

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**



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

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master
Domaine : Science de la nature et de la Vie
Filière : Biologie Animale
Spécialité : Génétique Moléculaire**

Intitulé :

**Le polymorphisme C677T de la méthylène tétrahydrofolate
réductase et risque de cancer gastrique**

**Présenté et soutenu par : Djeghader Wassila
Béchara Asma**

le : 01/07/2015

Devant le Jury d'évaluation :

Président du jury : DR REZGOUNE. D (MC.B université Constantine 1)

Rapporteur : K.SIFI (MCA Faculté de médecine université Constantine 3)

Examineurs : Mme ZIADA. H (MA.A université Constantine 1)

**Année Universitaire
2014/2015**

Remerciements

En préambule à ce mémoire, Nous souhaitons adresser nos remerciements

Les plus sincères à **Dieu** de nous avoir tenues en bonne santé et de nous avoir accordé des connaissances de la science, Grâce à vous nous avons eu la force et le courage d'entreprendre ce travail.

La première personne que nous tenons à remercier sincèrement est notre encadreur Mme **SIFI Karima** MCA à l'UC3, nous lui sommes reconnaissantes, pour le temps conséquent, ses qualités pédagogiques et scientifiques, sa franchise, sa sympathie et sa disponibilité pour la réalisation de ce travail. Nous avons beaucoup appris à ses côtés et nous lui adressons notre gratitude pour tous cela sincèrement vous nous faites l'honneur d'être notre encadreur.

Nos remerciements s'adressent également à **DR REZGOUNE. D** pour avoir accepté d'être le président du jury, et à **Mme ZIADA. H** d'être l'examinatrice de ce modeste travail.

Nous tenons à remercier spécialement Mme **SATTA Dalila** notre mère de la génétique et tous nos enseignants et surtout **M^r REZGOUNE M^{ed} Larbi** qui ont veillé sans relâche de nous transmettre le savoir durant toutes ces 5 années dans un cadre de respect mutuel.

A toute personne qui a participé de près ou de loin pour l'accomplissement de ce modeste travail et à tous les patients cancéreux qu'**Allah** vous guéri.

Dédicaces

Je dédie ce mémoire à...

A mon père Badaoui pour sa patience, sa confiance et son respect de mes choix et son orientation de mes aidés vers le bon chemin, rien au monde ne vont les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

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

A mon très chère frère Zaki et mes très chères sœurs Meriem Khaoula Aicha, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous, je vous souhaite une bonne continuation dans votre vie.

A mon grand-père Saïd que dieu vous protège.

A toute ma famille et à tous mes amis.

Un spécial remerciement pour "Wassila" qui je considère comme une sœur une très chère amis que dieu nous protège notre amitié.

A la formidable promotion 2015 du Master 2 Génétique moléculaire.

ASMA

Dédicaces

Je dédie ce mémoire...

A le plus beau don de dieu, mes parents : Alhacèn et Akila, lumière de ma vie, aucune dédicace ne serait être assez éloquente pour exprimer ce que vous mérites pour tous les sacrifices et les efforts à faire à moi ce que je suis. Que dieu vous garde pour nous.

A mes très chère sœurs : Imane ; Fayrouz ; Abir ; Boutayna. Je vous souhaite une bonne continuation dans votre vie.

A mon frère unique : Fayçal.

A mon adorable cousin : Siradje.

A mes très chère grands parents : Drifa et Saad, que dieu vous donnez longue vie.

A mes oncles et mes tantes.

A tous mes amis et spécialement mon intime Asma, merci pour tous les moments inoubliable qu'on a passé ensemble.

A tous les gens qui m'aiment et qui j'aime.

A tous la promotion 2014/2015 de la génétique moléculaire.

Wassila

Liste des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction.....	01
CHAPITRE I : Estomac	
I-1- l'anatomie de l'estomac.....	05
I-2- la vascularisation de l'estomac.....	06
I-3- histologie de l'estomac.....	08
I-4- les fonctions de l'estomac.....	10
CHAPITRE II : Cancer de l'estomac	
II - 1 –Epidémiologie.....	12
II-1-1-Incidence.....	12
II.1.2.Facteur de risqué.....	13
II -1-3-Personnes à risque	15
II -2 - Les symptômes.....	16
II -3- Histoire naturelle.....	17
II-3-1-Lésions précancéreuses.. ..	17
II-3-2- Extension précancéreuses	17
II-3-3 Envahissement ganglionnaire	17
II-3-4- Métastases.....	17
II-4- les différents types de cancer de l'estomac.. ..	17
II-4-1-Adénocarcinome.....	17
II-4-2- Les autres type.....	18
II-5- Classification.. ..	19
II-5-1- Classification TNM... ..	19
II-6- Diagnostic.. ..	19
II-6-1- circonstances de découverte... ..	19
II-6-2- Signe physique.....	19

II-6-3- Endoscopie avec biopsie..	20
II-6-4- Bilan d'extension.....	20
II-7- Prévention.....	20
II-8- Principe du traitement.....	21
II-8-1- Chirurgie.....	21
II-8-2- Radiothérapie.....	22
II-8-3- Chimiothérapie	22
II-9- Surveillance post-thérapeutique..	22
CHAPITRE III : Génétique de cancer de l'estomac	
III-1- L'instabilité génomique..	24
III-1-1- L'instabilité génomique..	24
III-1-2- Instabilité chromosomique.	25
III-1-3- Hyperméthylation de l'ADN..	25
III-2- Gènes altérés dans les cancers gastriques..	26
III-2-1- Les proto oncogènes ; oncogènes	26
III-2-2- Les gènes suppresseurs de tumeurs	26
III-3- Les autres facteurs génétiques de susceptibilité au cancer gastrique : exemple de polymorphisme C677T de gène de la MTHFR	26
III-3-1- Gène de la MTHFR	26
III-3-1-1- Localisation et structure de gène MTHFR	26
III-3-1-2- La protéine MTHFR	27
III-3-1-2-1- Structure de protéine MTHFR	27
III-3-1-2-2- Fonction de la protéine de MTHFR	27
III-3-1-3- Les mutations de la MTHFR	28
III-3-1-3-1- Les polymorphisme de gène MTHFR.....	28
III-3-1-3-2- Le polymorphisme C677T	29
III-3-1-3-3- Le polymorphisme A1298C	33
CHAPITRE IV : Patients et méthodes	
IV-1 – Patients	35
IV-1-1-Recrutement des sujets	35
IV-1-2- Questionnaire et enregistrement	36

