

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



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

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Génétique Moléculaire*

Intitulé :

Le cancer du col de l'utérus : étude moléculaire

Présenté et soutenu par : KHEDIRI IMEN

Le : 01 /07/2015

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mme REZGOUNE (MC.A Université Frère Mentouri-Constantine).

Rapporteur : Mme SEMMAME (MA.A Université Frère Mentouri -Constantine).

Examineur : Mme BECHEKRI (MA.A Université Frère Mentouri- Constantine).

Année universitaire
2014 - 2015

REMERCIEMENTS

REMERCIEMENTS

A Mme SATTA.D, la responsable de la filière génétique

Je vous remercie de m'avoir aidée, tout au long de la réalisation de ce travail avec vos conseils.

A mon encadreur Mme SEMMAME

Veillez accepter l'expression de ma reconnaissance et de mes remerciements

sincères

A Mme Rezgoune

Vous me faites l'honneur de présider ce travail. Soyez assurée madame de mes sincères gratitude

A Mme BECHEKRI

Je vous remercie d'avoir accepté d'examiner mon modeste travail, Je vous témoigne ma profonde considération

A Mes enseignants de génétique

Je vous remercie de m'avoir formés durant toutes ces années et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail

A toute l'équipe du laboratoire

De Biologie et génétique moléculaire, à leur tête le professeur Abadi

A Dr SABRINATOUATI, Je vous remercie de m'avoir aidé pour compléter ce travail

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A toutes les femmes atteintes de cette maladie

A mes chers parents, qui m'ont toujours poussé et motivé dans mes études

A mes sœurs et mes frères de l'amour et l'affection que je porte pour vous, je

Vous souhaite une bonne continuation dans votre vie.

A mes très chères tantes, oncles, cousins et cousines

A mon cher fils wassim

A mon cher époux Arroum walid , je le remercie pour sa compréhension et soutien

Permanent tout au long de mes études universitaires

A mes proche ami(e)s et a toute ma famille :khédiri, Rehahla et à ma Belle-famille

Arroum. A toutes les personnes que je n'ai pas cité

Que dieu le puissant m'éclaire le bon chemin de ma vie

Et tout ce qui me s'emble flou et sombre

Merci A tous

Khédiri Imen.

Liste des abréviations

ADN :acide désoxy ribonucléique

ARN : acide ribonucléique

BBP :Bleu de Bromophénol

BSA : Bovine Serum Albumin

BET :Bromure d’Ethidium

CIRC : Centre Internationale de Recherche sur le Cancer

CMH : Complexe Majeur d’histocompatibilité Humain

CREB : C-AMP responseelement-binding

CIN : Néoplasie Intra épithéliales Cervicales

CIS : cancer in situ

DO : Densité Optique

EDTA : Ethylène Diamine Tétra-Acétique

ESS : Sarcomes du Stroma Endométrial

E6AP :E6 Associated protein

FADD : Fas-Associated Protein with Death Domain

FIGO : Fédération Internationale Gynéco Obstric

FCV : frottis Cervico –Vaginal

FCU : frottis cervico_ utérin

G1/S : Gap1 de la phase S(synthèse)

HPV : Papillomavirus Humain

HLA : Humane Leucocyte Antigène

HAT :Hictone Acétyl transférase

HPV-HR : HPV Haut Risque

HPV-BR : HPV Bas Risque

H1N1:Haemophilus influenzae

HTERT:Human Telomerase Reverse Transcriptase

HSIL:High Grade Squamous intraepithelial Lésion

LSIL:Low Grade Squamous intraépithélial Lésion

LCR : Long Control Région

MTHFR : méthylène-tétrahydrofolate réductase

OR : Odds Ratio

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PCR :Polymérase Chain Réaction

PRb : Protéine de Rétinoblastome

P53 : protéine 53KDa

SDS : Sodium Dodécyle Sulfate

TE : Tris Ethylène Diamine Tétracétique.

TNM : Tumeur Ganglion Métastase

VLP : Virus-Like-Particle

VIN : Néoplasie Intraépithéliale de la vulve

Liste des figures

Figure1: l'appareil génitale féminin.....	3
Figure2 : les différentes parties du col de l'utérus.....	5
Figure3 : Représentation schématique de la zone de jonction squamo- cylindrique.....	6
Figure4 : Les différents types du cancer du col de l'utérus.....	9
Figure 5 : l'Organisation génomique de l'HPV16.....	19
Figure 6: L'expression des protéines virales dans les différentes couches de l'épithélium.....	20
Figure 7 : l'histoire naturelle histologique de l'infection aux papillomavirus Humains.....	21
Figure 8 : Répercussions métaboliques de l'activité de la MTHFR.....	25
Figure 9: localisation cytogénétique du gène de la MTHFR.....	25
Figure 10: Structure du gène de la MTHFR avec la localisation des protéines et de mutations connues.....	26
Figure 11 : Représentation schématique de 41 mutations graves du gène MTHFR.....	27
Figure 12: Répartition selon les tranches d'âge.....	36
Figure1 3: Répartition des sujets malades selon le type du cancer.....	37

Liste des tableaux

Tableau 1 : répartition des sujets malades selon les différents types du cancer du col de l'utérus.....	37
Tableau 2: Fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme C677T de la <i>MTHFR</i> chez la population témoin et la population malade.....	38

Sommaire

Remercîment

Dédicace

Liste d'abréviation

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

Partie bibliographique

Chapitre1 : Anatomie de l'appareil génital de femme

1- l'appareil génital féminin.....3

1-1 Les ovaires.....3

1-2 Les trompes de Fallope.....4

1-1-2 l'utérus.....4

1-1-3 le vagin.....4

1-1-4 la vulve.....5

2- le col de l'utérus.....5

2-1 la structure du col de l'utérus.....5

2-1-1 Zone de l'excol.....5

2-1-2 Zone de l'endo-col.....6

2-1-3 Zone de jonction.....6

2-2 Les fonctions du col de l'utérus.....7

3- Les différentes maladies du col de l'utérus.....7

3-1 La dystrophie du col utérin.....7

3-1-1 l'ectropion(Ectropie).....	7
3-1-2 les cervicales.....	7
3-1-3 les polypes.....	7
3-2 les dysplasies.....	8
3-3 le cancer du col.....	8

Chapitre2 : le cancer du col de l'utérus

1-Définition du cancer du col de l'utérus	9
2- Les types du cancer du col de l'utérus.....	9
2-1 Le carcinome épidermoïde	10
2-1-1 Le carcinome in situ	10
2-1-2 Le carcinome micro-invasif	10
2-1-3 Le carcinome invasif	10
2-2 Les adénocarcinomes	10
2-2-1 Aadénocarcinome « in situ ».....	11
2-2-2 Adénocarcinomes invasif.....	11
2-3 Les sarcomes et les mélanomes.....	11
3-Evolution et classification du cancer du col de l'utérus.....	11
A- La classification Richart.....	12
B- La classification Bethesda.....	12
4-Epidémiologie.....	12
5-Cause et facteurs de risque du cancer du col de l'utérus	13
5-1 Le virus du papillome humain(HPV).....	13
5-2 Les facteurs de risque.....	13
5-2-1 Le tabagisme.....	13
5-2-2 Les relations sexuelles.....	13
5-2-3 Le nombre d'enfants.....	13
5-2-4 La contraception orale.....	14

5-2-5 Le Statut immunitaire	14
5-2-6 Les facteurs génétiques.....	14
5-2-7 L'alimentation.....	14
6-Les symptômes.....	15
6-1 Les formes symptomatiques	15
6-2 Les formes évoluées.....	15
7-Diagnostic du cancer du col de l'utérus.....	15
8-Le traitement du cancer du col de l'utérus.....	16
9-La prévention.....	17

Chapitre 3 : La physiopathologie du cancer du col de l'utérus

1-Les Papillomavirus.....	18
1-1 Mode de transmission des papillomavirus humains (HPV).....	19
1-1-1 Transmission sexuelle des HPV.....	19
1-1-2 Transmission non sexuelle des HPV.....	19
2-La physiopathologie du cancer du col de l'utérus	20
2-1-Le développement de la maladie.....	21
2-2 Interaction des gènes du virus HPV avec les protooncogènes	22
2-2-1 Interaction et mutation du gène p53.....	22
2-2-2 La protéine pRb et HPV.....	22
2-3- Immortalisation cellulaire.....	23

Chapitre4 : La MTHFR

1- La protéine MTHFR	24
1-1 Le Rôle de la MHFR	24
2- Le Gène de la MTHFR.....	25
3- Les polymorphismes de la MTHFR.....	26
3-1 Le polymorphisme C677T de la MTHFR.....	27
4-La relation entre le gène MTHFR et le cancer du col de l'utérus	28

Partie pratique**I-Matériel et Méthode**

1-Population d'étude.....	29
1-1-Population malade.....	29
a-Critères d'inclusion.....	29
b-Critères d'exclusion.....	29
1-2 Population Témoin.....	29
a -Critères d'inclusion.....	29
b-Critères d'exclusion.....	29
2-Prélèvements sanguins	30
3-Extraction de l'ADN	30
3-1- Principe.....	30
3-2- Détermination de la pureté.....	30
3-3- Détermination de la concentration.....	31
4-Le génotypage de la MTHFR	31
4-1- Amplification par PCR.....	32
4-2- Le contrôle des produits PCR	32
4-3-Digestion des produits.....	33
4-4-Electrophorèse des produits de digestion.....	34
5-L'étude statistique.....	35
5-1 Calcul de l'Odds Ratio (OR).....	35
5-2 Le choix de la « p value ».....	35

II Résultats et discussion

1-Répartition des malades selon l'âge.....	36
2- Classifications des types du cancer du col de l'utérus.....	37
3-Etude du polymorphisme C677T de la <i>MTHFR</i>	38
-Conclusion.....	41
-Référence bibliographique	
-Annexes	
-Résumé	

INTRODUCTION

Introduction

Dans le monde, le cancer du col de l'utérus constitue un important problème de santé. Il est au deuxième rang des cancers féminins avec environ 7400 000 nouveaux cas et 230 000 décès chaque année. Son taux d'incidence varie d'un pays à l'autre et reste plus élevé dans les pays en voie de développement, où il représente la principale cause de décès par cancer chez la femme. Alors que dans les pays industrialisés, le dépistage systématique par pratique de frottis cervico-vaginal a permis une importante baisse de la mortalité due à ce cancer (**Alain et al., 2010**).

Ce cancer se développe progressivement, à partir de lésion dites précancéreuses. Ces lésions peuvent disparaître spontanément, persistent ou évoluent progressivement, d'abord vers une forme précoce de cancer, appelée cancer *in situ*, puis vers une forme plus avancée appelée cancer invasif.

Le cancer du col de l'utérus est provoqué par des infections dues à certains papillomavirus (HPV). La transmission virale s'effectue le plus souvent par contact direct de la peau et des muqueuses. La multiparité, la précocité des rapports et le nombre de partenaires représentent donc des facteurs augmentant le risque d'infection (**Segondy et al., 2008**).

La majorité des tumeurs contiennent le génome viral intégré au génome cellulaire dont certains génotypes à haut risque et en particuliers HPV 16 et 18, sont impliqués dans 70% des cas. Le potentiel oncogène des HPV est lié à leur capacité de transformation et d'immortalisation des cellules infectées via l'expression des oncoprotéines virales E6 et E7 en inhibant l'action des protéines suppresseur de tumeur p53 et Rb.

Les études récentes apportent des arguments en faveur d'une relation entre le polymorphisme C677T de la MTHFR et le cancer du col de l'utérus. La méthylène-tétrahydrofolate réductase (MTHFR) est une enzyme essentielle à la régulation du métabolisme des folates en méthionine. Le folate joue un rôle clé dans la synthèse de l'ADN, la réparation et la méthylation, et cela forme la base des explications mécanistes pour un rôle putatif de l'acide folique dans la prévention du cancer. Le rôle de l'acide folique dans ces processus peut être modulé par le génotype pour la variante thermolabile C677T commune de méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR). La plupart des points preuves d'un effet protecteur de ce polymorphisme pour le risque de cancer colorectal, mais l'effet sur le risque de cancer du col utérin n'est pas claire.

A cet effet nous avons assignés comme objectifs d'explorer les facteurs de risque les plus courants chez les sujets avec un cancer du col de l'utérus, déterminer le type du cancer le plus fréquent et voir une possible association entre le polymorphisme C677T du gène de la méthylènetétrahydrofolate réductase (MTHFR) et la carcinogenèse du col utérin.

PARTIE

BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

APPAREIL GENITAL

FEMININ

1- L'appareil génital féminin

L'appareil génital féminin est constitué de 2 glandes appelées les ovaires situées dans la partie basse de l'abdomen, intra péritonéales, une à droite et l'autre à gauche. Les ovaires sont le lieu de l'ovulation. L'ovocyte expulsé par l'ovaire est récupéré par les trompes qui constituent des canaux conduisant les ovocytes jusqu'au niveau de l'utérus, muscle creux capable d'une formidable distension pendant la grossesse. A la base de l'utérus, le col de l'utérus plus restreint et plus fin, s'ouvre dans une cavité entourée d'une membrane fine élastique qui est le vagin ; ce dernier est le lieu de l'accouplement. Le vagin s'ouvre à son extrémité inférieure par l'osmium vaginal qui présente deux reliefs cutanés : les petites lèvres et les grandes lèvres.

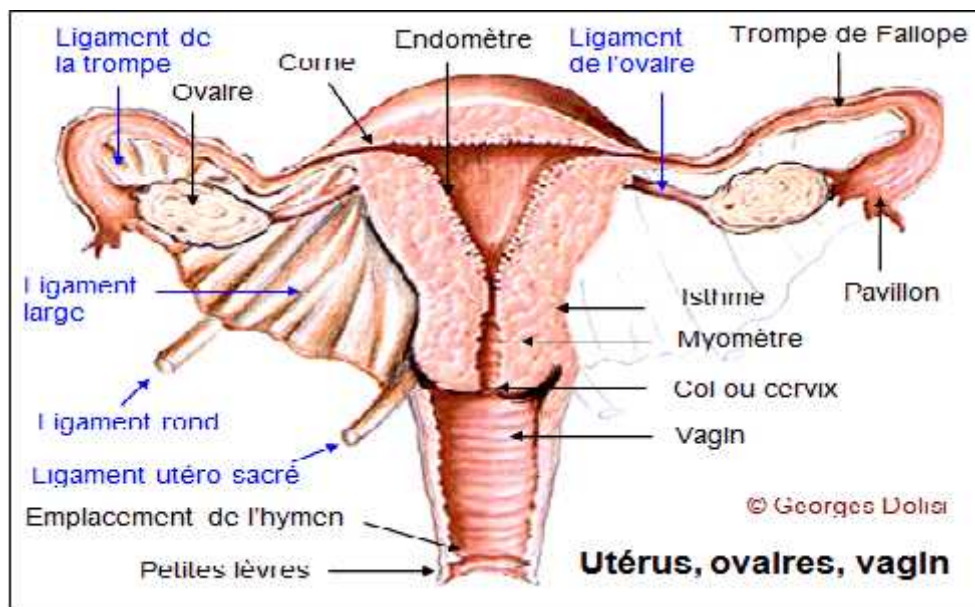


Figure1 : l'appareil génital féminin (Stevens et al.,2002)

1-1 Les ovaires

Les ovaires ou gonades femelles, sont deux glandes qui ressemblent sur le plan du volume et la forme à des amandes non écalées. Les ovaires descendent jusqu'au détroit supérieur du bassin durant le troisième mois du développement embryonnaire (Compel et al.,1996). Les ovaires sont les organes qui produisent les ovules. Ils ont également pour fonction la sécrétion des hormones sexuelle féminines (estrogène et progestérone) qui interviennent dans le développement des caractères sexuels secondaires, dans le cycle

menstruel, dans la nidation de l'œuf et dans le développement du placenta (**Camus et al.,2006**).

