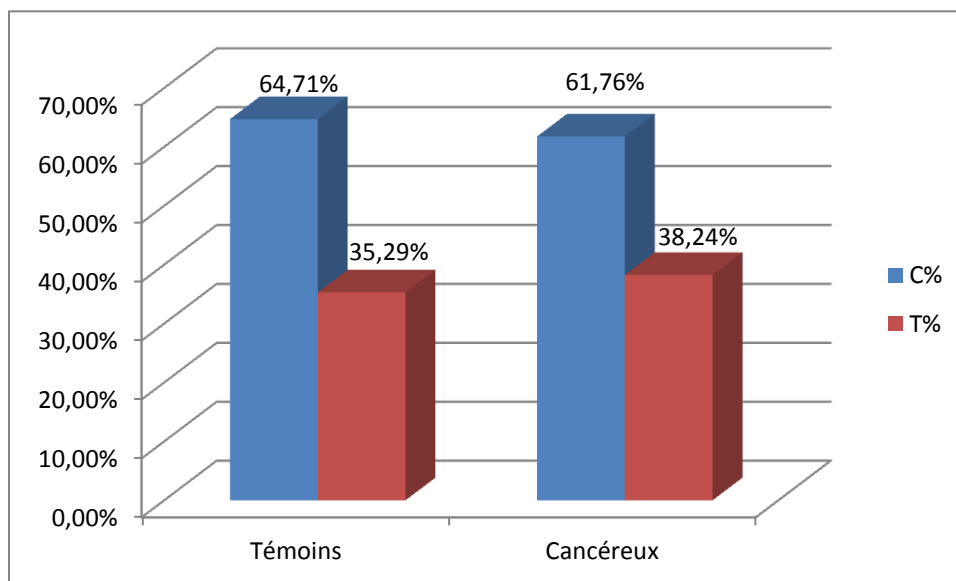


Figure 14 : Répartition des fréquences alléliques de la *MTHFR* dans la population témoin et dans les cancéreux

A ce stade de notre travail nous ne pouvons tirer des conclusions en ce qui concerne la relation entre la présence de l'allèle T et la localisation du cancer, au niveau de pancréas, Comme rapporté dans la littérature [86].

Tableau 13 : Calcul des Odds ratio des sujets malades ayant un allèle T par rapport aux témoins ayant un génotype CC.

	Odds ratio	P
TT vs CC	2,3	ns
TT+CT vs CC	0,79	ns

* : Limites de confiance selon Cornfield à 95%

Le calcul de l'Odds ratio montre que :

- les porteurs de l'allèle T ne présentent pas une association significative vis-à-vis du cancer de pancréas, suggérant que les sujets ayant un allèle T ne sont pas prédisposés à développer un cancer de pancréas.

Ceci ne concorde pas avec les nombreuses études qui démontrent l'implication de l'allèle T dans la survenue d'un cancer de pancréas, tel que l'étude, réalisée par l'American Gastroenterological Association (AGA) Institute ; qui a démontré que l'allèle T joue un rôle prépondérant dans la carcinogénèse du pancréas [87].

Conclusion & Perspectives

Notre étude sur des patients présentant un cancer du pancréas, a, révélé, la non implication de l'allèle T, dans la survenue d'un cancer du pancréas.

En revanche, Nos résultats, dans, l'étude rétrospective, montrent que le cancer continu à poser un problème majeur de santé publique, aux conséquences socio-économiques très lourdes, c'est un véritable gouffre financier.

Cependant, la détermination d'une association entre la mutation C677T de la *MTHFR*, et la localisation de la tumeur au niveau de l'organe lui même, pourrait contribuer à une meilleure connaissance du rôle du gène dans ces pathologies,

Ceci fournit une base pour approfondir les recherches dans l'objectif d'élucider la relation entre le polymorphisme C677T et le cancer du pancréas après ajustement sur tous les autres facteurs de risque (sexe, âge, tabagisme...etc.).

Les travaux doivent se poursuivre, il est certes possible que 677C → T ne contribue que modestement à l'émergence de certaines pathologies, mais il est également possible qu'en étudiant l'interaction du polymorphisme avec d'autres facteurs génétiques, ainsi qu'avec des facteurs non génétiques, on puisse élucider la cause de pathologies complexes.