IV-1-3-Prélèvement sanguin	37
IV-1-4-Enregistrement du prélèvement	37
IV-2-Méthodes	37
IV-2-1- L'extraction de l'ADN	38
IV-2-1-1- principe	38
IV-2-2-La détermination de la pureté de l'ADN	38
IV-2-3-La détermination de la concentration de l'ADN	39
IV-2-4-PCR ou amplification de l'exon 4 du gène de la MTHFR	39
IV-2-5-Contrôle des produits de la PCR	40
IV-2- 6-Digestion des produits par la PCR	41
IV-2-7- Digestion par l'enzyme de restriction Hinf I du fragment amplifié ...	41
IV-2-8- Séparation des produits de digestion	42
IV-2-9-Révélation du profil électrophorétique	43
IV-3- L'Etude statistique	44
IV-3-1-calcul des moyennes	44
IV-3-2-calcul des écarts types	44
IV-3-3-Calcul des odds ratios	44
IV-3-4-Les intervalles de confiance	45
IV-3-5-Choix de la P-value	45
CHAPITRE V :Résultats	
V-1-Répartition des témoins	48
V-1-1-Selon le sexe	48
V-1-2-Selon l'âge.....	48
V-1-3-Selon l'âge et le sexe.....	50
V-1-4-Répartition des fréquences génotypiques et alléliques de la MTHFR chez les témoins.....	51
V-1-5-Selon les fréquences alléliques.....	52
V.2. Répartition des malades..	53
V.2.1. Répartition des malades selon le sexe.....	53
V.2.2. Répartition des patients selon l'âge.....	54

V.2.3. Répartition des sujets malades selon le groupe sanguin.....	55
V.2.4. Répartition des sujets malades selon la localisation du cancer gastrique	56
V.2.5. Répartition selon le type histologique du cancer gastrique.....	57
V.2.6. Répartition des sujets malades selon les facteurs de risque.....	58
V.2.7. Fréquence génotypique et allélique de la MTHFR chez les malades..	59
V.2.7.1.Fréquences génotypiques de la mutation C677T de la MTHFR des sujets malades.....	59
V.2.7.2.Fréquences alléliques de la C677T de la MTHFR des sujets malades.....	60
V.2.8. Répartition des sujets malades selon les antécédents de cancer	61
V.3. Fréquences génotypiques des malades et des témoins.....	62
V.4. Fréquences alléliques de la MTHFR des témoins et des malades.....	63
V.5. Calcul des odds Ratios.....	64

CHAPITRE VI : Discussion.

VI-1-Les caractéristiques phénotypiques de nos patients.....	66
VI-1-1-Selon le sexe et âge.....	66
VI-1-2-Selon la localisation du cancer gastrique.....	68
VI-1-3-Selon le groupage.....	68
VI-1-4-Les antécédents aux maladies ulcéreuses et familiales de cancer.....	68
VI-1-5-Le type histologique de la tumeur.....	69
VI-2- Caractéristiques génotypiques de nos patients.....	69
VI-3-Distribution des fréquences alléliques et génotypiques chez les patients	72
Conclusion.....	79
Les références bibliographiques	
Les annexes	
Résumé	

LISTE DES ABREVIATIONS

APC : Adenomatous polyposis coli

ala: alanine

Bab A: Blood group antigen-binding adhesion

BBP : Bleu de Bromophénol

BET: Bromured'Ethidium

CDH 1: Cadherin 1, type 1-E-cadherin

CIMP : CpG Island Methylateur Phénotype

CIN : Chromosomal Instability

CpG: Dinucleotide 5'-cytosine-guanine-3'

CRP: Protéine C-Réactive

DCC: Deleted in Colon Carcinoma

DHF: Dihydrofolate, Metabolic cycle folate

EDTA: Ethylene Diamine Tetraacetic Acid

EGF: Epidermal Growth Factor

FAD: Flavin Adenine Dinucleotide

FR : Facteur de Risque

GC: Gastric Cancer

Hcy: Homocysteine

HP : Helicobacter pylori

IC : Intervalle de Confiance

IRM : Imagerie par Rayonnement Magnétique

K-RAS: Kirsten Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog

MALT: Mucosa Associated Lymphoid Tissue

Met: Mesenchymal Epithelial Transition factor

MMR: Mismatch Repair

MS: Methionine Synthase

MSI : Microsatellite Instability

MTHFR : Méthylène Tetrahydrofolate Réductase

NS : Non Significant

OMS : Organisation Mondiale de santé

OR : Odds Ratio

P : Probabilité d'erreur

P53 : Protéine de 53 KD

RFLP : Polymorphisme de Longueur des Fragments de Restriction

RR : Risque Relative

SAH : S-adénosyl-Homocystéine

SAM: S-adénosyl-Methionine

SDS: Sodium Dodecyl Sulfate

TGF: Transforming Growth Factor

TNM : T : Tumeur, **N :** Envahissement ganglionnaire, **M :** Métastase

TS: Thymidylate synthase

VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor

V-erb-b2: avian erythroblast leukemia viral oncogene homolog 2

Liste des tableaux

Tableau 01 : Tableau de contingence.....	45
Tableau 02 : Répartition des témoins selon sexe.....	48
Tableau 03 : Répartition en tranche d'âge dans la population témoins.....	49
Tableau 04 : Répartition de la population témoin selon l'âge et le sexe.....	50
Tableau 05: Répartition des sujets malades selon le type histologique du.. cancer gastrique.....	51
Tableau 06 : Répartition des sujets malades selon les facteurs de risques.....	52
Tableau 07 : Répartition des sujets malades selon le sexe.....	53
Tableau 08 : Répartition des sujets malades selon l'âge.....	54
Tableau 09 : Répartition des sujets malades selon les groupes sanguins.....	55
Tableau 10 : Répartition des sujets malades selon la localisation de cancer gastrique.....	56
Tableau 11 : Répartition des sujets malades selon le type histologique du cancer gastrique.....	57
Tableau 12 : Répartition des sujets malades selon les facteurs de risques.....	58
Tableau 13 : Fréquences génotypiques de la mutation C677T de la MTHFR des sujets malades.....	59
Tableau 14 : Fréquences alléliques de la C677T de la MTHFR des sujets malades.....	60
Tableau 15 : Répartition des sujets malades selon les antécédents de cancer.....	61
Tableau 16 : Répartition des génotypes de la MTHFR des témoins et des mala.....	62
Tableau 17 : Répartition des fréquences alléliques de la MTHFR dans la population témoins et malades.....	63
Tableau 18 : Les fréquences génotypiques et alléliques dans différents pays et groupes ethniques.....	71
Tableau 19: Répartition des fréquences alléliques chez les patients.....	72