1-2 Les trompes de Fallope

Les trompes de Fallope mesurent de 10 à 14 cm de longueur. Elles relient les ovaires qu'elles coiffent à l'utérus. La lumière des trompes de Fallope est tapissée par un épithélium de revêtement, dont la forme et les fonctions varient en fonction du cycle menstruel. Elles sont aussi le site de fécondation de l'ovule par le spermatozoïde (**Bouilland et al.,2004**).

1-3L'utérus

L'utérus est un organe musculéux creux en forme de poire inversée qui se situe dans la région hypogastrique. Chez une femme adulte nullipare, sa taille moyenne est de 7,5 cm de long pour 5 cm de large et 2,5 cm d'épaisseur, il est plus gros après la grossesse, et s'atrophie après la ménopause (**Camus et al.,2006**).

L'utérus est subdivisé anatomiquement en 3 parties :

- le fundus de l'utérus : partie supérieure en forme de dôme.
- le corps de l'utérus : partie centrale longitudinale
- le col de l'utérus : partie inférieure et étroite qui débouche sur le vagin, et est extra péritonéale (**Ramé et al.,2007**).

L'isthme est une région transitoire entre le corps et le col de l'utérus mesurant environ 1cm de long (**Gompel et al.,1996**).

1-4 Le vagin

Le vagin est un conduit musculo-membraneux qui s'étend du col utérin à la vulve, il est situé entre la vessie et l'urètre en avant et le rectum en arrière, son rôle est la réception des spermatozoïdes lors de l'éjaculation et c'est par le vagin que se fait l'écoulement des règles et des leucorrhées. La paroi vaginale est constituée de l'intérieur vers l'extérieur par :

- la muqueuse : elle est constituée par un épithélium de revêtement pavimenteux stratifié, non kératinisé délimitant la cavité vaginale, il est sensible aux variations des taux hormonaux ovariens (œstrogène+progestérone) il repose sur une lame basale qui à son tour fait jonction avec un tissu conjonctif sous-jacent dense.

- la musculuse : elle est formée de deux couches de muscles lisse : l'une externe épaisse, et l'autre interne mince (**Camus et al.,2006**).

1-5 La vulve

La vulve est un terme collectif pour l'ensemble des organes génitaux externes de la femme, la vulve est occupée par une cavité médiane, au fond de laquelle s'ouvrent l'urètre et le vagin. Cette cavité est limitée de chaque coté par deux replis cutanéomuqueux qui sont la grande lèvre et la petite lèvre (**Ramé et al.,2007**).

2-Le col de l'utérus

2-1 La structure du col de l'utérus

Le col de l'utérus fait environ 1/5 de l'organe et mesure généralement 2 à 3cm de longueur, 2 à 3cm d'épaisseur avec un canal cervical de 2 à 3 mm de diamètre, il est surtout fait de tissu conjonctif et de muscles. Il est divisé en 3 parties : l'exocol, l'endocol, et la zone de jonction.

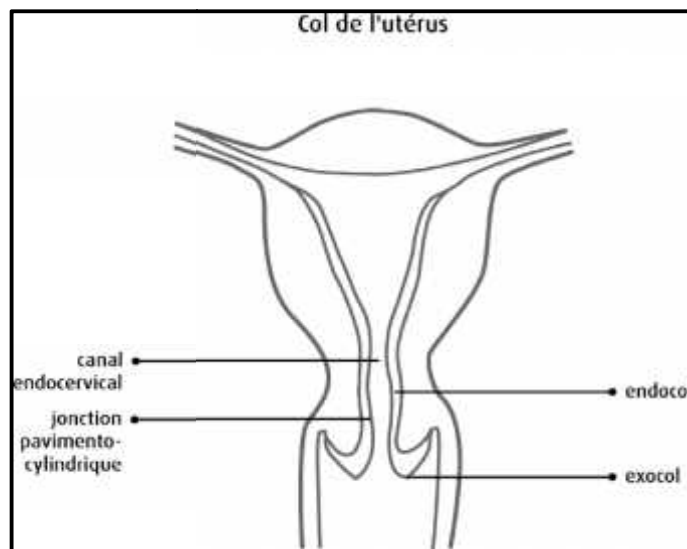


Figure2 : les différentes parties du col de l'utérus (Bouhadeb et al.,2005)

2-1-1 Zone de l'exocol

Elle représente la portion du col qui s'étend à l'extérieur de l'orifice externe et visible lors d'un examen clinique, il est revêtu d'un épithélium malpighien (épithélium pavimenteux) non kératinisé. Cet épithélium est identique et en continuité avec l'épithélium de revêtement du vagin. L'exocol comporte à sa partie centrale l'orifice externe (**Bouhadeb et al .,2005**).

2-1-2 Zone de l'endo-col

Elle représente la portion du col située à l'intérieure de l'orifice externe et non visible spontanément lors de l'examen clinique. Le canal endocervical qui traverse le col, met en relation la cavité utérine avec le vagin. Il s'étend de l'orifice interne à l'orifice externe (Sellors., 2003 ; Bouhadeh et al.,2005).

2-1-3 Zone de jonction

C'est la zone de transition entre l'épithélium malpighien exocervical et l'épithélium glandulaire endocervical. Cette transition se fait de manière abrupte, elle se situe à l'orifice externe. Durant la période d'activité génitale, sous l'influence de facteurs hormonaux, il y a une tendance physiologique à l'éversion de l'épithélium glandulaire. Cette zone éversée va subir une métaplasie malpighienne, c'est-à-dire un remplacement de l'épithélium glandulaire par un épithélium malpighien d'architecture normale (Baldauf., 2006).

On lui donne aussi le nom de zone de transformation, puisque les grandes cellules cylindriques se transforment constamment en cellules plates et écailleuses, en particulier à la puberté et en période de procréation. C'est dans cette zone de transformation que les changements précancéreux se produisent et que la plupart des cancers du col utérin prennent naissance.

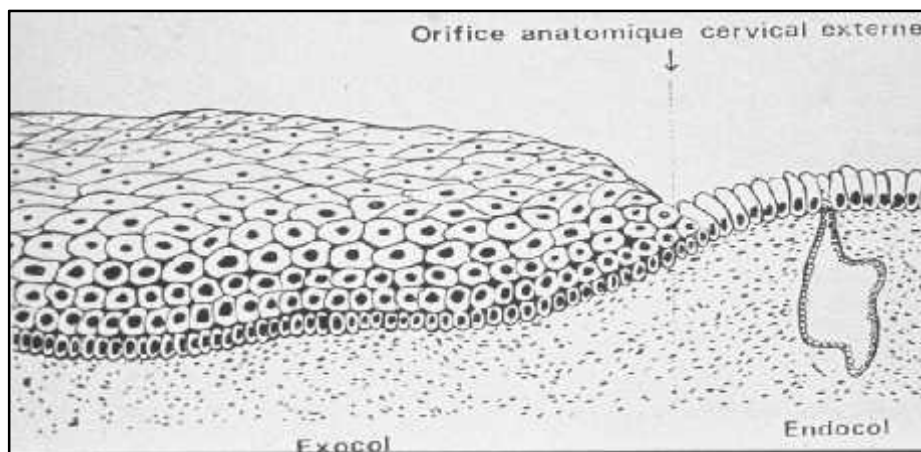


Figure3 : Représentation schématique de la zone de jonction squamo- cylindrique
(Baldauf.,2006)

2-2 Les fonction du col de l'utérus

Le col de l'utérus est l'extrémité de la partie rétrécie de l'utérus. Il s'ouvre dans le vagin par une petite ouverture qui permet l'écoulement du sang menstruel. Le col de l'utérus agit comme une barrière : il contribue à empêcher les infections d'atteindre l'utérus. Pendant la grossesse, le col de l'utérus demeure étroitement fermé, ce qui contribue à maintenir le fœtus à l'intérieur de l'utérus. Lorsque le bébé est prêt à naître, le col de l'utérus s'ouvre d'une dizaine de centimètres pour permettre son passage (Marie., 2005).

3- Les différentes maladies du col de l'utérus

3-1 La dystrophie du col utérin

Cette pathologie correspond à un déséquilibre des constituants cellulaires du col utérin apparaissant au cours de la vie d'une femme, soit à la suite de variations physiologiques ou alors à la suite d'une infection. Parmi les dystrophies trois sont à retenir :

3-1-1 L'ectropion (Ectropie)

Principalement observé chez la femme en période d'activité génitale, il correspond à une extériorisation de l'épithélium glandulaire recouvrant l'exocol. Cependant, il n'est pas considéré comme une entité pathologique et ne requiert aucun traitement en l'absence d'infection, l'ectropion a la plus souvent tendance à disparaître spontanément avec le temps.

3-1-2 Les cervicales

Ils correspondent à des inflammations non spécifiques, de l'exocol ou de l'endocol utérin. Différents germes ont été incriminés tel que : *Trichomonas vaginales*, mycoplasmes génitaux et d'autres. Ces inflammations conduisent à une leucorrhée abondante et verdâtre de l'exocol et l'écoulement purulent de l'endocol pouvant aller jusqu'à la stérilité.

3-1-3 Les polypes

Ce sont des néoformations soit muqueuses ou fibreuses, les polypes muqueux sont de natures bénignes, de taille variable et qui se développent aux dépens de l'épithélium glandulaire en restant toujours reliés par un pédicule. Ils sont caractérisés par une couleur rouge brillante et d'une consistance souple.

Les polypes fibreux sont des fibromes endocervicales, apparaissant au niveau du fond utérin ou sur le bord latéral, ils sont caractérisés par une couleur rouge foncé et pouvant parfois être névrotique (**Blanc., 2005**).

3-2 Les dysplasies

Une dysplasie cervicale est un changement précancéreux des cellules du col de l'utérus, il y a trois types de dysplasies cervicales : faible, modérée, et sévère. Les faibles dysplasies sont les plus courantes, probablement sans réelle maladie. Les dysplasies faibles représentent généralement la réponse tissulaire au virus HPV. Plus de 70% des femmes ayant une telle dysplasie retourneront spontanément à l'état normal sans aucun traitement. Elles peuvent cependant évoluer vers les dysplasies modérées (CINII) et sévères (CINIII) que l'on traite étant donné la forte probabilité d'évolution vers le cancer cervical (**Dronsbar., 2012**).

3-3 Le cancer du col

Le cancer du col de l'utérus correspond au développement d'une tumeur maligne au sien de la zone de transformation, les caractéristiques liées à cette pathologie seront développées dans le chapitre suivant.

CHAPITRE II

LE CANCER DU COL

DE L'UTÉRUS

1-Définition du cancer du col de l'utérus

Le cancer du col de l'utérus est une maladie des cellules de la muqueuse du col de l'utérus. Dans très grande majorité des cas c'est le papillomavirus humain ou HPV, un virus qui se transmet par voie sexuelle, qui est à l'origine de la maladie, très fréquent, ce virus disparaît la plupart du temps naturellement. Parfois, il persiste au niveau de la muqueuse du col de l'utérus et avec le temps il peut en modifier les cellules créant des lésions dites précancéreuses. Ces lésions peuvent disparaître spontanément, persister ou évoluer progressivement d'abord vers une forme précoce de cancer appelée cancer in situ, puis vers une forme plus avancée appelée cancer invasif (Baldauf., 2006).

2-Les types de cancer du col de l'utérus

Histologiquement il existe trois types de cancer du col de l'utérus : les carcinomes épidermiques qui représentent 80 à 90 % des lésions invasions, les adénocarcinomes retrouvés dans 10 à 15 % des cas et des tumeurs encore plus rares tel que les sarcomes et les mélanomes (Morice et al.,2005).

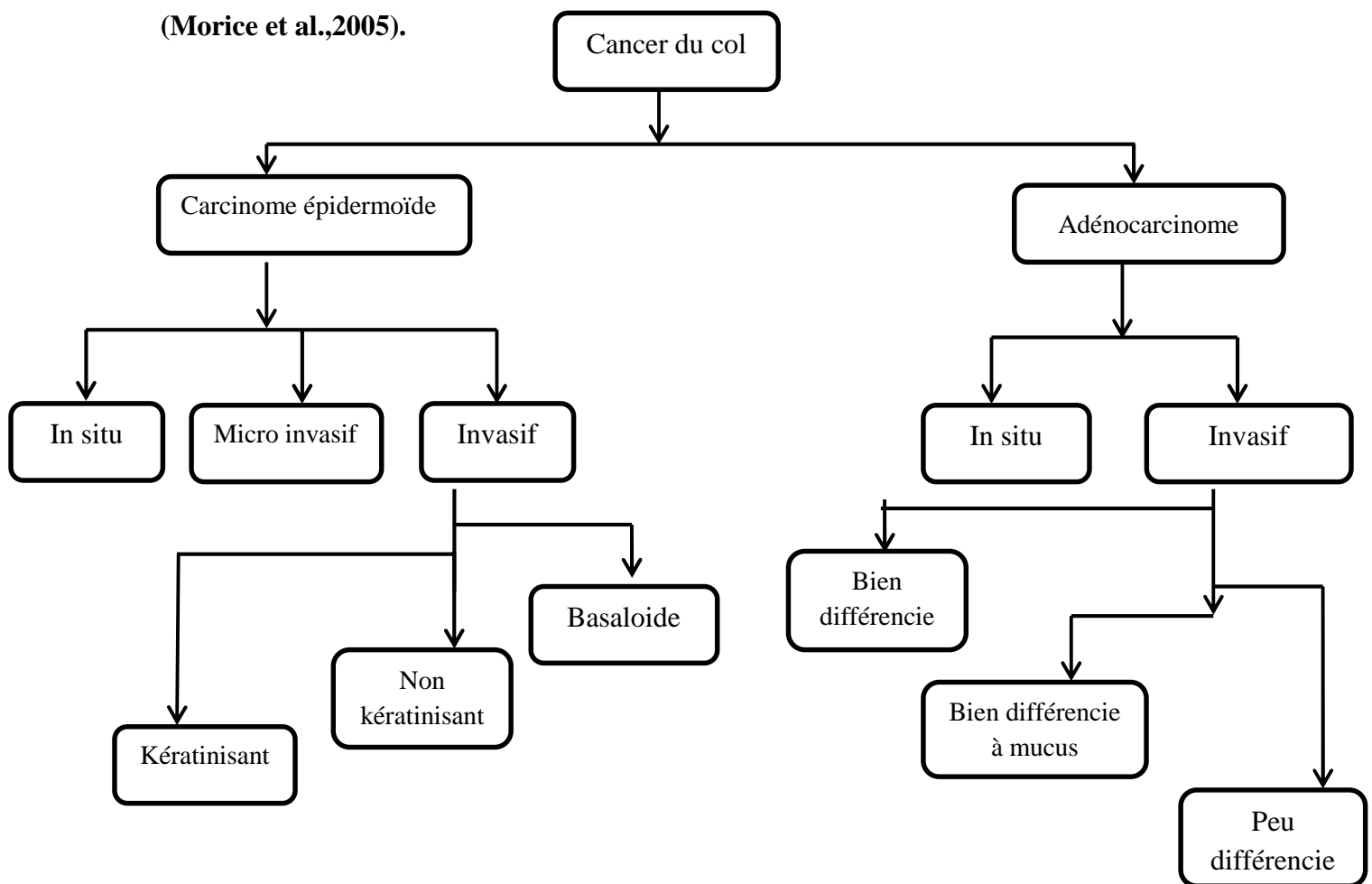


Figure4 : Les différents types du cancer du col de l'utérus (Morice et al.,2005)

2-1 Le carcinome épidermoïde

Il est développés dans l'exo-col à partir des cellules épidermoïdes normalement présente sur l'exo-col (carcinome épidermoïdeorthoplasique) et surtout à partir de la zone de jonction et dans l'endocol, après changement de la muqueuse glandulaire en muqueuse épidermoïdes (carcinome épidermoïde métaphasique) (**Boubli et al .,2005**).