Dans ce but il nous apparaît intéressant d'étudier les interactions de ces éléments au niveau moléculaires et leurs répercussions.

Les chercheurs à travers le monde entier, tentent d'améliorer les techniques de dépistage du cancer du pancréas afin qu'on parvienne à le découvrir tôt, soit avant que des signes et symptômes ne soient observés. Ce serait important d'y parvenir puisque la plupart des personnes atteintes d'un cancer du pancréas reçoivent un diagnostic de maladie avancée.

Un domaine clé de l'activité de recherche consiste à élaborer des meilleures méthodes de diagnostic et de stadification du cancer du pancréas.

Des chercheurs se penchent sur le profil d'expression génétique et sur la technologie des microréseaux de protéines en tant qu'outils diagnostiques du cancer. Grâce à ces techniques, ils ont découvert de nombreux gènes pouvant être altérés (mutés) chez les personnes atteintes d'un cancer du pancréas. Ces renseignements peuvent aider à diagnostiquer un cancer du pancréas.

Ainsi que la technologie des micros ARN, les micros ARN sont des ARN à simple brin court (molécules à l'intérieur des cellules qui aident à transmettre l'information génétique contrôlant les fonctions cellulaires). Selon les généticiens, ils contrôlent l'expression des gènes. Des chercheurs ont identifié plusieurs types de microARN modifiés dans les cellules du cancer du pancréas. La détection de microARN pourrait aider à diagnostiquer le cancer du pancréas.

Dans notre pays, et à notre niveau on peut étudier des facteurs pronostiques qui pourraient aider à déterminer l'issue du cancer du pancréas. On peut y avoir recours pour prévoir les chances de guérison ou le risque de réapparition du cancer. Les cliniciens peuvent aussi se servir des facteurs pronostiques pour les aider à faire des recommandations thérapeutiques.

Annexe 1 : Le questionnaire

Date :

No.

Nom : Prénom..... Sexe :

Age : Poids : Taille : Tour de taille :

Situation familiale Marié (e) : Célibataire : Autre :

Niveau d'étude : Primaire : Secondaire : universitaire : Autre....

Fonction :

Origine ethnique :

Autres :

Fumeur : Nbre/J : Café : Nbre/J :

Chique : Alcool :

Tension artérielle : Systolique : Diastolique :

Contraceptifs : Types de contraceptifs :

Age de diabète :

Pathologies associées :

Antécédents Personnels	Antécédents Familiaux

Diagnostic :

Examens complémentaires :

Traitements :

Chol : ...TG : ...HbA1c : μ Alb : ... Hcy : ...Glycémie : ...Autre :

Annexe 2:

-Les étapes de l'extraction de l'ADN :

1- Préparation des leucocytes

- Dans un tube Falcon de 50 ml ; mettre le sang total (7-10 ml) et compléter à 45ml avec du TE 20 :5. Laisser 10 min dans la glace.
- Centrifuger 15 min à 3900 g (3900 rpm).
- Déverser le surnageant prudemment afin de garder le culot leucocytaire précipité au fond de tube.
- Rajouter le TE 20:5 au culot jusqu'à 25-30 ml, agiter pour le remettre en suspension et laisser 10 min dans la glace.
- Centrifuger dans les mêmes conditions précédentes.
- Déverser le surnageant : obtention d'un culot de leucocytes. (Si on s'arrête à ce niveau, les mettre dans un tube nunc de 15 ml avec du TE 10 :1 et les conserver à -20°C dans un congélateur).

2- Extraction de l'ADN

- Décongeler les leucocytes.
- Centrifuger pendant 15 min à 3900 rpm
- dilacérer le culot de leucocytes soigneusement afin de les prendre complètement et les mettre dans un tube Falcon conique de 15 ml.
- Ajouter 3 ml de tampon de lyse (Na Cl 400 mM, EDTA 2mM, Tris 10mM, PH 8.2)
- Ajouter 200 µL de SDS à 10% (100 g SDS + 1000 ml H₂O)
- Ajouter 100 µL de protéinase K (PK) à 10 mg / ml.
- dans l'étuve, Agiter le tube sur une roue rotative à 37°C pendant une nuit.
- Le lendemain ; refroidir dans la glace.
- Ajouter 1 ml de Na Cl 4 M et agiter rigoureusement à la main.
- Remettre 5 min dans la glace (précipitation des protéines).
- Centrifuger 15 min à 2500 rpm.
- Transvaser le surnageant dans un tube Falcon de 50 ml, ajouter 2 fois son volume d'éthanol absolu (100%) préalablement refroidi et agiter en tournant le tube plusieurs fois : **la formation de la méduse** visible à l'œil nu. (Laisser éventuellement 30 min à -20°C si la pelote d'ADN ne se forme pas).
- Récupérer la pelote d'ADN par une pipette pasteur et la rincer 2 fois dans l'éthanol à 70% dans un tube nunc (eppendorf) stérile.