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : vue antérieure des régions de l'estomac.....	06
Figure 02 : la vascularisation de l'estomac.....	07
Figure 03 : l'histologie de l'estomac.....	09
Figure 04 : localisation de gène de la MTHFR sur le chromosome 01.....	27
Figure 05 : Métabolisme de l'acide folique.....	28
Figure 06 : La relation entre le génotype de la MTHFR ; la riboflavine (R) et l'acide folique(F) avec respect de CpG méthylation et l'uracile dans l'ADN.....	32
Figure 07 : profil d'électrophorèse sur gel d'agarose 1,5% des fragments amplifiés (198pb) par PCR du gène de la MTHFR.....	41
Figure 08 : Site de restriction de l'enzyme Hinf I.....	42
Figure 09 : Profil d'électrophorèsesur gel d'agarose des fragments issus du clivage par Hinf I et présentation des différents génotypes deC677T de la MTHFR.....	44
Figure 10 : Répartition des témoins selon le sexe.....	48
Figure 11 : Répartition des témoins selon l'age	49
Figure 12 : Répartition de la population témoin selon l'âge et le sexe.....	50
Figure 13 : Répartition des fréquences génotypiques chez les témoins.....	52
Figure 14 : Répartition des fréquences alléliques chez les témoins.....	53
Figure 15 : Répartition des sujets malades selon le sexe.....	53
Figure 16 : Répartition des sujets malades selon l'âge.....	55
Figure 17 : Répartition des sujets malades selon les groupes sanguins.....	56
Figure 18 : Répartition des sujets malades selon la localisation de cancer gastrique.....	57
Figure 19 : Répartition des sujets malades selon le type histologique du cancer gastrique.....	58
Figure 20 : Répartition des sujets malades selon les facteurs de risques.....	59
Figure 21 : Fréquences génotypiquesde la mutation C677Tde la MTHFR des sujets malades.....	60
Figure 22 :Fréquences alléliques de la C677T de la MTHFR des sujets malades	61
Figure 23 : Répartition des sujets malades selon les antécédents de cancer.....	62
Figure 24 : Répartition des génotypes de la MTHFR des témoins et des malades.....	63
Figure 25 : Répartition des fréquences alléliques de la MTHFR dans la population témoins et malades.....	64

INTRODUCTION

À travers le monde, le cancer de l'estomac demeure tout de même la 2^e cause de mortalité par cancer. Ce type de cancer est plus fréquent dans les populations aux conditions socio-économiques précaires, qui ont beaucoup recours à la salaison et au fumage pour la conservation des aliments. Le Japon, la Chine et le Chili figurent parmi les pays les plus touchés. Dans les pays industrialisés, la réfrigération a contribué à réduire l'incidence de ce cancer [1]. En Algérie et selon une étude épidémiologique sur les cancers digestifs dans la région de Sétif, le cancer gastrique arrive en première position parmi les cancers digestifs et ceci pour les deux sexes [2].

Il n'a pas été identifié de groupes à risque susceptibles de bénéficier d'un dépistage ciblé et les facteurs de risques étant essentiellement des facteurs épidémiologiques [3].

Le cancer gastrique, cancer agressif, présente une symptomatologie clinique discrète, le plus souvent tardive et aspécifique, témoignant d'une maladie déjà localement avancée ou métastatique, ce qui est responsable du mauvais pronostic malgré les progrès de la chirurgie et de l'oncothérapeutique [4,5,6].

La forme classique du cancer gastrique est l'adénocarcinome (90%). Plus rarement d'autres types histologiques malins peuvent être identifiés. Le pronostic est sévère, et la plupart des cas sont diagnostiqués à un stade avancé [2].

Le développement du cancer gastrique est caractérisé par une combinaison complexe entre des événements génétiques et épigénétiques avec une instabilité marqué du génome tumoral.

Des progrès considérables ont été apportés à l'étude des facteurs de risque du GC en particuliers ceux liés à certaines voies métaboliques, nous citons la MTHFR [7].

Plusieurs polymorphismes nucléotidiques peuvent potentiellement altérer la sensibilité individuelle au cancer et particulièrement au cancer gastrique. Parmi ceux-ci, les gènes dont les enzymes sont impliqués dans le métabolisme des folates.

La méthylènetétrahydrofolate réductase (MTHFR) est une enzyme clé dans le métabolisme des folates, dont le rôle dans la carcinogenèse gastrique est controversé [3,8].

Depuis sa caractérisation biochimique en 1991 [9] et son identification génétique en 1995 [10], l'allèle C677T du gène MTHFR a suscité un intérêt tout particulier en recherche clinique. C'est ainsi qu'il s'est avéré être un facteur de risque associé à des pathologies diverses [10,11].

Le polymorphisme C677T identifié sur le gène de la MTHFR est une substitution d'une cytosine par une thymine en position 677 dans la séquence nucléotidique. Elle se traduit dans la séquence protéique par la substitution d'une alanine par une valine sur le codon 222.

l'activité de cette enzyme varie selon les polymorphismes du gène de l'enzyme et de l'apport alimentaire en folates [12].

Ce polymorphisme conduit à la formation d'un variant enzymatique thermolabile à activité réduite entraînant de ce fait, à la fois, un ralentissement de l'activité du cycle de l'acide folique et une diminution du potentiel de l'organisme à transformer l'homocystéine en méthionine [13].

Ce variant C677T de la MTHFR, semble interférer avec les phénomènes de la carcinogenèse en modulant la méthylation de l'ADN et en contrôlant la synthèse de ce dernier [14]. Ce polymorphisme est celui qui a fait l'objet du grand nombre d'étude dans le cadre des cancers digestifs.

Ce polymorphisme est commun dans la population générale de différentes régions du monde [15,16,17], et a fait l'objet de nombreuses études dans le cadre du cancer gastrique notamment en Europe, aux Etats Unies

d'Amérique [18]. Cependant, les études menées dans les populations africaines et Maghrébines sont rares, voire absentes. Quand est-il en Algérie et précisément à Constantine ?

Les objectifs de notre travail :

1. Evaluer l'influence des différents facteurs de risque (sexe, âge, tabac, habitudes alimentaires...) sur le cancer de l'estomac.
2. Rechercher le polymorphisme C677T de la MTHFR chez des témoins et chez des patients présentant un cancer de l'estomac.
3. Etablir la relation entre la mutation C677T du gène de la MTHFR et le cancer de l'estomac.

CHAPITRE I :

L'ESTOMAC

I-L'estomac :

L'estomac est une partie du tube digestif en forme de J. Il est situé directement sous le diaphragme dans les régions : épigastrique, ombilicale et hypochondriaque gauche de l'abdomen. Il relie l'œsophage au duodénum, qui est la première partie de l'intestin grêle. Comme les aliments peuvent être avalés beaucoup plus rapidement et que les intestins ne peuvent les digérer et les absorber, une des fonctions de l'estomac est précisément de former un réservoir où la nourriture peut être retenue et malaxée.