2-1-1 Le carcinome in situ

Dans le carcinome in situ il y a une prolifération de cellules épithéliales sans masse tumorale apparente, sans franchissement de la membrane basale. Le carcinome in situ s'oppose au carcinome invasif dont les cellules envahissent le tissu conjonctif.

A l'examen histologique, ce carcinome peut être détecté par l'existence de signe cytologique de malignité touchant toutes les couches cellulaires de l'épithélium et à l'origine d'une discontinuité nette entre l'épithélium tumoral et l'épithélium normal, il s'agit d'une forte densité cellulaire, une basophilie cytoplasmique et une augmentation du rapport nucléocytoplasmique (**Stevens et al., 2004**).

2-1-2 Le carcinome micro-invasif

Dans le carcinome micro-invasif il existe une rupture de la membrane basale et une invasion du stroma par les cellules malignes, le potentiel métastatique de la lésion est encore limité.

2-1-3 Le carcinome invasif

Macroscopiquement les cancers invasifs sont, endopythiques ou ulcérant. Ils sont classés de façon classique en trois grades selon le degré de différenciation lié à la kératinisation, au pléiomorphisme nucléaire et à l'activité mitotique (**Baldauf.,2006**) ce type comprenant :

- a- Le carcinome épidermoïde invasif kératinisant (bien différenciée)
- b- Le carcinome invasif non kératinisant à grandes cellules (moyennement différencié)
- c- Le carcinome invasif basaloïde non kératinisant à petites cellules

2-2 Les adénocarcinomes

Ils sont développés à partir des cellules épithéliales du canal endocervical et des glandes. Ces adénocarcinome se développent dans l'endocol à partir des cellules normalement

présentes (carcinomes orthoplasique) dans les revêtements épithéliaux et dans les glandes et sont mucosécrétantes.

2-2-1 Adénocarcinome « in situ »

Il présente le précurseur immédiat de l'adénocarcinome infiltrant, caractérisé par une exfoliation de cellules malignes allongées ou cylindriques hyper chromatiques. Ces cellules pouvant être ciliées, sont isolées ou regroupées en petit amas empilé de manière pseudo stratifiée. Les nucléoles sont proéminent et assez nombreux, alors que le cytoplasme présente des vacilles ou du mucus (**Bouhadeh et al.,2005**).

2-2-2 Adénocarcinome invasif

C'est un carcinome développé à partir des glandes endocervicales après rupture de la membrane basale des glandes et les plans musculaires sous-muqueux (**Boubli et al.,2005**). Ces adénocarcinomes sont classés selon leurs degrés de différenciation en trois catégories :

- a- L'adénocarcinome bien différencié
- b- L'adénocarcinome bien différencié à mucus
- c- L'adénocarcinome peu différencié

2-3 Les sarcomes et les mélanomes

Les sarcomes du col utérin sont des tumeurs rares, représentant moins de 3% des tumeurs malignes du tractus génital féminin. Il s'agit d'un groupe de tumeurs, comprenant différents sous-types histologique avec des tumeurs pouvant être d'origine conjonctive pure, comme les léiomyosarcomes et les sarcomes du stroma endométrial (ESS),ou associer une composante conjonctive à une composante épithéliale, les tumeurs mixtes mésenchymateuses et épithéliales (carcino sarcomes).Alors que le mélanome malin primitif du col utérin et utérin est une variété histologique très rare de tumeur cervicale (**Collin.,2004**).

3-Evolution et classification du cancer du col de l'utérus

Les cancers du col utérin progressent généralement vers le bas (col de l'utérus et vagin), vers le haut (corps utérin) et latéralement vers les tissus qui entourent l'utérus. La propagation se fait aussi par les vaisseaux sanguines et lymphatiques, l'atteinte des organes de voisinage (vessie et rectum) est beaucoup plus tardive, la classification **FIGO** repose sur les données des examens. On utilise également comme pour tous les cancers la classification

TNM (tumeur, ganglions, métastase) elle se réfère toujours à l'utérus, aux tissus autour de l'utérus, et à la paroi pelvienne (**Lanz., 2010**).

A- La classification Richart

En 1968 Richart a introduit le terme de néoplasie cervical intra-épithélial (CIN) réduisant ces lésions à trois grades de 1 à 3 en fonction de leur sévérité :

-CIN 1 de bas grade ; les lésions occupent le tiers basal de l'épithélium

-CIN 2 de grade intermédiaire ; les lésions occupent les deux tiers de l'épithélium

-CIN 3 de haut grade tout l'épithélium est concerné par lésion

B- La classification Bethesda

En 1988 Bethesda a proposé deux groupes pathologiques :

-HSIL (High grade squamous intraepithelial lésion en Français : lésion malpighienneintraépithéliale de haut grade)

- LSIL (low grade squamous intrapithelial lésion ; en Français : lésion maipighienneintraépithéliale de bas grade) (**Solomon et al.,2002**).

4-Epidémiologie

Dans le monde, chaque année environ 47000 femmes développent un cancer du col de l'utérus et près de la moitié d'entre elle en meurent. Le cancer du col de l'utérus se situe au second rang des cancers de la femme en termes d'incidence après le cancer du sein (**Curado et al., 2007**).

Avec 300 cas recensés par an, l'Algérie est classée comme 7ème rang selon les donnes d'incidence dans le monde par la prévalence de cancer. Le manque de prévention et un dépistage trop tardif fait sans cesse augmenter ce chiffre. Les femmes algériennes découvrent leur cancer alors qu'elles sont à un stade avancé de la maladie, lorsque le cancer s'est déjà répandu sur l'appareil génital et le taux de survie diminue de 80% (**Boumazza, 2012**).

5-Cause et facteurs de risque du cancer du col de l'utérus

5-1 Le virus du papillome humain(HPV)

Vers le début des années1980, le professeur Zur Hausen identifie l'association entre certains papillomavirus humains et le cancer du col de l'utérus : les HPV sont aujourd'hui reconnus comme la cause du cancer du col (**Boushart., 2010**).

5-2 Les facteurs de risque

Certains facteurs favorisent la persistance de l'infection ou sont des cofacteurs de la carcinogenèse

5-2-1 Le tabagisme

Le tabagisme actif (+ de15 cigarettes par jour), ou passif, l'usage des produits du tabac et l'exposition à la fumée secondaire (fumée de tabac ambiante) ont tous deux été associés au développement du cancer du col de l'utérus. La fumée de cigarette contient beaucoup de substances qui causent le cancer (cancérogènes) et qui affectent de nombreuses parties du corps. Les chercheurs ont observé des sous-produits de la fumée de cigarette dans les cellules qui tapissent le col de l'utérus chez les femmes qui fument. On croit que ces substances nuisibles pourraient endommager les cellules et engendrer le cancer du col utérin. Le risque de développer un tel type de cancer augmente selon la durée du tabagisme et le nombre de cigarettes fumées chaque jour (**Ciraru et al., 1999**).Le risque de cancer est deux fois plus élevé chez les fumeuses que chez les non fumeuses(**Hildesheim et al.,2001**)

5-2-2 Les relations sexuelles

Le facteur de risque le plus important de l'infection au HPV est le comportement sexuel. La précocité des premiers rapports sexuels (moins de16 ans), du fait de l'immaturité de la zone de jonction exocol-endocol et les partenaires multiples (plus de 4) chez la femme constituent des cofacteurs associés au développement du cancer du col de l'utérus (**Castle et al., 2002**).

5-2-3 Le nombre d'enfants

Les grossesses multiples aient un effet traumatique ou immunosuppresseur cumulatif sur le col de l'utérus, facilitant ainsi la contraction d'une infection par le HPV (**Schneider et al., 1995**).Un autre mécanisme non absolument exclusif est l'effet hormonal produit par la

grossesse sur le col, qui pourrait avoir des incidences sur les éléments génomiques HPV qui sont réceptifs à la progestérone (Pater et al., 1994).

5-2-4 La contraception orale

L'utilisation au long cours de contraceptif oraux augmente le risque de cancer avec la durée de prise de contraceptifs oraux : l'augmentation est de 10% pour une utilisation de moins de 5ans, de 60% pour une utilisation de 5 à 9 ans et de 100% pour une utilisation de 10 ans et plus (Lanz., 2010).

5-2- 5 Le Statut immunitaire

La perturbation des défenses immunitaires locale et générale est considérée comme l'un des cofacteurs endogènes majeurs impliqués dans la carcinogenèse cervicale (Kjaer et al., 2001).

5-2-6 Les facteurs génétiques

Il s'agit de facteurs endogènes propres à chaque individu, beaucoup de gènes ont été à ce jour mis en évidence à l'étiologie du cancer du col de l'utérus (CCU). Nous citerons les gènes du complexe majeur d'histocompatibilité humain (CMH) codant pour les protéines présentatrices d'antigène de surface, le système HLA (humane leucocyte antigène). Certaines combinaisons alléliques particulières seraient associées à une augmentation de risque du cancer du col utérin : par exemple l'expression de l'allèle HLA-DQBI*0301 seul ou combiné avec l'allèle HLA-1*0401(Duport., 2007).

Cependant il a été aussi rapporté des cas où dans la même famille des sœurs ou des filles et leur mère ont présenté un cancer du col et ceci sans aucun facteur de risque décelable (Ciraru et al., 1999).

5-2-7 L'alimentation

Il y a un caractère plausible biologique en ce qui concerne l'effet de la diète dans le néoplasie du col utérin. Les caroténoïdes, les tocophérols et l'acide ascorbique sont des antioxydants efficaces qui peuvent arrêter les groupes réactifs intracellulaires et, par conséquent, éviter les dommages possibles à l'ADN. Le bêta carotène ; plus particulièrement sert de précurseur métabolique à l'acide rétinoïque qui agit en modulant la croissance et la

différentiation des cellules épithéliales. Les facteurs alimentaires peuvent également jouer un rôle dans l'immunité du col de l'utérus (Cox, 1995).

6-Les symptômes

Les stades précancéreux du cancer du col de l'utérus sont asymptomatiques, c'est pourquoi seuls les examens de dépistage permettent de les diagnostiquer.

Lorsqu'un cancer est présent ; les signes clinique varient selon la taille, la nature et le stade d'évolution de la tumeur. Les signes peuvent être totalement absents en particulier au début de la maladie (aux stades précédant le stade de cancer invasif) (Bard et al., 2002).

6-1 Les formes symptomatiques

Ces formes demeurent malheureusement les plus fréquentes en raison des échecs du dépistage mais surtout de son absence

- Les métrorragies provoquées par un rapport sexuel, peu abondantes, indolores, même capricieuses ou intermittentes, elles doivent évoquer le cancer invasif (Bard et al., 2002).
- Les métrorragies spontanées en l'absence de rapport sexuel (Bard et al., 2002).
- Les leucorrhées : sont également une symptomatologie gynécologique très banale

6-2 Les formes évoluées : elles peuvent se révéler par :

- Des douleurs à type de névralgie crurale ou obturatrice c'est-à-dire irradiant sur la face antérieure de la cuisse
- Des œdèmes des membres inférieurs
- Des symptômes vésicaux (cystite) ou des signes rectaux (crampes rectales). Une tumeur de grosse taille peut comprimer les organes voisins et pourra donc donner des signes urinaires ou des troubles fécaux (Berhm et al., 1999).

7-Diagnostic du cancer du col de l'utérus

Le cancer du col de l'utérus est l'un des cancers rares que l'on peut diagnostiquer et traiter tôt.

7-1 Les examens histologique et biopsique

7-1-1 L'examen colposcopique

La colposcopie a pour but de repérer des anomalies au niveau de la muqueuse du col utérin et d'en préciser la topographie au moyen d'un colposcope (**Laffaargue et al., 2002**).

7-1- 2 La biopsie

La biopsie consiste à exciser de petites régions du col sous contrôle colposcopie, pour établir un diagnostic histologique, à l'aide d'une pince à biopsie, un ou plusieurs petits fragment de tissus (1 à 3 mm de large) sont prélevés à partir des régions anormales du col.

L'examen histologique des lésions assure le diagnostic qui permettra d'évaluer le grade des lésions (caractère précancéreux ou cancéreux, degré de gravité et étendue) de façon à adapter le traitement à chaque cas (**Fink., 2010**).

8-Le traitement du cancer du col de l'utérus

Plusieurs méthodes thérapeutiques sont adoptées dans le cas du cancer du col utérin.

8-1 La chirurgie

La chirurgie est principalement utilisée pour traiter les tumeurs limitées au col de l'utérus c'est-à-dire qui ne se sont pas propagées au-delà. La chirurgie a pour but de supprimer la totalité de la tumeur et d'éliminer le risque de récurrence (**Morice., 2008**).

8-2 La radiothérapie

La radiothérapie utilise des rayonnements ionisants pour détruire les cellules cancéreuses. La radiothérapie du cancer du col de l'utérus repose sur deux techniques : la radiothérapie externe et la curiethérapie (radiothérapie interne). Elles peuvent être utilisées seules ; mais souvent ; elles sont associées (**Haie-Meder., 2010**).

8-3 La chimiothérapie

La chimiothérapie repose sur l'administration de médicaments anticancéreux. Elle est aussi appelée traitement médical. Lorsqu'une chimiothérapie est utilisée pour traiter un cancer du col de l'utérus, elle est très souvent associée à une radiothérapie dans le cadre d'une radiochimiothérapie concomitante. Cette association constitue notamment le traitement de

référence des tumeurs dont la taille est supérieure à 4 centimètres ou qui se sont propagées au-delà du col de l'utérus dans le pelvis (**Morice., 2008**).

9-La prévention

Afin de réduire le risque du cancer du col de l'utérus certaines précautions peuvent être prise comme éviter de multiplier les partenaires, l'utilisation des préservatifs et les relations sexuel précoce pour diminuer le risque d'infection par le virus et de réduire la consommation de tabac. Actuellement la modalité de prévention la plus efficace serait un vaccin, qui mit en place grâce au Pr Marc Stebende l'institut canadien de santé publique (**Organisation mondial.2003**). Ce vaccin a été mis sur le marché en fin 2006 ; il est destiné aux jeunes filles entre 11 et 12 ans avec un rattrapage pour les 13 à 26 ans. Il s'administre par voie intramusculaire en trois doses ; la deuxième deux mois après la première injection ; la dernière six mois plus tard. De ce fait ; Ce vaccin peut réduire les interventions couteuse ; et aurait un bénéfice individuel et collectif non négligeable (**Tebeu et al., 2005**). Le vaccin protège contre les infections nouvelles ou persistantes, causées par les HPV de types 6 ; 11 ; 16 et 18 ainsi que contre les lésions que ces infections peuvent engendrer. Ils sont notamment concernés, les néoplasies intra-épithéliales du col de l'utérus (CIN), l'adénocarcinome in situ (AIS) du col de l'utérus, les néoplasies intra-épithéliales de la vulve (VIN) ainsi que les condylomes génitaux ; toutes ces affections étant causées par ces types de HPV (**Berlière et al .,2009**). La vaccination est pleine d'espoir ; mais ne dispense pas du dépistage par frottis (**Gostav., 2008**).