3-Solubilisation de l'ADN :

- L'ADN est réhydraté en ajoutant entre 300 et 1000 μL de TE 10 :1 selon la grosseur de la pelote et la concentration souhaitée.
- Laisser une nuit sur agitateur rotateur à 37°C, puis à température ambiante jusqu'à dissolution complète (de 1 jusqu'à 3 jours).
- Pour la réextraction de l'ADN, dans le cas où il est contaminé (par des protéines ou par un ARN), ajouter à la solution d'ADN, 200 μl SDS et 200 μl PK, agiter et laisser dans la roue à une température de 37°C pendant 7 jours, puis déterminer la DO de cette ADN.

Annexe3

Tableau 14: Préparation du milieu réactionnel du PCR pour *MTHFR*

PCR	MIX	X Nombre D' ADN	Quantité
H2O	35.2μ		
Tampon 10x sans Mg cl2			
Dntp 2Mm	5μ		
MgCl2 Mm (1,5mM)	3μ		
Oligo F (100 pmol/ μl)	0,2μ		
Oligo R (100pmol/μl)	0,2μ		
Taq polymérase	0,4μ		

Dans l'épendorf : 2μl ADN + 49 μl Mix ; puis dans le thermocycleur et appliquer le programme de l'*MTHFR*.

➤ **Oligo nucléotides utilisés :**

Oligo F (forward primer) : 5'-TGA AGG AGA AGG TGT CTG CGG GA-3'

OligoR (reverse primer) : 5'-AGG ACG GTG CGG TGA GAG TG-3'

➤ **Dilutions des solutions mères utilisées**

- ❖ Oligo F solution mère 268 ,2ml (dilution 1/25)

Oligo F solution fille : 37,28 ml de Oligo F solution mère + 62,72 ml H2O distillé.

- ❖ Oligo R solution mère 333ml

Oligo R solution fille : 30 ml de Oligo R solution mère + 69,97 ml H2O distillé.

- ❖ dNTP solution mère

dNTP solution fille : 10 ml de dNTP solution mère + 90 ml H2O

- ❖ MgCl2 solution mère

50ml MgCl2 + 50ml H2O distillé

Tableau 15: Déroulement des cycles de la PCR dans le thermocycleur

Nombre de cycles	Étape	Température (°C)	Durée
X1	Dénaturation	94	5min
X30	Dénaturation	94	30s
	Hybridation	65	30s
	Elongation	72	40s
		72	10min
		4	5min-24h

Annexe 4

Tableau 16: préparation du milieu de digestion par l'enzyme Hinf I

Milieu de digestion	Quantité en µl
Tampon de Hinf I	5
Hinf	1
H2O	4
BSA (Bovine sérum albumine)	0,2

X (nombre de produit de PCR) 30 ml produit PCR +10 ml de Mix
- le BSA est un activateur.

Préparation du gel d'agarose :

1, 5 g d'agarose + 100 ml TBE 1X + 10 ml BET (Bromure d'etidium)

Dépôts des échantillons :

- 15 µl de produits de digestion + 2 à 3 µl de Bleu de promophénol
- 3 µl de marqueur (PM 20pb LADDER ref.018206) + 2 à 3 µl de Bleu Bromophénol.