A l'intervalle approprié après l'ingestion des aliments, l'estomac pousse une petite quantité de nourriture dans la première partie de l'intestin grêle. La position et la taille de l'estomac changent constamment. Le diaphragme abaisse à chaque inspiration et le tire vers le haut à chaque expiration. Vide, l'estomac fait à peu près la taille d'une grosse saucisse. Il constitue toutefois la partie la plus extensible du tube digestif et peut recevoir une quantité considérable de nourriture. La digestion de l'amidon se poursuit dans l'estomac, celle des protéines et des triacylglycérols y commence. Le bol alimentaire encore partiellement solide y est transformé en liquide et certaines substances y sont absorbées [19].

I.1.Anatomie de l'estomac:

L'estomac comprend quatre grandes régions : le cardia, le fundus, le corps et le pylore. Le cardia entoure l'orifice supérieur de l'estomac. La partie arrondie qui se situe à gauche et au-dessus du cardia est le fundus. Au-dessous de ce dernier se trouve la partie centrale et la plus volumineuse de l'estomac, le corps de l'estomac. La région de l'estomac qui fait la jonction avec le duodénum est le pylore (pyle : porte ; ouros : gardien). Elle comprend deux parties : l'antrum pylorique, qui est reliée au corps de l'estomac, et le canal pylorique, qui mène au duodénum. Sa muqueuse forme de grands replis, appelés plis gastriques,

qu'on peut observer à l'œil nu. Le pylore communique avec le duodénum par le sphincter pylorique. Le bord médial, concave, de l'estomac s'appelle la petite courbure et son bord latéral, convexe, la grande courbure [19].

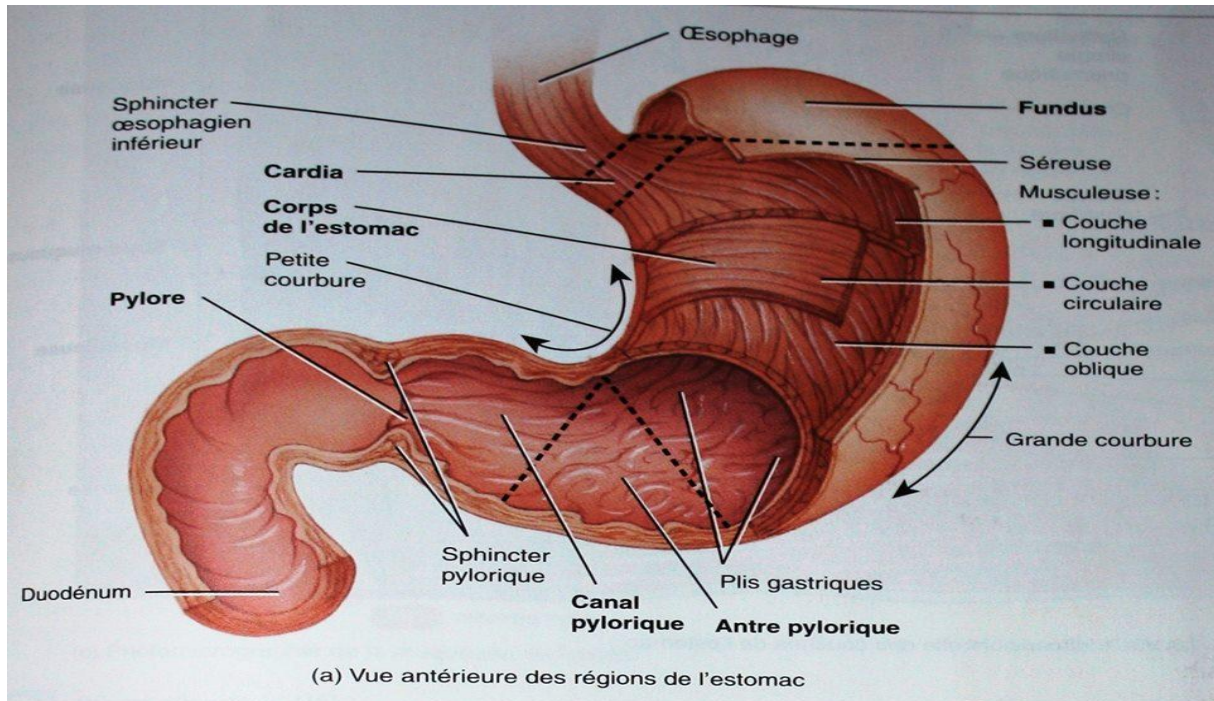


Figure 01 : vue antérieure des régions de l'estomac [19]

I.2. Vascularisation de l'estomac:

Les Artères :

L'estomac possède une très riche irrigation artérielle en provenance du tronc cœliaque et de ses branches. La plus grande partie du sang provient d'anastomoses, qui se forment le long de la petite courbure, entre les artères gastriques droite et gauche et le long de la grande courbure, entre les artères gastroépiploïques droite et gauche. Le fundus et la partie supérieure du corps reçoivent le sang des artères gastriques postérieures et courtes [20].

Les veines :

Les veines gastriques sont satellites des artères gastriques.

Les vaisseaux lymphatiques de l'estomac :

Chapitre I : L'estomac

Le drainage lymphatique de l'estomac peut être résumé de la façon suivante : La lymphe des deux tiers de l'estomac est drainée le long des artères gastriques droites (pyloriques) et gastrique gauches (coronaire stomachique) vers les nœuds : lymphatique gastrique, la lymphe du fondus et de la partie supérieure du corps de l'estomac qui sont également drainées le long des artères gastriques courtes et gastroépiploïques gauches vers les nœuds pancréaticospléniques.

La lymphe des deux tiers droits et du tiers inférieur de l'estomac est drainée le long de l'artère gastroépiploïque droite vers les nœuds pyloriques.

La lymphe en provenance du tiers gauche de la grande courbure est drainée le long des artères gastriques courtes et spléniques vers les nœuds pancréaticoduodénaux[20].