CHAPITRE III

LA

PHYSIOPATHOLOGIE

DU CANCER DU COL

DE L'UTÉRUS

1-Les Papillomavirus

Les papillomavirus humains ou HPV (Human Papilloma Virus) sont des virus nus (sans enveloppe) de petite taille (45 à 55 nm de diamètre) appartenant à la famille des papovaviridae. Leur génome est constitué d'ADN double brin de 8000 paires de bases environ, dont les séquences codant les protéines virales sont regroupées sur un seul brin.

L'organisation génomique distingue trois régions génomiques

- a) Une région précoce dite E (Early protéin) : codant pour des protéines des régulations non structurales appelées : E1, E2, E4, E5, E6, E7 et d'environ 4 Kb

- E1 et E2 jouent un rôle important dans la réplication virale

-E5 mais surtout E6 et E7 sont les protéines responsables de l'immortalisation et de la transformation des cellules infectées

-E4 impliqué dans la maturation des virions

- b) Une région tardive dite L (Late protein) : codant pour les protéines L1 et L2 qui interviennent dans l'organisation structurale du virus en formant la capsid, faisant 3Kb

- c) Une région non codante : appelée également Long Control région (LCR) ou upstream regulatory Région (URR) qui contient l'origine de réplication de l'ADN viral, les promoteurs p79 situé en amont de E6 et qui est responsable de la synthèse de presque tous les gènes précoces et les éléments transcriptionnels régulateurs de taille comprise entre 400 et 1000 pb (**Villies et al., 2004**).

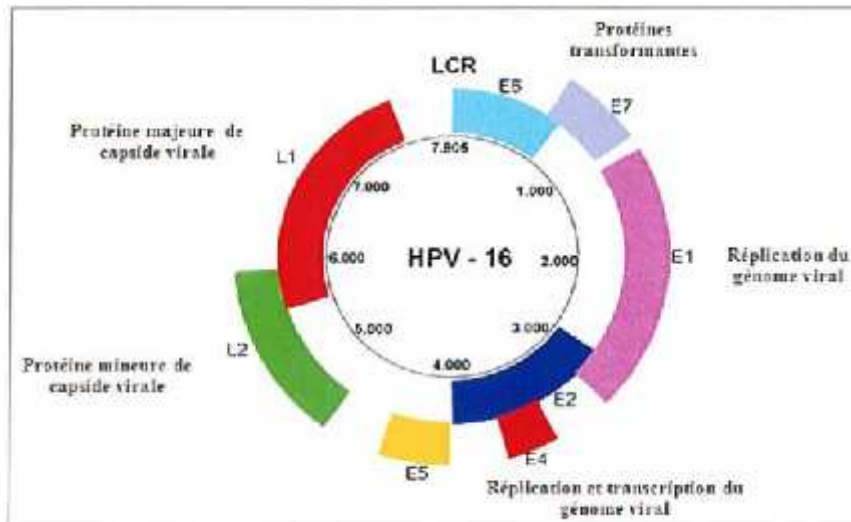


Figure 5 : l'Organisation génomique de l'HPV16 (Alain et al.,2010)

1.1 Mode de transmission des papillomavirus humains (HPV)

1.1.1 Transmission sexuelle des HPV

Lors d'un rapport sexuel, les HPV vont infecter les cellules souches de l'épithélium malpighien. Les virus atteignent leurs cellules cibles soit de manière directe, au niveau de la zone de jonction entre l'épithélium malpighien de l'exocol et l'épithélium glandulaire de l'endocol, zone de fragilité composée d'une seule et unique couche de cellules basales, ou bien de manière indirecte, par l'intermédiaire de microlésions présentes au niveau de l'exocol. Les cellules souches de l'exocol possèdent des récepteurs reconnaissant certaines protéines de la capsid virale facilitant la phase de pénétration cellulaire.

1.1.2 Transmission non sexuelle des HPV

Une telle transmission est possible chez le nouveau-né et l'enfant. Cela est assez peu fréquent et l'infection est rarement persistante. Dans le premier cas, la transmission peut avoir lieu au moment de l'accouchement par contact direct (au cours de la délivrance vaginale, d'une césarienne ou lors d'une rupture précoce des membranes, lors des soins au bébé et peut-être par la salive ou le lait maternel) ou indirect (objet ou surface contaminés pendant l'accouchement). Une contamination in utero est envisageable (au travers du placenta et par remontée le long du tractus génital féminin). Chez l'enfant, la contamination en divers sites peut provenir d'une auto-inoculation ou d'un contact avec une autre personne ou des surfaces ou objets contaminés. Une autre source possible d'infection chez l'enfant est lors d'un abus sexuel.

2-La physiopathologie du cancer du col de l'utérus

Après transmission, les HPV pénètrent dans les cellules souches de l'épithélium malpighien au niveau de la zone de transformation ou la zone pavimento-cylindrique du col utérin ou par des microlésions présentes au niveau du col utérin. 90% des lésions précancéreuses et cancéreuses du col utérin se développent dans la zone de jonction (**Greslin et al.,1998**).

-les papillomavirus peuvent suivre différents types de cycle :

- soit un cycle d'infection productive à l'origine de tumeurs bénignes : l'ADN viral n'est pas intégré à l'ADN cellulaire mais persiste sous forme d'épisome (molécule d'ADN circulaire qui se réplique de façon autonome dans la cellule) avec la production des virions.
- soit un cycle d'infection abortive et transformant : il y a infection mais pas de production de virions infectieux, ce cycle est caractérisé par l'intégration de l'ADN viral au sein du génome cellulaire, la conséquence de cette intégration est le développement de tumeurs malignes (**DOORBAR J., 2005**).

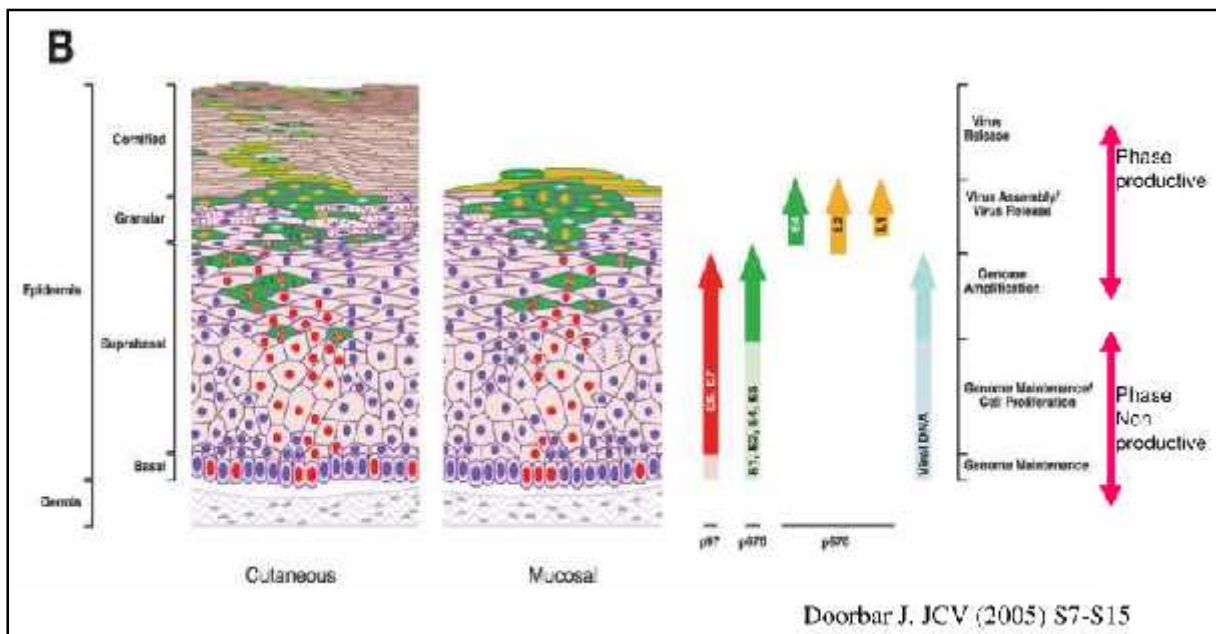


Figure 6: L'expression des protéines virales dans les différentes couches de l'épithélium (DOORBAR J, 2005)

2-1 Le développement de la maladie

Les Néoplasies cervicales intra épithéliales (CIN) se développent sur la zone de transformation du col utérin. La zone de transformation est située entre la jonction cylindro-malpighienne originelle et la nouvelle jonction cylindro-malpighienne.

Les CIN sont caractérisées par une désorganisation architecturale et une prolifération de cellule atypiques plus ou moins différenciées. La sévérité des lésions est évaluée par la hauteur des anomalies cellulaires dans l'épithélium. Ainsi l'extension au tiers inférieur de l'épithélium correspond une CIN 1 ; l'extension aux deux tiers à une CIN 2 et l'extension à toute la hauteur de l'épithélium à une CIN 3. Les CIN constituent un éventail de lésions qui commence par des modifications mineures (CIN 1) et qui progresse vers les CIN 2 ; puis les CIN 3 (dysplasie sévère et le carcinome in situ). Cette évolution n'est pas toujours progressive. Dans certains cas la lésion peut persister ; voire régresser. Les chances de régression sont plus importantes dans les lésions de bas grade (CIN 1) qui régressent dans plus de la moitié des cas. Les risques de progression et d'évolution vers l'invasion augmentent avec la sévérité des anomalies. On estime que 1% des CIN1 et 10 à 15 % des CIN2 vont progresser vers un cancer invasif en l'absence de traitement. La durée de la progression est très variable pour les CIN de haut grade (CIN 2-3) la durée d'évolution vers l'invasion peut aller de 2 à 20 ans (**Baldauf., 2006**)

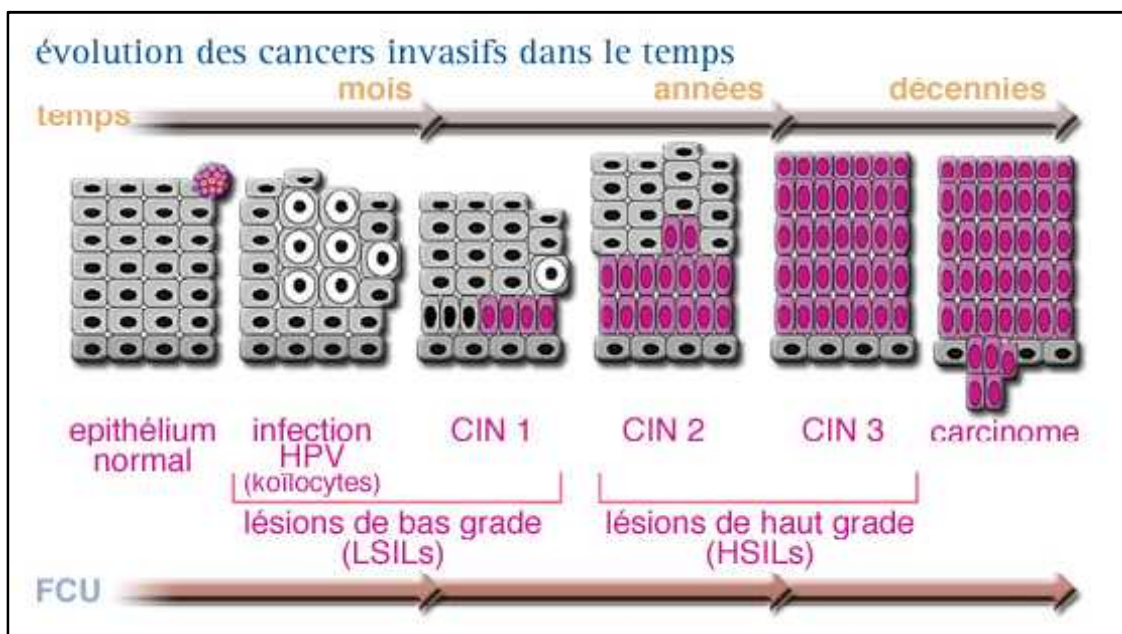


Figure 7 : l'histoire naturelle histologique de l'infection aux papillomavirus

Humains (Mougin et al., 2008)

2-2 Interaction des gènes du virus HPV avec les protooncogènes

Plus de 99% des cancers du col de l'utérus sont associés à la présence de l'ADN d'HPV qui modifie génétiquement les cellules et il en résulte des lésions malignes. Ainsi l'HPV est un facteur étiologique principal du développement d'un cancer du col de l'utérus (**Bhatlaa et al.,2008**) certains gènes de virulence de l'HPV interagissent avec les protooncogènes tels que P53 et RB.

2-2-1 Interaction et mutation du gène p53

La protéine p53 est une phosphoprotéine codée par un gène suppresseur de tumeurs. Elle a été la première protéine cellulaire se liant aux protéines des virus à ADN à être identifiée. Le gène humain p53 est localisé dans le bras court du chromosome 17. Le gène p53 est impliqué dans le contrôle de la croissance cellulaire des cellules « agressées » (**Monsonogo., 1996**).

L'une des activités les plus connues et étudiées d'E6 est sa capacité à induire la dégradation du suppresseur de tumeur p53. Celui-ci est muté dans environ 50% des cancers, mais cependant à l'inverse des autres cancers, dans le cas du cancer du col de l'utérus ; les mutations de p53 ne sont retrouvées qu'à hauteur de 5,8 % (**Hainaut et al.,1998**). Celle empêchent la répartition ou la mort cellulaire induites par p53 et permettent la réplication des cellules endommagées qui serait normalement éliminées.

Le niveau d'expression de p53 dans les cellules normalement est faible avec une demi-vie courte de 8 à 20 min. Si les dommages à l'ADN sont irréparables, ils entraînent une augmentation du niveau d'expression de p53 et l'activation post-traductionnelles. Après activation, p53 initie la réparation de l'ADN, l'arrêt du cycle cellulaire et l'apoptose, en fonction de l'étendue et des dommages (**Howie et al.,2009**).

2-2-2 La protéine pRb et HPV

La neutralisation des fonctions pRb médiée par E7 résulte de l'activation constitutive des facteurs de transcription avec la perte de contrôle du cycle cellulaire. Plusieurs études ont montré que le potentiel oncogène d'un type HPV spécifique dépend de l'efficacité de E7 dans le ciblage pRb. La liaison de E7 à la protéine pRb et la dégradation de sa forme hypo phosphorylée induit une libération du facteur de transcription E2F ; qui peut alors

stransactiver les protéines cellulaires requises pour la réplication virale et cellulaire telles que les cyclines A et E (Voet et al.,2005).

En G1 et en l'absence d'HPV, la protéine pRb non phosphorylée est liée à E2F ; inhibant ainsi la fonction transcriptionnelle : les gènes cellulaires contrôlés par E2F ne sont pas exprimés. Le cycle cellulaire est dérégulé par la poursuite de la transactivation des gènes contrôlés par E2F.

2-3Immortalisation cellulaire

Les télomères, ou extrémités des chromosomes, indispensable pour préserver l'intégrité du matériel génétique au cours du cycle cellulaire. Ils consistent en des répétitions non codante TTAGGG localisées aux extrémités des chromosomes (Hiyama., 2009). La longueur des télomères est un paramètre essentiel dans la fonction télomérique ; le raccourcissement exagéré provoquant des instabilités chromosomique incompatible avec la réplication normale des cellules (Iondono et al.,2006). Dans une cellule somatique l'activité télomérase est faible, voire inexistante et les télomères sont raccourcis à chaque division cellulaire pour atteindre une taille critique qui conduit à la sénescence réplivative. En revanche, dans la plupart des tumeurs, les télomères sont maintenus (Mougin et al.,2008).La protéine E6 des HPV à haut risque active la transcription du gène hTERT qui code la sous unité catalytique limitante de la télomérase favorisant son activité et donc le maintien des télomères au cours des divisions successives (Gewin et al., 2001).