Préparation de Bleu de Bromophénol (BBP) : BBP 20mg

[(Tris 0.5M: 2ml + Glycérol: 5ml) PH 7.5] Qsp 10 ml H₂O

Préparation de TBE 10X: Tris 108g

- Acide borique 55g
- Ajuster le PH à 8.3 avec l'acide acétique glacial
- EDTA 9.3g
- QSP 1L H₂O

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Registre du cancer de Sétif .Algérie.** *Cancer Incidence in Five Continents*, Vol. VI, VII, IX.)
2. **Le petit Larousse de la médecine.** p674, édition (2008).
3. **In VS.** *Rapport sur l'évolution de l'incidence et de la mortalité par cancer en France de 1978 à 2000.* (2003), www.invs.santé.fr
4. **Cowgill SM, Muscarella P.** *The genetics of pancreatic cancer.* *Am J Surg.* (2003);186(3):279-86.
5. **Fondation ARC pour la Recherche sur le Cancer.** *Les cancers du pancréas.* (2011).
6. **Larousse Médicale.** Edition (2006) p729.
7. **Hezel A.F et al.** *Genetics and biology of pancreatic ductal adenocarcinoma,* *Genes Dev,* 2006,20, p 1218-1249.
8. **Anderson KE et al.** *Pancreatic cancer in cancer epidemiology and prevention,* New York: Oxford University Press; 1996, p. 725 – 71.
9. **Eurekasante.** “*Symptômes et évolution du cancer du pancréas*”, 12 juin 2012
10. **Laurent Zelek., David Khayat.** *Guide pratique du cancérologie,* 2^{ème} Edition Masson, Paris, juin 2000. p 91-92
11. **Annie J. Sasco,** *Epidémiologie des cancers,* Médecine thérapeutique 2000; 6:820-5.
12. **Oukkal.M., Bouzid.K.** *Mise au point sur le traitement médical du cancer du pancréas,* Santé-mag, Novembre(2012); N 03.
13. **Warshaw AL., Fernandez del Castillo C.** *panreatic carcinoma,* *N Eng J Med* 1992; 326 : 455-465.
14. **Sielezneff I., Cowen D., Payan MJ.** « *Tumeurs du pancréas (155)* », Juin 2005
15. **Lévy p.** *maladie du pancréas,* 5-15, Sabinus santé. (2006).
16. **Ligue suisse contre le cancer.** *Le cancer du pancréas,* Berne 2013.
17. **Beat Gloor.** *Les maladies du pancreas,* Groupe suisse d'entraide pour les maladies du pancréas GSP, Berne 2007. P 4,13
18. **Richard L et al.** *Anatomie du gris pour les étudiants,* Philadelphie: Elsevier / Churchill Livingstone, p 288-290.

- 19. Henri Rouvière** ., **André Dalmas**. *Anatomie humaine* ,15^{ème} édition Masson, Paris ,2002 , p 448.
- 20. European Society for Medical Oncology**. *Cancer du pancréas : un guide pour les patients* ,2013.
- 21. Simon Idelman** ., **Jean Verdeti**. *Endocrinologie et communications cellulaires*, éditions EDP Sciences, 2000.
- 22. VINCENT David**., *Rôle du Transforming Growth Factor- β (TGF β) au cours de la Tumorigenèse Pancréatique*, thèse pour l'obtention du diplôme de Doctorat, (2012), université Claude Bernard, Lyon, France.
- 23. Hellman B et al**. *Oscillations de l'insuline - rythme cliniquement importante anti-diabétiques doivent augmenter la composante pulsatile de la sécrétion d'insuline*. *Lakartidningen* (en suédois) 104 (32-33): 2236-9.
- 24. Linda S. Constanzo**. *BRS physiologie* ,4^{ème} édition Lippincott, p 255-256.
- 25. LAFITTE Marie**., *Adénocarcinome canalaire pancréatique Mécanisme moléculaire et approche thérapeutique*, thèse pour l'obtention du diplôme de Doctorat en Génétique, (2012), université Bordeaux 2, Bordeaux, France.
- 26. SIFFORI Jean pierre et al**. *Histologie*, édition Flammarion, Paris, 2007, p 200
- 27. Cancer du pancréas: un guide pour les patients** – Basé sur les recommandations d'European society for medical oncology (ESMO) ;(2013), p1-30
- 28. Réseau de cancérologie**. *Adénocarcinome du pancréas*, Les Référentiels (Cancers Digestifs). Février 2011
- 29. Johns Hopkins Medicine University**. *What are risk factors for pancreatic cancer?*. December 11th 2012.
- 30. ANDRE Thierry**., **HAMMEL Pascal**. *Le cancer du pancréas en question*. Fondation (A.R.C.A.D).2014.p19
- 31. Unité cancer et environnement**, *cancer du pancréas* ,(2014), p 2-3