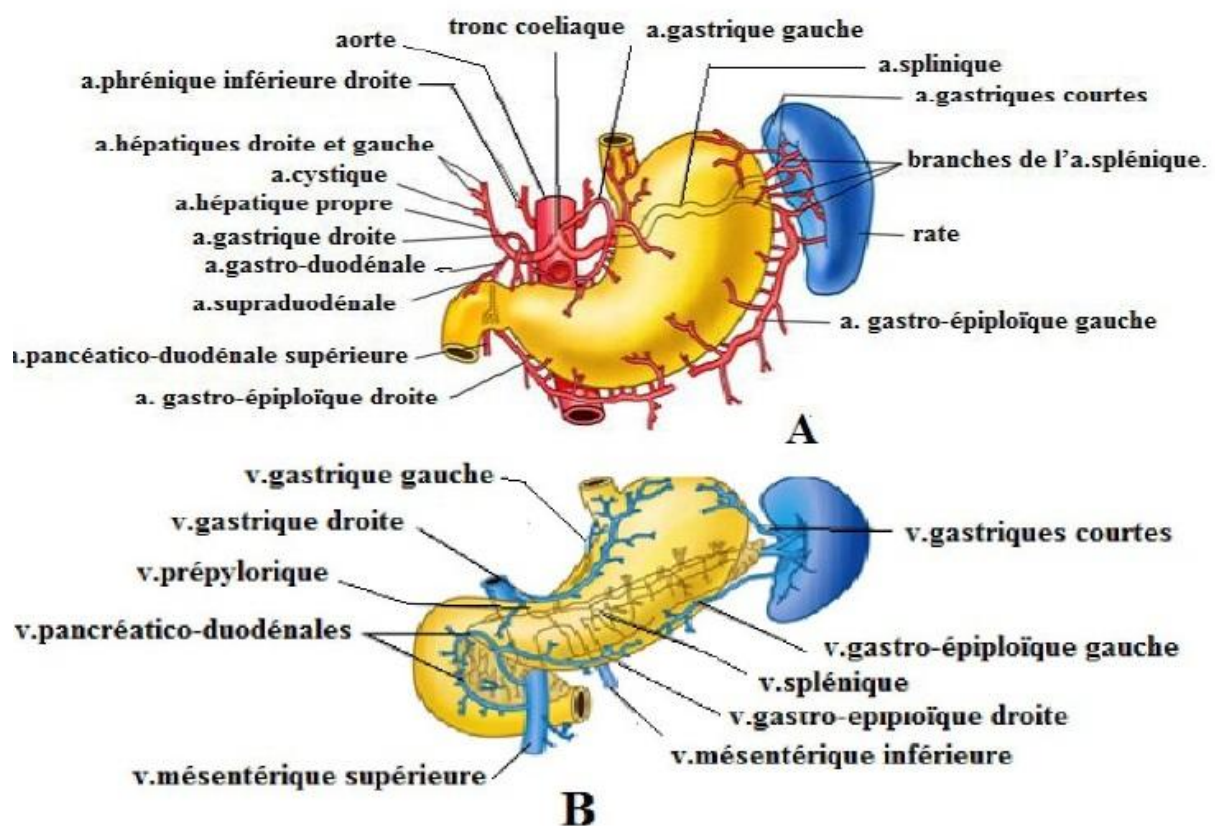


Figure 02 : La vascularisation de l'estomac [20]

I.3.L'histologie de l'estomac:

A quelques particularités près, la paroi de l'estomac comprend les mêmes quatre couches tissulaires que les autres régions du tube digestif. La surface de la muqueuse est une couche de cellules épithéliales simples prismatiques appelées cellules à mucus superficielles. En dessous de cette couche superficielle, toujours dans la muqueuse, se trouvent un chorion et une muscularismucosae. Les cellules épithéliales s'invaginent dans le chorion, ou elles forment des colonnes de cellules sécrétrices appelées glandes gastriques qui débouchent sur un grand nombre de dépressions étroites, les cryptes de l'estomac. Les sécrétions de plusieurs glandes gastriques se déversent dans chacune des cryptes, puis dans la lumière de l'estomac.

Les glandes gastriques contiennent trois types de cellules exocrines dont les sécrétions se jettent dans la lumière de l'estomac : les cellules à mucus du collet, les cellules principales et les cellules pariétales. Les cellules à mucus superficielles et les cellules à mucus du collet sécrètent du mucus. Les cellules pariétales produisent le facteur intrinsèque (nécessaire à l'absorption de la vitamine B12) et de l'acide chlorhydrique. Les cellules principales sécrètent du pepsinogène et de la lipase gastrique [20].

Ensemble, les sécrétions des cellules à mucus, des cellules principales et des cellules pariétales forment le suc gastrique, dont le volume atteint de 2 000 à 3 000 ml par jour. De plus, les glandes gastriques comprennent des entéroendocrines, les cellules G, qui se trouvent surtout dans l'antrum pylorique et qui sécrètent la gastrine dans la circulation sanguine. Cette hormone influe sur plusieurs aspects de l'activité gastrique.

Trois autres couches sous-tendent la muqueuse. La sous muqueuse de l'estomac se compose de tissu conjonctif aréolaire.

Chapitre I : L'estomac

Contrairement à la musculature de l'intestin grêle et du gros intestin, qui compte deux couches de muscle lisse, la musculature de l'estomac en possède trois : une couche longitudinale externe, une couche circulaire moyenne et une couche oblique interne. La couche oblique est en grande partie restreinte au corps de l'estomac. La séreuse se compose d'épithélium simple pavimenteux (le mésothélium) et de tissu conjonctif aréolaire. La portion de la séreuse qui recouvre l'estomac fait partie du péritoine viscéral. Du côté de la petite courbure, le péritoine viscéral s'étend vers le haut jusqu'au foie et porte alors le nom de petit omentum. Du côté de la grande courbure, il se prolonge vers le bas pour former le grand omentum qui recouvre les intestins [19].