CHAPITRE IV

LA MTHFR

1- La protéine MTHFR

Laméthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR) est un dimère de 150 kDa comprenant deux isoformes de tailles variables : 77kDa et 70 kDa. L'expression de l'ADNc humain de 2,2 kpb donne une protéine de 70 kDa comportant 656 acides aminés. Le site de démarrage de la traduction de l'isoforme de 77 Da permet l'ajout de codons additionnels en amont de la séquence de l'isoforme de 70 Da (**GOS et al., 2002**).

1-1 Le 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 (**Ueland et al., 2005**). En effet, la concentration plasmatique d'homocystéine plasmatique dépend pour une part notable du polymorphisme des 5,10 méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR), enzyme clé du métabolisme des folates. Cette enzyme catalyse la réduction irréversible des 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. La 5,10-méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR) catalyse la réduction irréversible du 5,10-méthylène tétrahydrofolate (CH₂THF) en 5-méthyl tétrahydrofolate (CH₃THF).

L'activité de la MTHFR affecte ainsi la disponibilité du CH₃THF, ce qui influence la synthèse de l'ARN et de l'ADN. Le CH₂THF 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) (**DAlessio., 2006**).

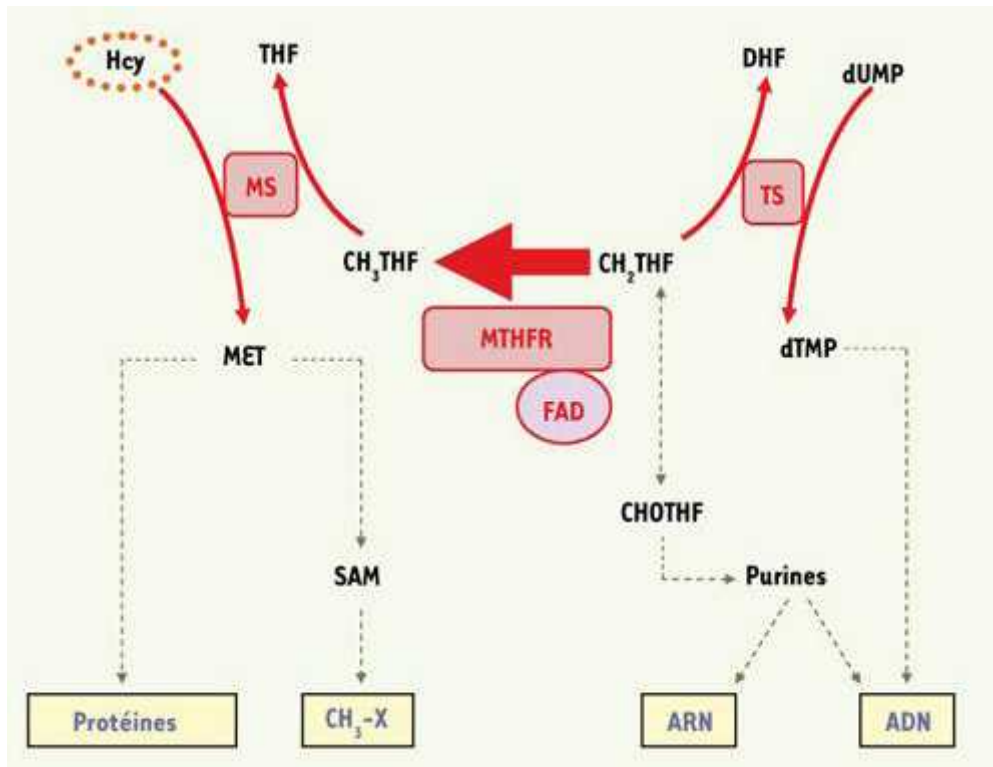


Figure 8 : Répercussions métaboliques de l'activité de la MTHFR (DAlessio., 2006).

2- Le Gène de la MTHFR

Le gène est localisé sur le bras court du chromosome 1(1p.36.3). La séquence d'ADNc a été déduite de 2,2 kb de longueur et comprend 11 exons. 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 (Ueland et al., 2005).

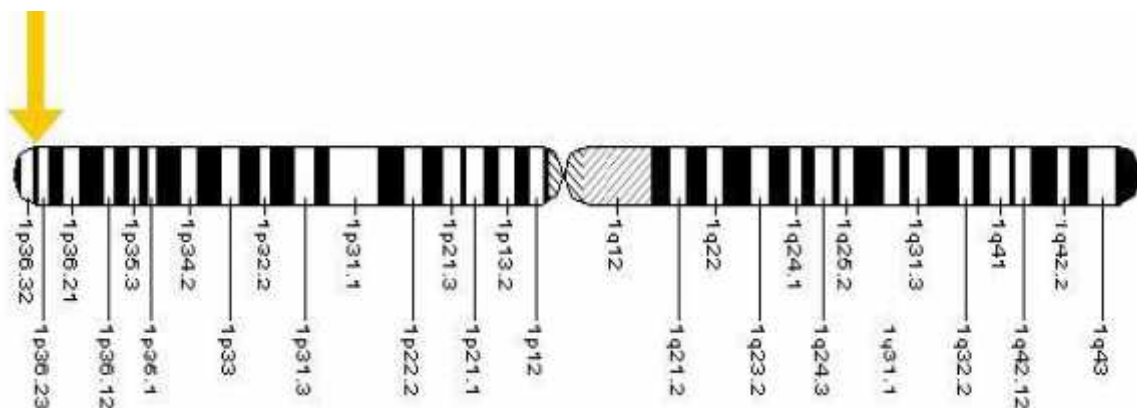


Figure 9:localisation cytogénétique du gène de la MTHFR (Ueland et al., 2005).

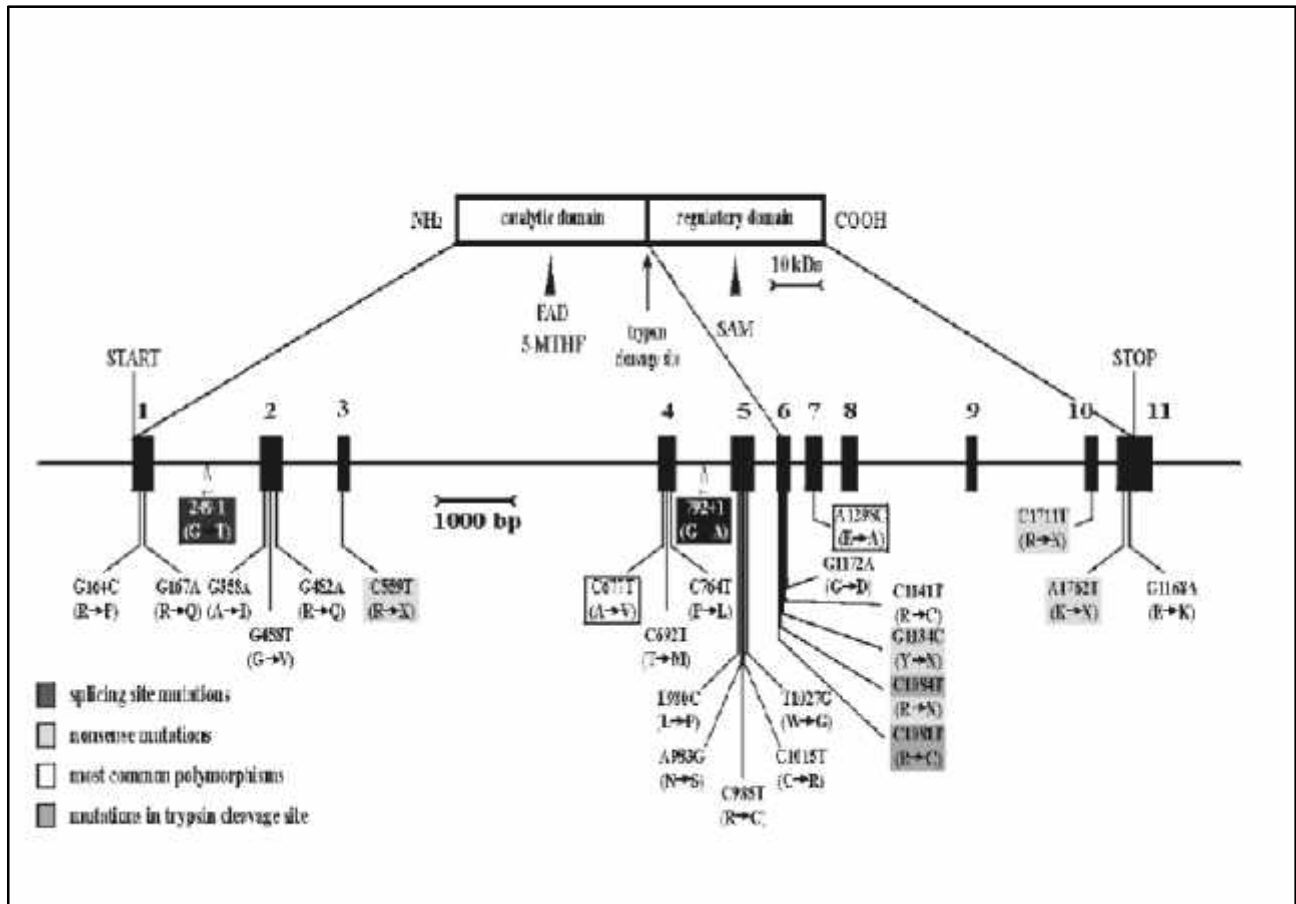


Figure 10: Structure de gène de la MTHFR avec la localisation des protéines et de mutations connus (Jerbi et al.,2005)

3-Les polymorphismes de la MTHFR

Les polymorphismes génétiques conduisant à une carence en folate semblent faciliter l'apparition de différents types de cancer. L'acide folique 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) (Gao et al., 2009). 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 (Duthie., 1999).

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 la *MTHFR* les plus étudiés sont aussi indiqués, en vert (Duthie., 1999).

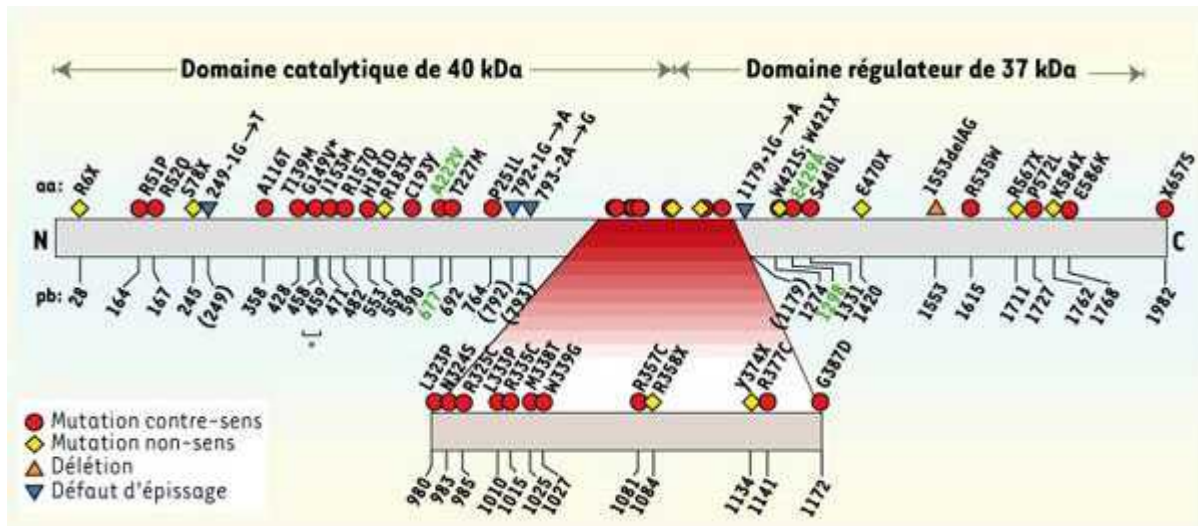


Figure 11 : Représentation schématique de 41 mutations graves du gène MTHFR (Duthie., 1999)

3-1 Le polymorphisme C677T de la MTHFR

En 1995, certains chercheurs 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). 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 (Ames., 2001). Le polymorphisme C677T du gène de la méthylène tétrahydrofolate 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.

4-La relation entre le gène MTHFR et le cancer du col de l'utérus

Certains chercheurs montrent que la MTHFR C677T est associée à un risque plus élevé pour le cancer du col de l'utérus contre les génotypes sauvages ou hétérozygotes. Le génotype de la MTHFR peut augmenter le risque de cancer CIN du col utérin chez les femmes ayant une déficience en acide folique et vitamine B12 (Mei Q et al., 2012).

Partie Pratique

Notre étude est une étude descriptive transversale de type cas témoin. Elle s'est déroulée durant la période allant de Mars 2015 à Juin 2015, au sein du service d'oncologie-radiothérapie du Centre Anti Cancéreux du Centre Hospitalo-Universitaire Constantine (CHUC) et au niveau du laboratoire de Biologie et Génétique Moléculaire université 3. Les informations ont été recueillies à partir des dossiers des malades avec l'accord du médecin-chef responsable de l'unité d'hospitalisation et suite à un interrogatoire fait par nous-même.

1-Population d'étude

1-1 Population malade

La population malade est constitué de 47 sujets de l'Est Algériens présentant un cancer du col de l'utérus sélectionnés parmi les patientes admis au sein du service de radiothérapie en cancérologie au niveau du Centre Hospitalier Universitaire de Constantine (CHUC) et qui réfèrent à nos critères d'exclusion et d'inclusion.

a- Critères d'inclusion

- Toutes les patientes avec un cancer du col de l'utérus diagnostiqué par des médecins spécialisés.
- Tous âges confondus

b- Critères d'exclusion

- Les malades refusant de faire le prélèvement.

1-2 Population Témoin

Elle représente la population des 10 sujets sains de différentes tranches d'âges et de sexe féminin, habitant à Constantine. Cette population est prise en fonction de certains critères

a -Critères d'inclusion

- Sujets de sexe féminin.
- Tous âges confondus
- Sujets mariés

b- Critères d'exclusion

- Femmes avec antécédents de cancer du col de l'utérus

- Sujets sous traitement médical.
- Femmes enceintes

2-Prélèvements sanguins

- Il se réalise par ponction veineuse franche, chez un sujet qui n'est pas à jeun.
- Le prélèvement se réalise sur un tube contenant comme anticoagulant un chélateur du calcium, l'EDTA (Éthylène acid Diamino Tétra Acétate), le mélange sang-EDTA doit être complet (Mouvements répétés de retournement du tube).
- Les prélèvements ne doivent pas être réalisés dans une veine perfusée ou à partir d'une ligne de perfusion (Risque de dilution du sang par le produit de perfusion).
- Les tubes utilisés dans la plupart des cas ont un volume nominal de 5 ml et sont calibrés pour des prélèvements de 3 à 4,5 ml,
- Les tubes sont conservés à une température de 4°C jusqu'au temps de manipulation.

3-Extraction de l'ADN

L'extraction de l'ADN est une technique permettant d'isoler l'ADN contenu dans les cellules. Il existe plusieurs protocoles de l'extraction mais dans notre étude on a utilisé la méthode d'extraction au NaCl.

3-1Principe

L'ADN de chaque sujet est extrait à partir de leucocytes du sang périphérique recueillis dans un tube EDTA, suivant la technique au NaCl. Les leucocytes sont séparés du sang total par une lyse hypotonique et traités ensuite par un détergent Sodium dodécyle sulfate (SDS) et une protéinase K. La pelote d'ADN est formée dans le surnageant par précipitation avec l'éthanol et solubilisé en phase aqueuse (Annexe IV).