- 32. James J Farrell et al.** *Variations of oral microbiota are associated with pancreatic diseases including pancreatic cancer*, Gut (2011), doi 10.1136/gutjnl-2011-300784
- 33. Elena JW.** *Diabetes and risk of pancreatic cancer: a pooled analysis from the pancreatic cancer*. Cancer Causes Control. 2012.24(1):13-25.
- 34. National cancer institute.** *What You Need To Know About cancer of the pancreas*, September 2010.
- 35. Université Médicale Virtuelle Francophone.** *Tumeur du pancréas* ,2009.
- 36. LAVERDET Betty.,** *Physiopathologie du pancréas : Rôle de l'inflammation dans la cancérogenèse du pancréas exocrine*, thèse pour l'obtention du diplôme de Doctorat en pharmacie, (2013), université de Limoges, Limoges, France.
- 37. Association pour la Recherche sur le cancer (ARC).** *Le cancer du pancréas*, Février (2007).
- 38. Braunwald E., Fauci AS., Kasper DL.** *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 15th ed, McGraw-Hill Professional Publishing; 2001:591-603.
- 39. Buffet C.** *Cancer du pancréas exocrine : clinique, bilan diagnostique et préthérapeutique*. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Hépatologie, 7-106-A-12,2009
- 40. Pagés P et al.** *Marqueur tumoraux du cancer du pancréas*, EMC (El Sevier, Paris).Hématologie ,7-106-A-15,1998, p 6.
- 41. Turrini O.** *Les altérations génétiques dans les lésions précancéreuses pancréatiques et leurs implications en clinique*. Gastroentérologie Clinique et Biologique. (2009) 33, e1-e9.
- 42. SEVERINE Lavale.,** *Rôle des hémidesmosomes dans le pouvoir anti-invasif du récepteur de somatostatine sst2, dans le cancer du pancréas*, thèse pour l'obtention du diplôme de Doctorat en Médecine, (2012), université de Paul Sabatier, Toulouse, France.
- 43. PYRONNET S et al.** *Antitumor effects of somatostatin Molecular and Cellular Endocrinology*, 2008, vol.286, 230-237
- 44. DELESQUE N et al.** *Sst2 Somatostatin Receptor Expression Reverses Tumorigenicity of Human Pancreatic Cancer Cells* , Cancer Research , 1997, vol.57, 956-962.
- 45. Delpu Y et al.** *Genetic and epigenetic alterations in pancreatic carcinogenesis*. Curr Genomics.2011 Mar ;12(1) :15-24

- 46. Lee J et al.** *Impact of epidermal growth factor receptor (EGFR) kinase mutations, EGFR gene amplifications, and KRAS mutations on survival of pancreatic adenocarcinoma.* Cancer.2007 Apr 15 ;109(8) :1561-9.
- 47. Oliveira-Cunha M et al.** *EGFR and KRAS mutational analysis and their correlation to survival in pancreatic and periampullary cancer.* Pancreas. 2012 Apr;41(3):428-34.
- 48. Jérôme T. et al.** *Nouvelles cibles moléculaires dans le cancer du pancréas.* Bull Cancer. (2008) ; 95 (5) : 503-12.
- 49. Huguet F et al.** *Mécanismes de carcinogénèse des cancers du pancréas : quelle pistes pour la radiosensibilisation ?.* Cancer/Radiothérapie 15 (2011). 365-375.
- 50. Ruggeri B.A et al.** *Amplification and overexpression of the AKT2 oncogene in a subset of human pancreatic ductal adenocarcinomas.*Mol Carcinog. 1998, 21 (2) : 81-86.
- 51.Giovannetti E et al.** *Transcription analysis of human equilibrative nucleoside transporter-1 predicts survival in pancreas cancer patients treated with gemcitabine.* Cancer Res 2006; 66:3928-35.
- 52.Wang W et al.** *The nuclear factor-kappa B RelA transcription factor is constitutively activated in human pancreatic adenocarcinoma cells.* Clin. Cancer Res. 1999, 5 (1): 119-127.
- 53. Hiyama E et al.** *Telomerase activity is detected in pancreatic cancer but not in benign tumors.* Cancer Res. 1997, 57 (2) : 326-331
- 54. Bollmann F.M.** *The many faces of telomerase: emerging extratelomeric effects.* Bioessays. 2008, 30 (8) : 728-732.
- 55. DAVENNE L.,** *Implication des métabolites sphingolipidiques dans la prolifération, la survie et la réponse des cellules cancéreuses pancréatiques aux molécules chimiothérapeutiques,*thèse pour l'obtention du diplôme de Doctorat en Médecine,(2008), université Paul Sabatier ,Toulouse ,France, p 12.
- 56. BOURNET Barbara.,** *Contribution à l'étude des marqueurs moléculaires de l'adénocarcinome pancréatique et de la pancréatite chronique calcifiante,* thèse pour l'obtention du diplôme de Doctorat en physiopathologie, (2013), université Paul Sabatier, Toulouse, France.
- 57. Jerbi Z., Abdennebi M.** *Étude du polymorphisme C677T du gène de la méthylène tétrahydrofolate réductase dans la population tunisienne.* Ann Biol Clin. (2005) ; 63 (5) : 487-91.