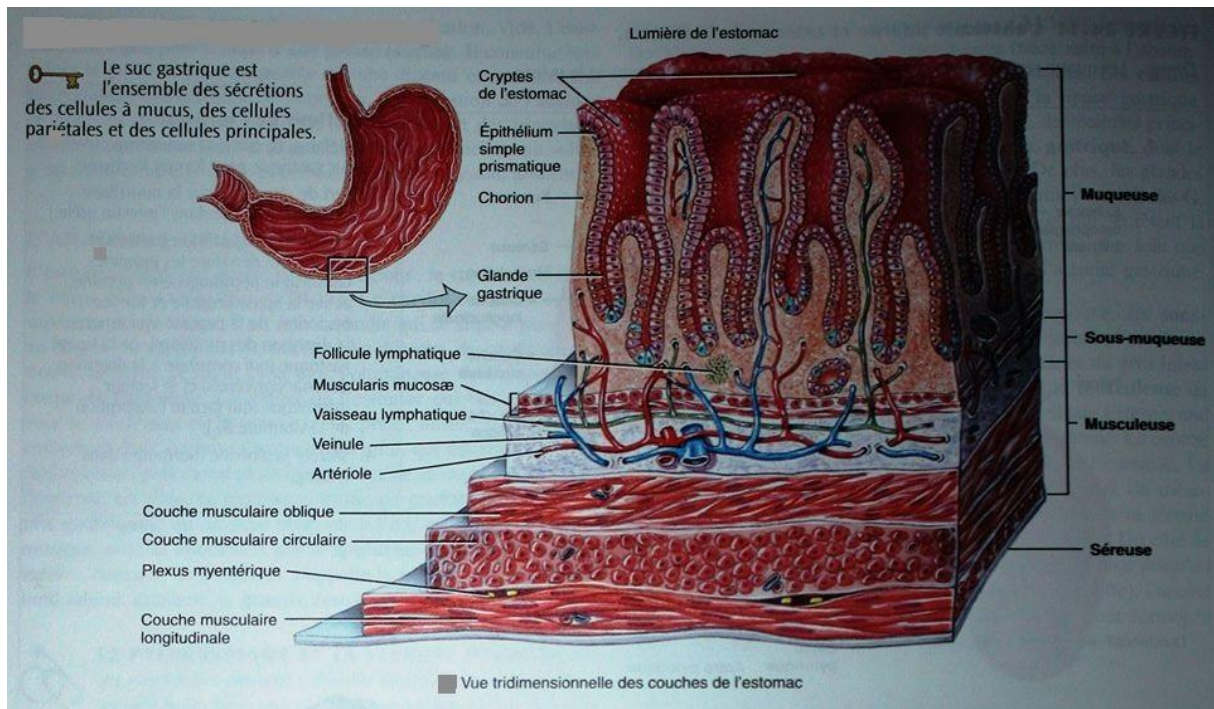


Figure 03 : l'histologie de l'estomac [19]

I.4. Les fonctions de l'estomac:

- Mélange de la salive, la nourriture et le suc gastrique pour former le chyme.
- Sert de réservoir pour la nourriture avant son passage dans l'intestin grêle.
- Sécrète le suc gastrique contenant du HCL, de la pepsine, de la lipase gastrique et le facteur intrinsèque.
- Sécrète la gastrine dans le sang [19].

CHAPITRE II :
CANCER
DE L'ESTOMAC

II-Le cancer de l'estomac :

Le cancer de l'estomac est un des rares cancers dont la fréquence diminue depuis 50 ans en Europe, contrairement au Japon où il constitue la première cause de mortalité par cancer. Il touche cependant encore en France près de 7000 personnes chaque année. Son épidémiologie a suscité un regain d'intérêt avec la mise en évidence du rôle de l' *Helicobacter Pylori* dans sa genèse. Son pronostic global est sombre sans doute parce qu'il est dépisté tardivement. Sur le tiers des patients que l'on opère, 40% survivront au-delà de 5 ans [21].

II.1. Epidémiologie:

II.1.1. Incidence:

Le cancer de l'estomac est le deuxième cancer dans le monde après le cancer du poumon. La répartition de son incidence est hétérogène à travers le monde avec des zones à haut risque comme le Japon, la Chine, l'Amérique du Sud et l'Europe de l'Est, et des zones de faible risque dont l'Europe de l'Ouest [21].

Mortalité:

Les cancers de l'estomac représentent environ 7 à 8% des causes de décès par cancer en France, soit près de 6000 décès/ an.

Il existe une sex-ratio à prédominance masculine de l'ordre de 2/1 (près de 65% d'hommes), l'âge moyen de survenue étant de 50 à 59 ans [22].

L'Afrique se situe dans les régions à faible risque de cancer gastrique [23].

Chapitre II : Le cancer de l'estomac

En Algérie, et selon une étude épidémiologique sur les cancers digestifs dans la région de Chlèf, le cancer gastrique arrive en première position parmi les cancers digestifs et ceci pour les deux sexes [24].

Selon le registre de Sétif, les cancers de l'estomac se situent au quatrième rang des principales localisations du registre. Ils représentent 8,6% de l'ensemble des cancers incidents chez l'homme. Ces cancers sont deux fois plus fréquents chez l'homme que chez la femme [25].

II.1.2.Facteurs de risque:

1. Alimentaires:

L'observation de l'incidence du cancer de l'estomac chez les Japonais ayant émigré aux Etats-Unis a montré que sa fréquence diminue avec le changement des habitudes alimentaires.

- Carences : régime pauvre en fruits et légumes crus, en fibres, en vitamines A et C.
- Régime salé, riche en féculents ou en aliments fumés.
- L'introduction massive du réfrigérateur a diminué en Europe et aux USA la consommation d'aliments fumés et salés [21].

2. Maladies prédisposantes:

Gastrite atrophique : La gastrite atrophique semble être le dénominateur

Commun de toutes les lésions précancéreuses. Une métaplasie intestinale est souvent associée.

Autre : Par ailleurs, il existe d'autres causes plus rarement impliquées mais nécessitant une surveillance spécifique :

Ulcère gastrique non cicatrisé. Bien qu'il s'agisse d'une notion classique, il est actuellement acquis que la dégénérescence des ulcères gastriques est une éventualité rare si l'on élimine les formes ulcérées de cancers qui sont en fait tumorales dès le début de leur évolution.

- Gastrite atrophique autoimmune (dans le cadre de la maladie de Biermer).
- Antécédent de gastrectomie partielle (par gastrite atrophique du moignon restant par reflux duodéno-gastrique), le risque atteignant environ 7% en particulier pour les patients opérés avant 45 ans. Le délai d'apparition de ces cancers étant de l'ordre de 15 à 40 ans.
- Polypes gastriques adénomateux (contrairement aux polypes hyperplasiques qui représentent la majorité des polypes gastriques et qui ne dégèrent pas), comme pour le colon, la taille et l'existence d'un contingent histologique villositaire sont des facteurs prédictifs de dégénérescence [22].

3. *Helicobacter pylori*:

L'infection à *Helicobacter pylori* acquise pendant l'enfance ou l'adolescence dure pendant des décennies. Elle atteint 20% à 90% des adultes selon les pays. Elle est plus fréquente dans les pays en voie de développement.

La réponse inflammatoire qui suit l'infection est à l'origine d'une gastrite chronique qui évolue sans conséquence de façon asymptomatique. Environ 10% des personnes infectées développeront une maladie ulcéreuse et 1% un cancer gastrique.

Selon les données accumulées ces dernières années, l'évolution vers l'une ou l'autre des pathologies est fonction de la prédisposition génétique : hypersécrétion acide et gastrite antrale pour la maladie ulcéreuse, pangastrite

(gastrite de l'antre et du fundus) et l'hyposécrétion acide pour une évolution vers l'atrophie gastrique puis le cancer gastrique.

Les campagnes d'éradication de l'*Helicobacter pylori* devant toute symptomatologie ulcéreuse pourraient diminuer la fréquence de cette localisation cancéreuse. Pour les régions d'endémie, une vaccination n'est pas inimaginable [21].

4. Génétiques:

Risque multiplié par 3 lorsqu'il existe un parent proche ayant eu un cancer gastrique.

Liaison à une mutation germinale portant sur les gènes E-cadhérine/ CDH1 [21].