3-2 Détermination de la pureté

La contamination de l'ADN extrait par des protéines a été appréciée en mesurant la densité optique des échantillons à 260 et 280 nm qui correspondent, respectivement, aux longueurs d'onde d'absorption des acides nucléiques et des protéines, en effectuant le rapport de DO à 260 nm sur la DO à 280 nm pour s'assurer de la pureté d'ADN de toute contamination soit de protéine ou d'ARN.

- Si le rapport DO260/DO280 est compris entre 1.6 et 2 => l'ADN est suffisamment pur.
- Si le rapport DO260/DO280 > 2 => l'ADN est contaminé par les ARN.
- Si le rapport DO260/DO280 < 1,6 => l'ADN est contaminé par les protéines.

L'ADN pur est conservé à -20°C jusqu'à utilisation, et dans le cas de contamination, une réextraction est nécessaire pour un bon usage.

3-3 Détermination de la concentration

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

1 unité de DO 260 nm = 50 µg / ml d'ADN double brin

La concentration est calculée grâce à la formule suivante :

La concentration de l'ADN en µg / ml = facteur de dilution × DO 260 × 50 µg / ml

En prenant en considération que l'ADN obtenu est dilué à 1/100ème, le facteur de dilution est égal à 100.

4-Le génotypage de la MTHFR

La détermination du génotype de la MTHFR (le polymorphisme C677T) a été effectuée en plusieurs étapes successives :

- Amplification par PCR (Polymérase Chaîne Réaction).
- Une migration électrophorétique sur gel d'agarose pour le contrôle du produit de PCR.
- Digestion du produit de PCR par l'enzyme de restriction HinfI.
- Une migration électrophorétique sur gel d'agarose pour la séparation des produits de digestion.

4-1 Amplification par PCR

Après la préparation du mix de la PCR (AnnexeV), nous avons pris 49 μ l de ce mélange avec 1 μ l d'ADN pour chaque tube. Ensuite le déroulement des cycles de la PCR a été assuré par le thermocycleur et les conditions d'amplification étaient comme suit :

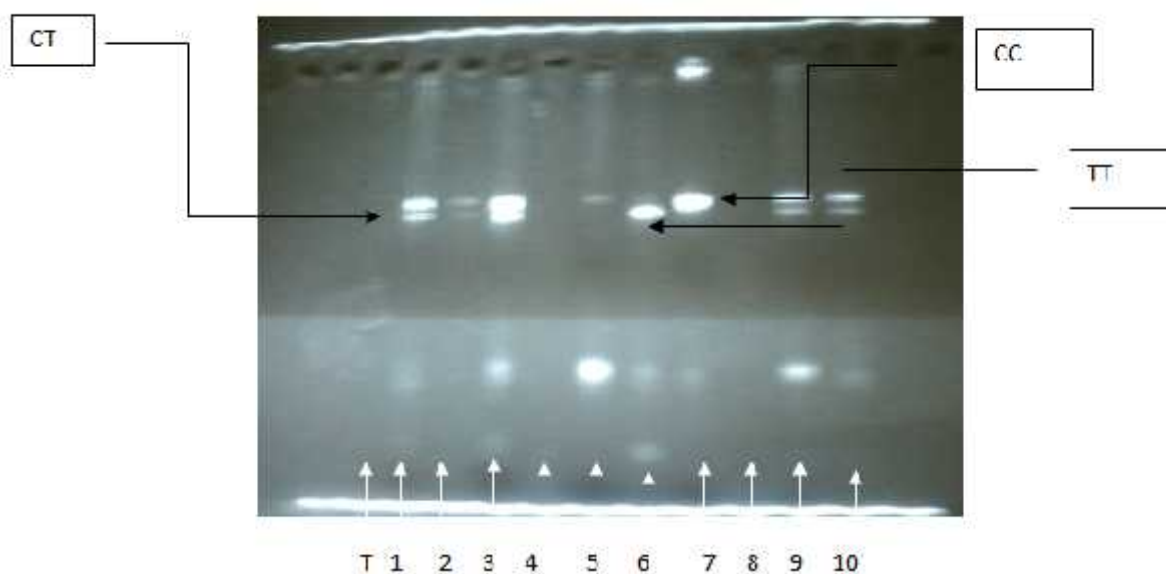
- La dénaturation initiale : 94°C pendant 5 minutes.
- 30 cycles de PCR : chaque cycle comprend 3 étapes : dénaturation à 94°C, une hybridation à 65°C et une élongation à 72° C.
- L'élongation finale : 72°C pendant 10 minutes.

4-2 Le contrôle des produits PCR

Ce contrôle se fait grâce à une électrophorèse sur un gel d'agarose à 2 % additionné de 10 μ l du BET (Bromure d'éthidium) (Annexe VI). Le gel est déposé sur une plaque d'une cuve horizontale.

Dans chaque puits du gel, nous déposons 10 μ l d'amplificat en présence de 3 μ l du colorant Bleu de Bromophénol (BBP) qui permet de suivre le front de migration. Parallèlement un échantillon sans ADN (blanc) est inclus dans la série, il sert de contrôle négatif. Le dépôt se fait de côté cathode et le système est soumis à une migration sous un courant de 80 volts pendant une heure.

Après la migration, le gel est soumis au rayon UV où le BET s'intercale entre les bases nucléotidiques de l'ADN et émet une coloration. Le gel est photographiable et permet de visualiser les fragments amplifiés sous forme de bandes fluorescentes de même taille. Ce contrôle permet aussi de vérifier si une éventuelle contamination de l'ADN est survenue au cours de la PCR grâce au puits contenant le blanc.



Photographie 01 : Profil électrophorétique des fragments amplifiés (198pb) par PCR du gène MTHFR sur gel d'agarose 2%

4-3 Digestion des produits

L'enzyme de restriction HinfI « *Haemophilus influenzae* » reconnaît la séquence :



Les produits de la PCR sont soumis à une digestion enzymatique par l'enzyme de restriction HinfI. Pour cela un mélange réactionnel de digestion de l'enzyme Hinf I est préparé. Le mix de digestion contient un tampon, H₂O, l'enzyme de restriction HinfI et la BSA (Bovine Sérum Albumine). La BSA est utilisée pour stabiliser certaines enzymes lors de la digestion de l'ADN et pour empêcher l'adhésion de l'enzyme aux tubes de réaction. Cette protéine n'affecte pas d'autres enzymes qui n'ont pas besoin de stabilisation. La présence de BSA améliore la performance des enzymes de restriction pour au moins deux fois (Annexe VI).

Nous prenons 10 µl du mix pour digestion et 30 µl du produit de PCR. Le tout est incubé pendant une nuit dans une étuve à 37°C.

Après digestion on ouvre les tubes d'ADN et on augmente la température de l'étuve jusqu'à 72 °C pendant une heure dans le but de concentrer le produit de la digestion.

4-4Électrophorèse des produits de digestion

Les fragments d'ADN digérés par l'enzyme de restriction sont séparés par électrophorèse sur gel d'agarose 3%. Le gel est visualisé grâce à l'addition du BET (10 µl). Elle se fait exactement dans les mêmes conditions et de la même façon que l'électrophorèse effectuée pour le contrôle des produits de la PCR mais pendant 2h et demi.

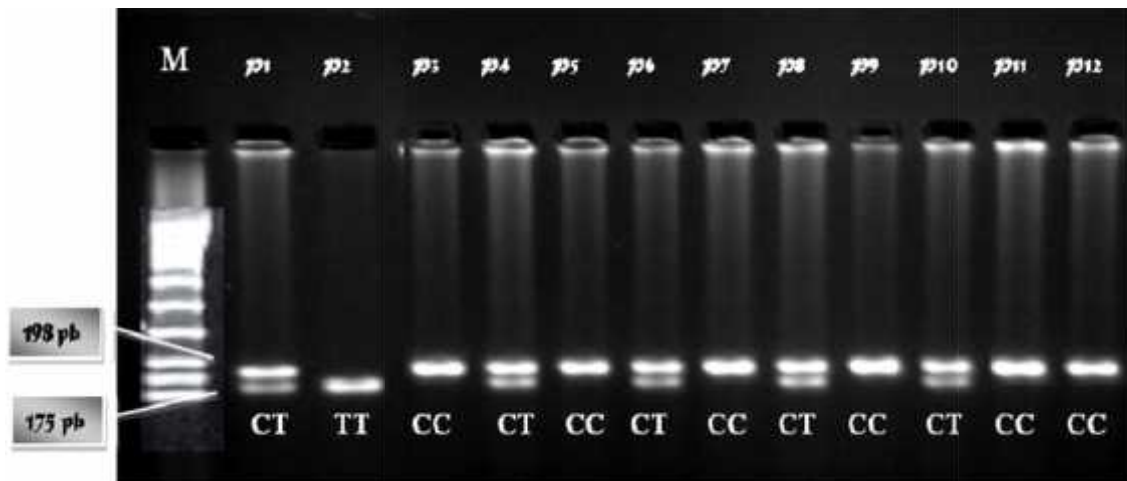
Profils RFLP obtenus

A ce moment il est possible de définir le génotype de chaque patient : CC, CG ou TT et cela en se basant sur les informations suivantes :

Les différents génotypes du C677T MTHFR sont comme suit :

- ❖ Homozygote sauvage (677CC) => Une seule bande de 198.
- ❖ Homozygote muté (677TT) => Deux bandes de 175 et 23 pb.
- ❖ Hétérozygote (677CT) => Deux bandes de 198 et de 175 pb

La bande de 23 pb pour le génotype homozygote muté n'est pas visible sur le gel d'agarose à cause de sa petite taille et ainsi on ne voit qu'une seule bande de 175 pb.



Photographie 02 : Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose des fragments obtenus après digestion du produit de PCR du gène de la MTHFR par Hinf1

5-L'étude statistique

L'étude statistique est basée sur l'évaluation d'un odds ratio (OR) et des P value. Les calculs statistiques de tous les échantillons obtenus ainsi que tous les paramètres considérés ont été obtenu par le logiciel Epi info version 7.0

5-1 Calcul de l'Odds Ratio (OR)

L'OR représente une mesure d'association épidémiologique entre un facteur et une maladie, en particulier lorsque la maladie est rare parmi la population (prévalence < 5%)

	Malades	Témoins
Exposé	a	c
Non exposé	b	d

L'intensité de l'association entre le polymorphisme et la maladie est calculée comme

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

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

5-2 Le choix de la « p value »

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

RESULTATS

ET

DISCUSSION

1-Répartition des malades selon l'âge

L'étude de la répartition en fonction de l'âge a démontré que :

- Notre population de 47 cas a des extrêmes d'âge de 34 et 74 ans.
- L'âge moyen de ces femmes est de 56 ans.
- La moyenne d'âge de ces femmes au mariage est 19,5 ans.

La répartition selon l'âge a été faite sur des tranches de 10 ans.

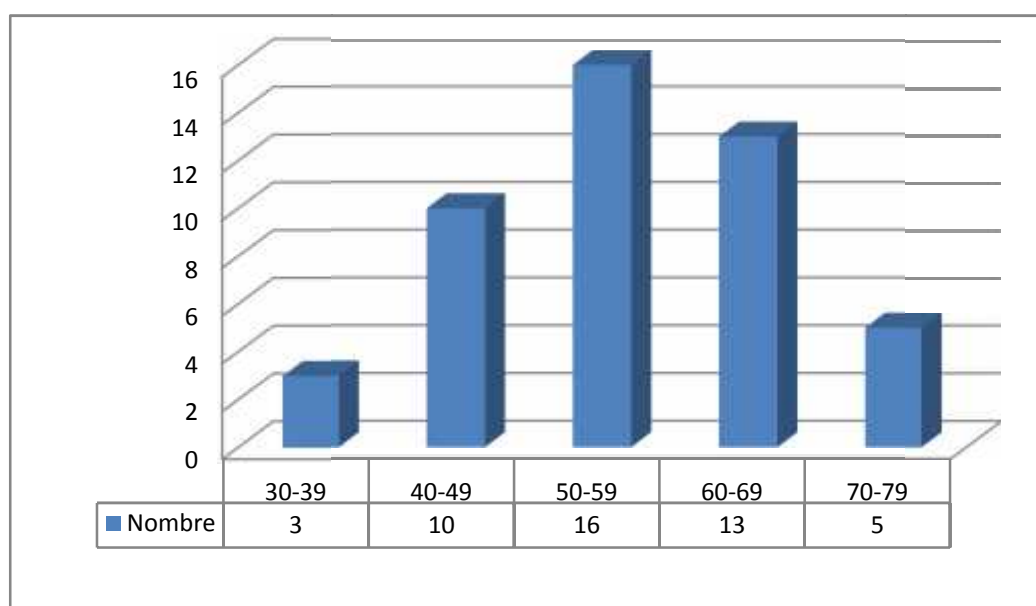


Figure 12: Répartition selon les tranches d'âge

On observe une augmentation de l'incidence de la maladie avec l'âge. La tranche la plus touchée regroupe les femmes entre 50 et 59 ans, elle est suivie par celle de 60 à 69 ans, l'incidence diminue entre 70-79 ans.

La majorité des infections à HPV et en particulier les HPV à haut risque oncogène sont transitoires avant 35 ans. La proportion des femmes concernées par cette infection après 35 ans sont celles qui ont une infection persistante par les HPV à haut risque et pour lesquelles une lésion cervicale actuelle ou future a une forte probabilité d'être détectée. Un âge plus élevé entraîne un taux de clairances plus faible (**Monsonogo., 2007**)

2- Classifications des types du cancer du col de l'utérus

On a pu classer les différents types histologiques du cancer du col de l'utérus d'après les résultats de l'examen histologique mentionné dans les dossiers des patientes.

Tableau 1 : répartition des sujets malades selon les différents types du cancer du col de l'utérus

Type de cancer	Nombre
Carcinome épidermoïde	44
Carcinome non épidermoïde	3
Total	47

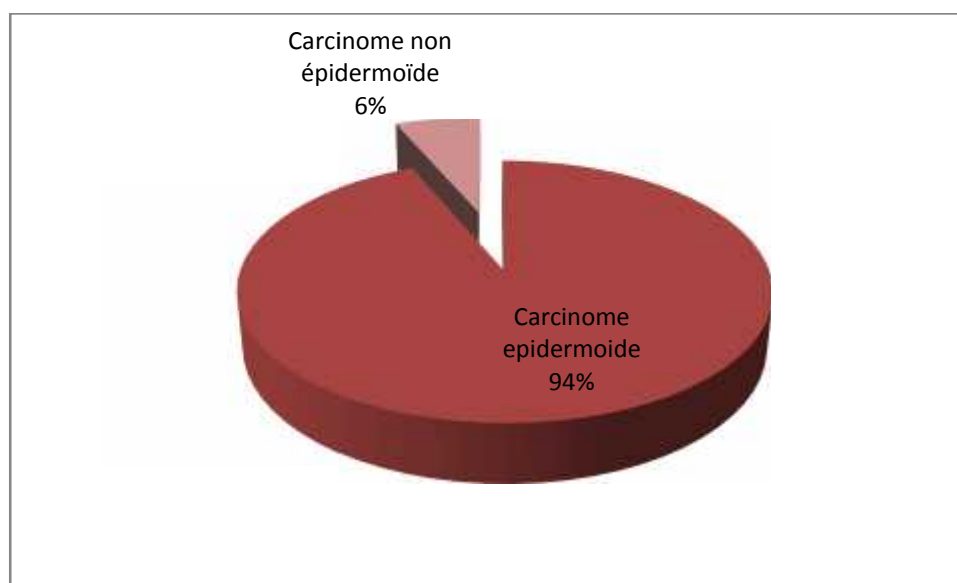


Figure1 3: Répartition des sujets malades selon le type du cancer

On a trouvé que le cancer épidermoïde représente la majorité des cas avec 94%, seulement 6% de carcinomes sont non-épidermoïdes.