- 58. Frosst P et al.** *A candidate genetic risk factor for vascular disease : a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase.* Nat Genet. (1995) ; 10 : 111-3.
- 59. Tran P et al.** *Multiple transcription start sites and alternative splicing in the methylenetetrahydrofolate reductase gene result in two enzyme isoforms.* Mamm Genome. (2002) ; 13 : 483-92.
- 60. Jacques PF et al.** *Determinants of plasma total homocysteine concentration in the Framingham Offspring cohort.* Am J Clin Nutr . (2001) ; 73 : 613-21.
- 61. Goyette P. et al.** *Human methylenetetrahydrofolate reductase : isolation of cDNA, mapping and mutation identification.* Nat Genet. (1994) ; 7 : 195-200.
- 62. Ueland PM., Rozen R (eds).** *MTHFR polymorphisms and disease.* Georgetown: Landes Bioscience/Eurekah.com. (2005): 210 p.
- 63. Goyette P et al.** *Human methylenetetrahydrofolate reductase : isolation of cDNA, mapping and mutation identification.* Nat Genet. (1994) ; 7 : 195-200.
- 64. Goyette P et al.** *Structure génique de l'homme et de la souris méthylène-tétrahydrofolate réductase (MTHFR),* Mamm Genome. (1998); 9 :652-656.
- 65. Monika GOS., Agnieszka SZPECHT-POTOCKA.** *Genetic basis of neural tube defects. II. Genes correlated with folate and methionine metabolism;* J. Appl. Genet. 43(4), (2002), pp. 511-524.
- 66. DAlessio AC, M. Szyf** *épigénétique tête-à-tête: la relation bilatérale entre les modifications de la chromatine et la méthylation de l'ADN.* Biochem Cell Biol. (2006); 84 (4) :463-76.
- 67. Gao CM, Tang JH, Cao HX, Ding JH, Wu JZ, Wang J et al.** *polymorphisme de la MTHFR, l'apport alimentaire en acide folique et le risque de cancer du sein chez les femmes chinoises.* J Hum Genet. (2009); 54 (7) :414-8.
- 68. Duthie SJ.** *La carence en acide folique et cancer: les mécanismes de l'instabilité de l'ADN.* Br Med Bull. (1999); 55 (3) :578-92.
- 69. Ames BN.** *dommages à l'ADN de carences en micronutriments est susceptible d'être une cause majeure de cancer.* Mutat Res. (2001); 475:7 - 20.
- 70. Kang SS, Zhou PW, Sora J, et al.** *Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase in patients with coronary artery disease.* Metabolism. (1988) ; 37 : 611-3.