5. Environnement:

- ✓ Classe socio-économique basse.
- ✓ Le rôle du tabagisme a été démontré, plus que celui de l'éthylisme.
- ✓ Diagnostic précoce : Surveillance régulière de la survenue d'une dysplasie sévère en cas de facteur de risque [8].

II.1.3. Personnes à risque:

- Les personnes qui vivent dans des conditions socio-économiques faibles, comme c'est le cas dans plusieurs régions d'Asie.
- Les personnes de plus de 50 ans.
- Les hommes sont plus à risque de souffrir d'un cancer de l'estomac que les femmes.
- Les personnes souffrant de gastrite chronique (inflammation de la paroi de l'estomac) ou ayant souffert d'une infection due à la bactérie *Helicobacter pylori* (*H. pylori*).

- Les personnes dont un parent a souffert du cancer de l'estomac.
- Les personnes qui ont déjà subi une chirurgie au niveau de l'estomac.
- Dans les études, le fait d'être du groupe sanguin de type A est associé à un risque légèrement accru de cancer de l'estomac [21].

II.2. Symptômes:

Au début, le cancer de l'estomac ne possède que très rarement de symptômes spécifiques et évidents. Il est donc difficile de diagnostiquer la maladie à un stade précoce. Toutefois, il arrive souvent qu'une tumeur dans l'estomac provoque les symptômes suivants :

- Une sensation de ballonnement, l'impression d'avoir l'estomac plein même après avoir peu mangé.
- Une indigestion prolongée ou récurrente.
- Une perte d'appétit.
- Des douleurs abdominales, des brûlures d'estomac,
- Une perte de poids inexplicée.
- Des nausées et des vomissements.
- Une diarrhée persistante.
- Des vomissements de sang.
- Des difficultés pour avaler.

Ces symptômes n'indiquent pas forcément la présence d'une tumeur cancéreuse [26].

II.3. Histoire naturelle:

II.3.1.Lésion précancéreuse:

La surveillance des patients à risque montre que des lésions dysplasiques légères, puis modérées, précèdent des lésions dysplasiques sévères assimilables à un cancer in situ.

II.3.2.Extension locorégionale:

Vers la profondeur de la paroi gastrique. Puis propagation par contiguïté aux organes de voisinage : corps de pancréas, colon transverse, foie gauche, rate, surrénale gauche.

II.3.3.Envahissement ganglionnaire:

Précoce présent au moment du diagnostic dans 60 % à 80 % des cas.

Voie de drainage lymphatique : vers 3 grandes chaînes ganglionnaires satellites des artères (chaîne gastrique gauche, chaîne splénique, chaîne hépatique).

II.3.4.Métastases:

Fréquentes de diffusion péritonéale, avec une atteinte ovarienne (tumeur de krukensberg). Extension métastatique viscérale : foie, poumons, surrénales, os, thyroïde et peau [21].

II.4.Les différents types de cancers de l'estomac:

II.4.1. L'adénocarcinome:dans 90 % des cas.

- **Le cancer invasif** : Dans 85% des cas.

La classification de Lauren : Selon le type intestinal (différencié, tendant à former des glandes et types diffus peu différenciés) extensif et de plus mauvais pronostic.

- **La superficie de la superficie du cancer : 5 à 10%.**

L'adénocarcinome limité à la muqueuse et à la sous-muqueuse avec ou sans atteinte ganglionnaire .L'extension en surface est souvent large avec une évolution plus fréquemment lente et une survie de plus de 85% à 5ans.

- **La limite plastique : 5%.**

Une infiltration massive et circonférentielle pariétale (avec rigidité et épaissement) par un abondant tissu de sclérose inflammatoire renfermant des cellules en bague à chaton ou parfois anaplasiques isolées ou en amas. L'extension lymphatique et métastatique est rapide. La rigidité et la tunéllisation de l'estomac sont difficilement vues par l'endoscopie et les biopsies doivent être très profondes pour être positives. L'échoendoscopie a une bonne valeur prédictive dans au moins 10 % des cas. Les atteintes distales seraient de meilleur pronostic [21].

II.4.2. Les autres types:

-Les lymphomes :

Le développement des lymphomes primitifs de tube digestif se fait à partir des tissus lymphoïdes associés aux muqueuses (lymphome du MALT, pour Mucosa Associated Lymphoïde Tissue). Ce sont majoritairement des proliférations des cellules lymphomateuses B. l'association avec la gastrite chronique à H. pylori est retrouvée dans 90% des cas.

-Les tumeurs stromales :

La malignité de ces tumeurs est souvent difficile à démontrer en dehors des tumeurs métastasée. Le traitement en est chirurgical. Ces tumeurs sont sensibles aux inhibiteurs des tyrosines kinase, qui pourraient en améliorer le pronostic notamment en situation métastatique [27].

II.5. Classification:

Survie globale à 5ans : Le pronostic est sévère, ne dépassant pas 15 % en moyenne malgré la curabilité des formes localisées.

II.5.1. Classification TNM : (annexe 01)

II.6. Diagnostic:

II.6.1. Circonstances de découverte:

Rarement au cours d'un programme de dépistage (existe au Japon), surveillance systématique endoscopique de lésions précancéreuses.

Le plus souvent : Douleurs ou amaigrissement.

Toute symptomatologie gastrique douloureuse ou mécanique, surtout s'il existe un amaigrissement ou une anémie inflammatoire, surtout si le sujet est âgé de plus de 45 ans, doit faire penser à un cancer de l'estomac.

II.6.2. Signes physiques:

- ✓ Complications révélatrices.
- ✓ Hémorragie digestive.
- ✓ Dystrophie par envahissementcardial.
- ✓ Syndrome paranéoplasique.

Le plus souvent l'examen physique est normal :

On peut rarement détecter :

- ✓ Une masse épigastrique.
- ✓ Une hépatomégalie métastatique.
- ✓ Une carcinose péritonéale.
- ✓ Une adénopathie sus-claviculaire (ganglion de Troisier).

II.6.3. Endoscopie avec biopsies :

Les biopsies nombreuses sont faites sur les bords des ulcérations et sont en général positives.

- ✓ Forme végétante (la plus fréquente).
- ✓ Forme ulcéro-végétante.
- ✓ Forme ulcéro-infiltrante.
- ✓ Forme infiltrante pure, sans ulcérations (linite plastique) de diagnostic endoscopique plus difficile, et avec des biopsies souvent négatives.

II.6.4. Bilan d'extension :

L'échoendoscopie œsogastrique : Permet le bilan d'extension locorégionale et l'évaluation de l'infiltration muqueuse.

Transite œsogastroduodéal : Utile aux chirurgiens, délaissés en routine diagnostique.