Nos résultats coïncident avec la bibliographie qui montre que l'histologie malpighienne (épidermoïde ou spinocellulaire) représente entre 85 et 90% des cancers du col utérin. C'est de loin, le plus fréquent des cancers du col utérin. Les

adénocarcinomes ne concernent que 8 à 12% des cas, les autres formes histologiques comme les sarcomes, les mélanomes, les cancers à cellules claires et sont rares

3-Etude du polymorphisme C677T de la MTHFR

Nous avons procédé au génotypage de la *MTHFR* pour 10 patientes toutes atteintes d'un carcinome épidermoïde. La répartition des différents génotypes et allèles est mentionnés ci-dessous.

Tableau 2: Fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme C677T de la MTHFR chez la population témoin et la population malade.

Génotype	Patients		Témoins		OR	p value
	N	%	N	%		
C/C	2	25 %	8	50 %		
C/T	5	62,5 %	7	43,75 %		
T/T	1	12,5 %	1	6,25 %	0,391	P <0.05
TOTAL	8	100 %	16	100 %		
Allèle C	9	56,25 %	23	71,87 %		
Allèle T	7	43,75 %	9	28,13 %	0,284	P <0.05

La prévalence de la mutation C677T du gène MTHFR dans la population malade est de 12.5%, la fréquence des hétérozygotes chez les sujets avec cancer du col de l'utérus est de 62.5% et celle du génotype normale est de 25%. Il y a une différence significative ($p < 0.05$) des fréquences d'homozygotie entre les sujets témoins et les sujets malade (respectivement 6.25% et 12.5%). Encore les fréquences des allèles C et T sont respectivement 71.87% et 28.13% chez les sujets témoins alors

que les fréquences alléliques chez les sujets malades sont respectivement 56.25% et 43.75% ($P < 0.05$).

Selon nos résultats, le calcul des Odds ratio montre qu'il y a une association significative entre le polymorphisme C677T et la susceptibilité du cancer du col de l'utérus. On déduit que le polymorphisme C677T représente un facteur de risque dans la survenue du cancer du col de l'utérus. Les résultats de notre étude concordent avec plusieurs études alors qu'ils discordent avec d'autres.

Un effet protecteur du polymorphisme C677T de la MTHFR a été montré pour le cancer colorectal (**Chen et al., 1996 ; Ma J et al., 1997**), tandis qu'une augmentation du risque n'a pas été signalé pour le cancer de l'endomètre (**Esteller et al., 1997**), du sein et le cancer de l'ovaire (**Gershoni et al., 2000**)

Cependant, l'influence de ce polymorphisme sur le risque du cancer du col utérin n'est pas claire du tout. Plusieurs études ont examinées l'association possible entre le cancer du col et le génotype de cette mutation, mais les résultats sont contradictoires. Certaines l'ont attribué un effet protecteur, d'autre l'ont considéré plutôt comme un facteur de risque tout comme dans notre étude et enfin d'autres n'ont révélé aucune association ni positive ou négative de ce polymorphisme et le risque du cancer du col de l'utérus

Des résultats semblables à notre étude ont été observés dans deux études (**Goodaman et al., 2001 ; JaeWoongSull et al., 2004**) qui suggèrent que la MTHFR C677T est un facteur de risque de CIN. JaeWoongSull et al., (**2004**) ont montré que les sujets homozygotes pour le polymorphisme de la MTHFR ont un risque plus élevé de développer un cancer du col de l'utérus et en particulier pour un début précoce de la carcinogenèse cervicale (**Piyathilake et al., 2000**). Plus récemment une étude menée par Suguna et al. (**2014**) explique l'association du polymorphisme de la MTHFR et la susceptibilité d'augmenter le risque du CIN2. L'étude fournit la première preuve que le génotype CT de la MTHFR / le génotype TT augmente deux fois le risque de CIN chez les femmes en âge de procréer.

Par ailleurs l'effet protecteur du polymorphisme C677T de la MTHFR a été rapporté par plusieurs autres études : Dans une étude américaine menée après enrichissement en acide folique, il a été démontré que le polymorphisme MTHFR est

associé à un risque réduit de néoplasie intraépithéliale cervicale (CIN) 2 ou 3 (**Henao et al., 2005**). Encore Chandrika J Piyathilake et al.(**2011**)ont signalé que les femmes polymorphe pour la méthylènetétrahydrofolate réductase (MTHFR) étaient moins susceptible d'avoir des néoplasies intraépithéliales cervicales (CIN) 2 ou 3 (odds ratio [OR] = 0,40 intervalle de confiance à 95% [IC] : 0,21- 0,78, p= 0,007. Zoodsma et al. (**2005**) ont rapporté une étude du génotype C677T de la MTHFR dans la CIN et les patientes du cancer du col contre des sujets témoins sains. Ils ont montré une réduction du risque du cancer du col chez les femmes qui étaient hétérozygotes ou homozygotes pour la mutation C/T.

Cependant l'effet du polymorphisme C677T de la MTHFR sur le cancer et la prédisposition au cancer reste controversé dans d'autres études. L'analyse statistique entre les groupes de cas avec néoplasie intraépithéliale cervicale ou le cancer invasif du col utérin et le groupe de contrôle n'a révélé aucune différence statistiquement significative dans la fréquence du polymorphisme C677T de la MTHFR (**Lambropoulos et al., 2003**). D'autre part il n'existe aucune association ni du C677T ni du A1298C dans la carcinogénèse cervicale. Il n'ya pas de rôle de l'effet du polymorphisme combiné dans le cancer où des preuves de la prédiction de ces anomalies (**Zhuo et al., 2012**) Encore Gerhard et al. (**2003**) a échoué à montrer une association entre la MTHFR C677T et le cancer du col utérin ou de l'infection par HPV à risque élevé, et cela était aussi vrai pour l'étude de Lambropoulos et al (**2003**).

Ainsi, bien qu'il puisse y avoir une interaction entre ce polymorphisme impliqué dans le métabolisme des folates et le risque du cancer du col utérin, il n'existe actuellement pas de consensus sur les résultats.

CONCLUSION

Conclusion

Le cancer du col de l'utérus est une néoformation tissulaire due à une prolifération cellulaire excessive, anormale, anarchique et autonome, développant une tumeur maligne au sein de ses tissus qui détruisent le col utérin au niveau de la zone de jonction avec envahissement local et à distance.

Le cancer du col de l'utérus est l'un des cancers les plus fréquents au monde et le deuxième en termes de mortalité chez la femme, surtout dans les pays en développement en termes d'incidence et de mortalité. Pourtant, il est provoqué par une infection résultant d'un agent sexuellement transmis, le virus du papillome humain (HPV), qui peut être facilement évité en détectant et en traitant les femmes atteintes de lésions précancéreuses du col provoquées par le HPV.

Il existe un moyen de dépistage de ce cancer, simple, non douloureux et peu coûteux dont l'efficacité a été prouvée, il s'agit du frottis cervico-vaginal (FCV) qui peut être réalisé par tous les médecins, même à un âge jeune. Un diagnostic de cancer peut-être détecté par d'autres examens tels les examens clinique, mais il ne peut être affirmé qu'après un examen histopathologique. En outre l'anatomie pathologique précise la variété de cancer en cause, ce qui permet de choisir le traitement le plus efficace.

L'étude que nous avons entreprise est une étude de type cas témoin concernant deux populations. La population malade est constitué de 47 sujets de l'Est Algériens présentant un cancer du col de l'utérus sélectionnés parmi les patientes admis au sein du service de radiothérapie en cancérologie au niveau du Centre Hospitalier Universitaire de Constantine (CHUC). 10 sujets sains de différentes tranches d'âges et de sexe féminin, habitant à Constantine ont constitué la population témoin.

Notre recherche avait pour objectif d'élucider la relation entre le polymorphisme C677T de la MTHFR et le cancer du col de l'utérus. Selon nos résultats, il y a une association significative entre le polymorphisme C677T et la susceptibilité du cancer du col de l'utérus. On déduit que ce polymorphisme représente un facteur de risque dans la survenue du cancer du col de l'utérus. Mais notre échantillon est très faible pour apporter des éléments d'information.

A la lumière de notre travail nous émettons comme perspectives, de faire une étude moléculaire sur une population plus élargie pour pouvoir avoir des réponses sur la prédisposition génétique chez les femmes avec le cancer du col utérin.

RÉFÉRENCES
BIBLIO-
GRAPHIQUES

- 1-ACCP**,juillet 2004 alliance for cervical cancer prévention :prévention du cancer cervical.
- 2-Ames BN**. Dommages à l'ADN de carences en micronutriment est susceptible d'être une cause majeure de cancer.MutatRes,2001 ;475 :7-20.
- 3-Alain S, Hantz S, Denis F**. Papillomavirus : les virus et la physiopathologie de l'infection, médecine thérapeutique/ pédiatrie, 2010, Volume 13, numéro 1,5-19
- 4-Baldauf**. Cancer du col de l'utérus. Polycopie : module10- Cancérologie clinique onco-hematologie, faculté de médecine de Strasbourg,2006,p180-190
- 5-Bard E, Buchlé S, Meillet D, Prétet JL, Mougin C, Seillés E**. Validation of a high sensitive immunoenzymatic assay to the origin of immunoglobulins in femal genital secretions, immunoassay immunochem, 2002, Volume23, p 145-162
- 6-Berlière M, Buxantf,Coibionet M, al**.prise en charge des Cancers Gynécologiques. Pelviens et Mammaires. Consensus Oncologie Gynécologie Francophone,3eed ,2009
- 7-Bhatlaa N, Lai AN, Baob Y, Timothy N**. A meta-analysis of human papillomavirus type-distribution in womenfromSouthAsia : Implication for vaccination Vaccine, 2008, 26, P 2811-2817
- 8-BouhadeF A, Asselah. F, Boudriche,A**. Histologie du col utérin. Cytopathologie des précurseurs et des cancers du col de l'utérus, Ministre de la santé, de la population et de la forme hospitalière direction de la population, 2005, p 214
- 9-Bouilland MF,GeracF AS**. Guide anatomie – physiologie : aide –soignants et auxiliaires de puériculture .Paris,France : Elsevier Masson SAS,2004,ISBN 2-29401444-8,p 91-98
- 10-Blanc B**. Cancer du col de l'utérus. Pathologie gynécologique et obstétricale,2005,p 296-297
- 11-Brehm A, Nielsen S J et al**. the E7oncoprotein associates with Mi2 and histone deacetylase activity to promote cell growth.The EMBO journal, 1999, Volume 18 N°9, 2449-2458
- 12-Brinton L**: Classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. J Clin Virol, 2003, p23-28

13-Camus E, Nazbanoun H, Nisand1. Gynécologie-obstétrique :Soins infirmiers. 4^eed Paris, France: Elsevier Masson SAS, 2006, ISBN 294-07687-7,p 23-40

14-Castle P, Papenfuss M, Abrahamen M, Inserra P.Aprospective Study of High-Grade Cervical Néoplasia Risk Among Human Papillomavirus-Infected Women.Journal of the National Cancer Institute, 2002,Vol.94,1406-1414.

15-Chen J, Giovannucci E, Kelsey K, Rimm EB, StampferMJ,Colditz GA .Un polymorphisme méthylène tétrahydrofolate réductase et le risque de cancer colorectal. Cancer Res.1996, 56 : 862-64.

16-Ciraru N, Vignerou, Ferrand J.facteurs de risque.cancer du col de l'utérus, Im, Méd,Phys.Biol.Hum,1999, p11

17-Coullin F .les cancers du l'appareil génital féminin. Mécanisme de cancérologie,2004,29,p123-130

18-CoxJT.Epidemiology of cervical intraepithelialneoplasie.therole of humanpapillomavirus.BailliersClinObstetGynaecol, 1995,9,P1-37

19-Dalessio AC,M. Szyfépigénétique tête-à-tête : La relation bilatérale entre les modifications de la chromatine et la méthylation de l'ADN. 2006,43(4) :463-76

20- Doorbar J,Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer.ClinSci, 2005, S7-S15.

21-Doorbar J, Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer.Clin Sci, 2006, Volume 110,525-541.

22-Dronsbar W.Nouvelles option de dépistage et de traitement du cancer du col de l'utérus Cervical cancer, 2012, 11, 3, p.135-134

23-Duport N.Les données épidémiologiques sur le cancer du col de l'utérus état des connaissances. Maladies chroniques et traumatismes, Maisons-Alfort, 2007, p56

24-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

25-Esteller M, Garcia A, Martinez- Palones JM, Xercavins J,Reventos polymorphismes de la lignée germinale dans le cytochrome p450 1A1-(C4887 CYP 1A1) et méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR) et la susceptibilité des gènes cancer de l'endomètre.1997, Cancérogenèse 18 :2307-11.

26-Fink Daniel.Cancer du col de l'utérus et lésions précancéreuses, Examens et diagnostic ligue suisse contre le cancer,Berne, 2010, p 40-42

27-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.2009,55(3): 578-92

28-Gershoni-Baruch R, E Dagan, Israel D, Kasinez L, E Kadouri, Freidman E, Association du polymorphisme C677T dans le gène MTHFR avec poitrine et/ou le risque de cancer de l'ovaire chez les femmes juive. Eur J Cancer 2000, 36(18) :2313-6

29-Gewin L, Galoway DA.E box-dépendent activation of télomerase by human papillomavirus type 16E6 does not require induction of c-myc. J Virol, 2001, 75,p 7198-7201

30-Gompel C, Koss LG. Cytologie gynécologique et ses bases anatomo-clinique, Paris : Pradel, 1996, 200p.ISBN 2-907516-76

31-Goodman MT, McDuffie K, Hernandez B, Wilkens LR, Bertram CC, Killeen J, Le Machand L, Selhub J, Murphy S, Donlon TA.Association of méthylène tétrahydrofolate réductase polymorphisme C677T and dietary folate with the risk of cervical dysplasie.Cancer Epidemiol Biomarkers 2001, Prev 10 : 1275-80.

32-Goyette P,Summer J, Milos R, Duncan A. Human méthylène tétrahydrofolate réductase :isolation of cDNA, mapping and mutation identification. Nat Genet 1994,7 :195-200

33-Gostav Piter.L'espoir d'une prévention, Cancer du Col de l'utérus,2008, p 27

34-Greslin, C. Mougin, E. Seilles.Biologie des infections à papillomavirus. R2ponse immunitaire. Annales de biomologie clinique, 1998, Volume 56 267-276

35-Hainaut P, Montesano R, Wild C. in the clinics, 1998, vol 1, pp 3676-4614, p 53

36-Haie-Meder. Papillomavirus and cancer: from basic studies to clinical application. Nat Rev, 2010, p 342-350

37-Hiyama K. Telomeres and telomerase in Cancer. Hiroshima, 2009, 24 ISBN 978616-0327-3060, p 23

38-Hildesheim A, Herrero R, Castle PE, HPV co-factors related to the development of cervical cancer: results from a population-based study in Costa Rica- British journal of cancer, 2001, 88(9): 1219-1226

39-Henao OL, Piyathilake CJ, Waterbor JW, Funkhouser E, Johannig GL, Heimburger DC. Women with polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and methionine synthase (MS) are less likely to have cervical intraepithelial neoplasia (CIN) 2 or 3. Int J Cancer 2005, 113 (6) : 991-7.