- 71. Franco RF, Aragio AG, Guerreiro JF, et al.** *Analysis of the C677T mutation of the methylenetetrahydrofolate reductase gene in different ethnic groups.* *Thromb Haemost*(1998) ; 79 : 119-21.
- 72. Chango A, Parrot-Roulaud F, Nicolas JP.** *Génétique moléculaire de la reméthylation de l'homocystéine.* *Ann Biol Clin* (1999) ; 57 : 37-42.
- 73. Jean-Louis guéant et al.** *Bull. Acad. Natle Méd.,* 2012, 196, no 9, 1829-1842, séance du 19 juin 2012.
- 74. VALDIGUIE. P.** *Biochimie clinique.* Médicales internationales. 2^{eme} édition (1995).Paris.
- 75. DELPECH M.** *les techniques d'extraction de l'ADN à partir d'un échantillon sanguin.* *Ann Biol Clin.* (1997) 57 :77-84.
- 76. RUMEAU-ROUQUETTE C., BLONDEL B., KAMINSKI M.** *Epidémiologie : Méthode et pratique.*
- 77. FRANOIS D., DRUCKER J., MOREN A.** *Epidémiologie d'intervention.* Editions Arnette (1992) :589.
- 78. Encyclopedie canadienne de Cancer,** *Journal of Gastrointestinal Cancer.* 2012
- 79. Fournet J.** *Cancer du Pancréas,* 2003.
- 80. MediResource.** *Cancer pancréatique,* 2012.
- 81. Lebeau. JP,** *Dictionnaire médical,* (2010).
- 82. Société canadienne du cancer**(2012).
- 83.Lorenzo D., Botto, Quanhe Yang.** **National Office of Public Health Genomics,** HuGENetTM, November 2,(2007).
- 84. Larsson. S et al.** *Folate intake, MTHFR Polymorphisms, and Risk of Esophageal, Gastric, and Pancréatic Cancer,* (2006).
- 85. Donghni li et al.** *5. 10 méthylènetetrahydrofolate reductase polymorphisms and the risk of Pancréatic cancer,* (April2005).
- 86. Hruban RH. et al.** *Progression model for pancreatic cancer.* *Clin Cancer Res.* (2000); 6(8):2969-72.
- 87. lorenzo D., Botto Quanhe Yang.** *National Office Of Public Health Genomics,* HuGen et TM, November 2, (2007).

Année Universitaire : 2013/2014

Présenté par : KHANFRI Zakaria
DABBACHE Maissa

Cancer du pancréas Etude Rétrospective (2014-2012) et, Etude génétique du polymorphisme C677T de la méthylènetétrahydrofolate réductase (*MTHFR*) dans l'Est Algérien

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en génétique moléculaire.

Résumé

Notre étude sur des patients présentant un cancer du pancréas, a, révélé, la non implication de l'allèle T, dans la survenue d'un cancer du pancréas.

Les résultats de notre étude montrent que, Le génotype homozygote muté TT, correspond à une fréquence de 23,53% chez les cancéreux, et de 11,76% chez les témoins; Ainsi l'allèle T présente une fréquence de 38,24% chez les cancéreux ; alors que chez les témoins, sa fréquence est de 35,29%.

Dans toutes les études de taille suffisante pour se prêter à ce type d'analyse, la mutation C677T de la *MTHFR* est liée au cancer du pancréas indépendamment des autres facteurs de risque. Cela, ne signifie pas, autant que la mutation C677T de la *MTHFR*, ne soit pas corrélée, à, certains de ces facteurs. Par exemple comme le suggèrent certaines études, la mutation C677T est, plus fréquente chez le sujet âgé, et chez le sexe masculin exposé au tabac, et elle présente un gradient nord sud sur le globe terrestre, c'est-à-dire là où le stress psychosociologique dû à la vie moderne, est vraiment extrême.

À ce stade de notre travail nous ne pouvons tirer des conclusions en ce qui concerne l'implication, de l'allèle T, et la survenue, d'un cancer de pancréas, et/ou la localisation de l'atteinte, au niveau de l'organe, en question, comme rapporté dans la littérature.

Les travaux doivent se poursuivre; il nous apparait intéressant d'élargir l'échantillon, en étudiant ce polymorphisme avec d'autres facteurs génétiques et non génétiques, pour qu'on puisse élucider l'étiologie de ces complexes pathologies.

Mots clés : Cancer du pancréas, Etude Rétrospective, *MTHFR*, polymorphisme

Structure de recherche : Service d'Oncologie Médicale du CHU de Constantine.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de Biologie et de Génétique Moléculaire de l'UC3.

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mr. REZGOUNE Mouhamed Larbi (MA.A- Université Mentouri Constantine1)

Rapporteur : Mlle. BENLATRÈCHE Moufida (MA.A- Université Mentouri Constantine1)

Examineurs : Mlle. BOUDAKHANE Ibtissem (MA.A- Université Mentouri Constantine1)

Date de soutenance: 24/06/2014