40-Howie, HL., Katzenellenbogen, RA. & Galloway DA. Papillomavirus E6 proteins. Virology, 2009, Vol. 384, No. 2, p 324-334.

41-Jae woongsull, Jee SH, Yi S, Lee JE, Park JS. The effect of methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism C677T on cervical cancer in Korean women. Gynecol Oncol 2004, 95: 557-563.

42-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

43-Kjaer S, Chackerian B, Van den Brule AJ, et al. High-Risk Human Papillomavirus Is Sexually Transmitted: Evidence from a Follow-Up Study of Virgins Starting Sexual Activity. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention, 2001, Vol 10, 101-106

44-Laffaargue F, Giacalone L. Cancer du col de l'utérus. Épidémiologie, anatomie pathologique, dépistage, diagnostic, évolution, pronostic, traitement. Rév Prat, 2002, 42, 20 p 2615

45-Lambropoulos AF, Agorastos T, Foka ZJ, Chrisafi S, Constantindis TC, Bontis J, Kotsis A. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism C677T is not associated to the risk of cervical dysplasia. Cancer Lett 2003, 191 : 187-91.

46-Lanz Susanne, cancer du col de l'utérus et lésion précancéreuses. Ligue suisse contre le cancer, Berne, 2010, p 40

- 47-Iondono-Vallejo, Hogolf, Schinz IK.** Les télomères, *Biologie cellulaire et moléculaire*, 2006, p126-130
- 48-Ma J, Stampfer MJ, Giovannucci E, C Artigas, Hunter DJ, Fuchs C.** Polymorphisme réductase de méthylène-tétrahydrofolate, les interactions alimentaires et le risque de cancer colorectal. *Cancer Res.*1997, 57(6) :1098-102.
- 49-Marie Jean.** Indication actuelles de l'examen colposcopique. *JGynécol.Biol.Reprod*,2005, 22, p 729-736
- 50-MeiQ, Hutter C, Baron J, Caan B.** l'association entre la MTHFR C677T polymorphisme du cancer du col *BMC*,2012.
- 51-Monika GOS, Agnieszka SZPECHT-POTOCKA.** Genetic basis of neural tube defects. Genes correlated with folate and methionine metabolism, *J. Appl. Genet.* 2002, 43(4), p 511-524
- 52-Monsonogo Joseph,** Papillomavirus et cancer du col de l'utérus. *Médecine/sciences*, 1996, Volume 12, p 733-744
- 53-Morice P, Castaigne D, Dauplat J.** Cancer du col utérin. *Bio hum, Masson*, 2005, p 5.
- 54-Morice Philippe.** Stratégies de diagnostic, les cancers gynécologiques, *Référentiel Régional Gynécologie-Reseau Onco Pays de la Loire*,2008,2,140p
- 55-Moscicki AB, Kjaer S, Villa L, Jenkins D.** Updating the natural history of HPV and anogenital cancer. *vaccine* 2006 Aug 21 ; 24 Suppl 3 :p42-52
- 56-Mougin M, Nicolier M, Decrion-Barthoda AZ.** Mécanisme de l'oncogenèse. HPV et cancer, *Revue francophone des laboratoires*, 2008, 405, P 35-42
- 57-Munoz, N., Castellsague, X., de Gonzalez, A.B., and Gissmann, L** Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer, 2006, *Vaccine* 24 Suppl 3, S3-1-S310.
- 58-Pater MM, Mittal R, Pater A.** Role of steroid hormones in potentiating transformation of cervical cells by human papillomaviruses. *Trends Microbiol*,1994,2, p 29-34
- 59-Piyathilake CJ, Macaluso M, Johanning GL, Whiteside M, Heimburger DC, Giuliano A.** Méthylène-tétrahydrofolate réductase (MTHFR) polymorphisme augmente le risque de cervical intraépithéliale néoplasie. *Anticancer Res* 2000 May-Jun, 20(3A) :1751-7

60-Ramé A, Théron S. Appareil génital féminin. Anatomie et physiologie. Paris :Elsevier Masson SAS, 2007, ISBN 2-84299-834-0, p 272-278

61-Schneider A, Hotz M, Gissmann L. Increased prevalence of human papillomaviruses in the lower genital tract of pregnant women. *Int J Cancer* 1995,40, p198-201

62-Schiffman, M., Wentzensen, N., Wacholder, S., Kinney, W., Gage, J.C., and Castle, P.E. Human papillomavirus testing in the prevention of cervical cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 2001, 103, p 368-383.

63-Segondy M, Classification des papillomavirus (HPV). *Revue Francophone des laboratoires*, 2008, Volume 405, p 23-25

64-Solomon S, Masilanni M, Rajendran L, Bastemeyer M, Stuemer CA. IARC Handbooks of Cancer Prevention, Cervix screening, 2002, vol 10.

65-Suguna Badiga, Gary L. Johanning, Maurizio Macaluso, Andres Azuero, Michelle M. Chambers, Nuzhat R. Siddiqui, and Chandrika J. Piyathilake A Lower Degree of PBMC L1 Methylation in Women with Lower Folate Status May Explain the MTHFR C677T Polymorphism Associated Higher Risk of CIN in the US Post Folic Acid Fortification Era, 2014.

66-Stevens A, Lowe James. cancer du col de l'utérin. *Histologie humaine*. 2^eed Paris, France, 2002, p 327-350

67-Stevens, A, Lowe, J, Wheeler PR, Young B. Anatomie pathologique. Atlas de Wheeler, 2005, 12-77p

68-Tbeau. P, Sandjong I, Nkele N, et al. Lésion précancéreuse du col utérin en zone rurale : étude transversale. *Médecine d'Afrique Noire*, 2005, 52, p.27-31

69-Ueland PM, Rozen R(eds). MTHFR polymorphisms and disease. Georgetown: Landes Bioscience/Eurekah, 2005, p210

70-Villers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU. Classification of papillomaviruses. *Virology*, 2004, 32, 1, 17-27.

71-Voet D, Judith G. Rousseau V. Biochimie 2ed. Bruxelles, Belgique : de boeck, 2005, ISBN 28041 47959, p 1505-1509

72-Walboomer JN, Jacobs M, Manos MM, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol*, 1999, 189p

73-Zhuo WL, Zhang L, Ling JJ, Zhu Y, Chen ZT. MTHFR C677T and A1298C polymorphisms and cervical carcinoma susceptibility: meta-analysis based on 4,421 individuals. *Mol Biol Rep* 2012, 39: 8723–8732

Webographie:

1-Baldauf, 2006 cancer du col de l'utérus. Polycopie : module 10- Cancérologie clinique onco-hématologie, faculté de médecine de Strasbourg, 2006, 180, 190p. Disponible sur :

http://www.wulpmc.ustrasbg.fr/médecine/cors_en_ligne/e_cours/cancero/module10_item147a.pdf; page consultée le 08.04.2015

2-Boumazza Amina. L'Algérie est 5^{ème} en monde par la prévalence de cancer du col utérin, 2012. Disponible sur : <http://www.algerie-focus.com>. Consultée le: 17-05-2015

3-Boubli L, Blanc B, Taranger-Charpin C. La classification des types du cancer du col de l'utérus. Tumeurs du col utérin, tumeurs du corps utérin ; Faculté de Médecine de Marseille. France, 2005, volume 2, P 1 47. Disponible sur: <http://medidacte.timone.Univ-mrs.fr> ; consultée le 25-05-2015

ANNEXES

Annexe I : Les différences stades du cancer du col de l'utérus :

Stades TNM	Stades FIGO	Signification
Tx		Tumeur impossible à évaluer
T0		Pas de tumeur décelable
Tis	0	Carcinome in situ (CIN)
T1	I	Carcinome limité à l'utérus
T1a	Ia	Carcinome invasif vu à la biopsie
T1a1	Ia1	Invasion inférieure à 3mm en profondeur et 7mm en surface
T1a2	Ia2	Invasion supérieure à 3mm en profondeur et inférieure à 5mm en surface
T1b	Ib	Toute lésion microscopique plus étendue que T1a2/Ia2 ou lésion infiltrante cliniquement visible limitée au col
T1b1	Ib1	Lésion inférieure ou égale à 4 cm dans sa plus grande dimension
T1b2	Ib2	Lésion supérieure à 4 cm dans sa plus grande dimension
T2	II	Lésion de plus de 4cm. Extension au-delà de l'utérus sans envahissement de la paroi pelvienne ou du tiers inférieur du vagin
T2a	IIa	Pas d'envahissement des tissus autour de l'utérus II A1 moins de 4cm de diamètre II A2 plus de 4 cm de diamètre
T2b	IIb	Envahissement des tissus autour de l'utérus
T3	III	Extension à la paroi pelvienne, ou au 1/3 inférieur du vagin ou encore atteinte du rein.
T3a	IIIa	Atteinte du 1/3 inférieure du vagin sans extension à la paroi du pelvis
T3B	IIIb	Atteinte de la paroi pelvienne ou encore atteinte du rein
T4	IV a	Extension à la muqueuse de la vessie ou au rectum ou extension au-delà de la paroi pelvienne
M1	IV b	Métastases à distance

Annexe II :

Questionnaire

Patiente N° :

Nom :

Prénom :

Age :

Poids :

Taille :

Adresse :

Tel :

Profession :

Situation familiale : mariée jeune fille

Age du mariage (date du 1^{er} rapport):

Nombre des mariages (nombre de partenaires):

Moyen de contraception : pilules préservatifs stérilets autres

Nombre de grossesses : date de la 1^{ere} grossesse :

Allaitement : oui non

Ménopause : oui non

Hygiène (utilisation de produit chimique) : oui non

Infection virale : oui non

Tabagisme : oui non nombre de cigarettes par jour :

Lieu d'habitat : rural urbain

Etats d'immunodépression : oui non

Présence du cancer dans la famille: oui non

Type du cancer (mentionné dans le dossier) :

Date du diagnostic et motif d'hospitalisation:

Traitement :

Durée du traitement :

Rémission complète : oui non

Poursuite évolutive :

Rechute : oui non date de rechute :

Si autre cancer : Diagnostiqué le :

Siège:

Bilan du cancer (mentionné dans le dossier médical) :

Examen clinique :

Examen gynécologique (examen au spéculum et toucher vaginal) :

Examen du rectum (toucher rectal) :

Examen de l'abdomen et des aires ganglionnaires :

Frottis cervico-utérin :

Colposcopie :

Biopsie :

Examen Anatomopathologique :

IRM pelvienne :

Analyses de sang :

Hémogramme :

Bilan hépatique et rénal :

Dosage des marqueurs tumoraux SCC :

Autres remarques :

Annexe III :

Centre hospitalier Universitaire BenBadis Constantine

Laboratoire de biologie et génétique moléculaire

Laboratoire de biochimie

<u>Identification du patient</u>	N du prélèvement :
NOM : Prénom :	Adresse :
Date de naissance :	Tel :

CONSENTEMENT

Je soussigné(e), sus nommé, reconnais avoir été informé(e) par lesur les examens des caractéristiques génétiques qui seront réalisées, dans un but diagnostic et/ou de recherche à partir :

Du prélèvement qui m'a été effectué

A visée diagnostique

A visée de recherche

Pour

.....

Je donne mon consentement pour ce prélèvement et je reconnais avoir reçu l'ensemble des informations, permettant la compréhension de cet acte biologique et sa finalité.

Fait à.....le Signature

ATTESTATION

Je certifie avoir informé le (ou la) patient(e) sus nommé(e) sur les caractéristiques de la maladie recherchée, les moyens de la détecteur, les	
---	--

possibilités de prévention et de traitement, et avoir recueilli le consentement du (ou de la) patient(e)	Signature et cachet
--	---------------------

Un document de ce type doit accompagner la prescription- et les documents cliniques indispensables – pour chacune des analyses demandées.

Le médecin prescripteur doit conserver le consentement écrit, les doubles de la prescription et de l'attestation, et les comptes rendus d'analyses de biologie médicale commentés et signés.

Annexe IV:

-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.

Annexe V :

Tableau 1: Préparation du milieu réactionnel du PCR pour *MTHFR*

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

Dans l'épendorf : 2 μ l ADN + 49 μ l 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 2: Déroulement des cycles de la PCR dans le thermocycleur

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

Annexe VI:

Tableau 3: 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

RÉSUMÉ

Résumé

Le cancer du col utérin (CCU) est une pathologie d'origine infectieuse .Il se place au deuxième rang des cancers féminins dans le monde, principalement dans les pays en voie de développement, en termes d'incidence et de mortalité. Le CCU continue de poser un réel problème de santé publique. Il est d'origine infectieux : le virus papilloma en est le principal agent causal.

Les résultats de notre étude montrent qu'il y a une association significative entre le polymorphisme C677T et la susceptibilité du cancer du col de l'utérus. On déduit que ce polymorphisme représente un facteur de risque dans la survenue du cancer du col de l'utérus.

Mots clés : le cancer du col de l'utérus, papillomavirus humain, polymorphisme MTHFR

Summary

Cervical cancer is a pathology that has an infectious origin. It is classified second in rank among female cancers in the world, especially in developing countries, in terms of incidence and mortality. Cervical cancer continues to present a serious problem to public health. It has an infectious origin as the papilloma virus is its principal causal agent.

The results of our study shows that, there is a significant association between polymorphism C677T and susceptibility of cervical cancer. We conclude that polymorphism is counted as a risk factor in the occurrence of cervical cancer.

Key words: cervical cancer, papilloma human virus, polymorphism MTHFR.

يعد سرطان عنق الرحم مرضا ناتجا عن عدوى، ويحتل المرتبة الثانية ضمن السرطانات التي تصيب النساء في العالم، وبخاصة في البلدان النامية، من حيث الإصابة به ومعدل الوفيات بسببه. لازال سرطان الرحم يشكل مشكلة حقيقية في مجال الصحة العمومية. وأصل هذا السرطان معد، إذ يُعد فيروس البايوما العامل الرئيس المتسبب فيه.

تُظهر نتائج دراستنا وجود صلة كبيرة بين بوليمورفيسم C677T (تعدد الأشكال) واحتمال التعرض لسرطان عنق الرحم. وبذلك نستنتج أن بوليمورفيسم يُشكّل عامل خطر في حدوث سرطان عنق الرحم.

الكلمات المفتاحية: سرطان عنق الرحم، فيروس بابيوما، الجينة متعددة الشكل MTHFR.

Année Universitaire : 2014/ 2015

Présenté par : KHEDIRI IMEN

Cancer du col de l'utérus : étude moléculaire

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

Résumé

Le cancer du col utérin (CCU) est une pathologie d'origine infectieuse .Il se place au deuxième rang des cancers féminins dans le monde, principalement dans les pays en voie de développement, en termes d'incidence et de mortalité. Le CCU continue de poser un réel problème de santé publique. Il est d'origine infectieux : le virus papilloma en est le principal agent causal.

Les résultats de notre étude montrent qu'il y a une association significative entre le polymorphisme C677T et la susceptibilité du cancer du col de l'utérus. On déduit que ce polymorphisme représente un facteur de risque dans la survenue du cancer du col de l'utérus.

Mots clés : le cancer du col de l'utérus, papillomavirus humain, polymorphisme MTHFR

Structure de recherche : Service d'oncologie Médicale du CHU de Constantine

Laboratoire de recherche : Laboratoire de Biologie et Génétique Moléculaire

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : Mme REZGOUNE (MC.A Université Frère Mentouri – Constantine)

Rapporteur : Mme SEMAME (MA.A Université Frère Mentouri – Constantine)

Examineurs : Mme BECHKRI (MA.A Université Frère Mentouri – Constantine)

Date de Soutenance : 01 / 07 /2015