Scanner thoracoabdominal : Recherche de localisations ganglionnaires, hépatiques...

Parfois la laparoscopie pré-thérapeutique.

Bilan biologique : étude des marqueurs ACE, CA19-9 [21].

II.7. Prévention:

A l'échelon de la population :

La prévention du cancer gastrique passe, au niveau des populations, par l'amélioration des conditions socioéconomiques, la diversité alimentaire, la diffusion des processus de conservation alimentaire par le froid, l'éradication d'*Helicobacter Pylori*...

Dans les pays à très forte incidence tels que le Japon, des programmes de dépistage de masse sont mis en place.

A l'échelon individuel :

En dehors des pays tels que le Japon, une prévention et un dépistage peuvent être envisagés à l'échelon individuel dans les rares familles où il existe une prédisposition héréditaire au cancer gastrique, par éradication de l'*Helicobacter Pylori* et des contrôles endoscopiques réguliers. Cette démarche n'a cependant pas été clairement validée [21].

Ces mesures pourraient contribuer à diminuer le risque de cancer de l'estomac :

- Cesser de fumer.
- Ne pas consommer d'alcool de manière excessive.
- Limiter sa consommation de sel.
- Limiter sa consommation de viandes ou poissons fumés ou salés.
- Consommer régulièrement des fibres, des fruits et des légumes[27].

II.8.Principe du traitement:

II.8.1.Chirurgie :

Elément principal du traitement curatif. Résection chirurgicale avec curage ganglionnaire.

- Gastrectomie totale, élargie par nécessité à la rate et la queue du pancréas pour les cancers du corps et de la partie haute de l'estomac (mortalité opératoire 10%).
- Gastrectomie polaire inférieure ou totale selon l'extension ganglionnaire dans les tumeurs antrales.

Chapitre II : Le cancer de l'estomac

Le rétablissement de continuité se fait par une anse jéjunale en Y en cas de gastrectomie totale et par anastomose gastro-jéjunale ou plus rarement gastro-duodénales en cas de gastrectomie distale [21].

II.8.2.Radiothérapie :

La radiothérapie est peu utilisée dans les cas de cancer de l'estomac. Elle peut être avant ou après la chirurgie. Elle peut aussi servir à soulager les symptômes d'une tumeur qui ne peut être enlevée [27].

II.8.3.Chimiothérapie :

Dans le cas du cancer de l'estomac, le recourt généralement à la chimiothérapie est fait après l'intervention chirurgicale [27].

II.9.Surveillance post-thérapeutique:

Elle ne s'adresse qu'aux cancers traités de façon curative. Elle est alors systématique et régulière : clinique, marqueurs (ACE, CA-19.9), échographie, radio pulmonaire et endoscopie (en cas d'apparition de symptômes évocateurs d'une récurrence pour cet examen) [21].

CHAPITRE III :
GÉNÉTIQUE DE
CANCER DE
L'ESTOMAC

III-Génétique du cancer de l'estomac :

Le cancer est considéré comme une maladie génétique, qui entraîne une croissance cellulaire excessive et non contrôlée. A côté des altérations génétiques, comme les mutations, de nombreux arguments expérimentaux soulignent l'importance des modifications épigénétiques.

Des altérations génétiques et épigénétiques sont impliquées dans la progression tumorale, le phénomène métastatique et la résistance aux thérapeutiques. L'identification des gènes du cancer a conduit à une meilleure compréhension des processus de la tumorigénèse et a permis d'importantes avancées dans les domaines tant fondamentaux qu'appliqués et a ouvert de nouvelles perspectives en thérapie génique et également amélioré les méthodes de diagnostic et pronostic.

III.1. L'instabilité chromosomique:

Actuellement, trois phénotypes de l'instabilité génétique sont connus dans les cancers gastriques : ce phénotype résulte de l'instabilité des microsatellites (MSI), l'instabilité chromosomique (CIN), et l'hyperméthylation des îlots CPG (CIMP).

III.1.1.L'instabilité génique (Phénotype MSI) :

Le phénotype MSI des cancers de l'estomac est la conséquence d'une mutation ou de modifications épigénétiques au niveau des systèmes de réparation de l'ADN (MMR). Ce mécanisme est retrouvé dans environ 15 à 20% des cancers gastriques. Les tumeurs déficientes dans le système MMR accumulent des mutations (délétion ou insertion de quelques nucléotides) au niveau des microsatellites, et seront appelées MSI (microsatellite instable). Les

Chapitre III : Génétique du cancer de l'estomac

microsatellites sont très nombreux et dispersés dans des régions codantes ou non codantes du génome.

Ainsi ce phénotype est associé à la survenue de mutations sur des gènes de susceptibilité comme le TGF- β R II, IGFR et BAX dans les tumeurs sporadiques, dans les tumeurs bien différenciées ou on observe des pertes d'hétérozygotie dans les gènes APC et DCC [28,29].

III.1.2. Instabilité chromosomique (Phénotype CIN) :

L'instabilité chromosomique (CIN) est observée dans la majorité des cancers, y compris le cancer gastrique. Elle constitue un type d'instabilité génomique plus globale avec une anomalie de nombre des chromosomes (aneuploïdie), cassures chromosomiques, pertes ou amplifications de portions de chromosomes [30,31].

Des niveaux élevés de CIN ont également été associés à une survie plus courte chez les patients atteints de cancer gastrique [32]. L'énorme perte de l'hétérozygotie a été identifiée dans des différents brins chromosomiques, y compris en 1p, 3p, 4p, 5q, 7p, 8q, 8p, 12p, 13q, 17p, 18q, 20q et 22q [33,34]. De plus, les pertes alléliques telles que celles du gène P53 sur le chromosome 17, les gènes DCC et SMAD2 sur le chromosome 18 et dans les gènes APC et MCC sur le chromosome 5 [35,36,37].

III.1.3. Hyperméthylation de l'ADN (CIMP) :

L'Hyperméthylation peut inactiver des gènes en empêchant leur transcription. Des dinucléotides CPG regroupés en îlots sont retrouvés dans les régions promotrices pour la moitié des gènes. Les gènes liés à la tumeur les plus couramment méthylés dans les cancers de l'estomac sont : APC, CDH1, MHL1, CDKN2A... [38].

Chapitre III : Génétique du cancer de l'estomac

III.2. Gènes altérés dans les cancers gastriques:

Au cours des cancers de l'estomac, des altérations génétiques d'oncogènes et des gènes suppresseurs de tumeurs ont été identifiées. Parmi les gènes impliqués dans la progression tumorale nous citeront quelques proto-oncogènes et quelques gènes suppresseurs de tumeurs [39].

III.2.1. Les proto-oncogènes:

Les proto-oncogènes sont des gènes qui stimulent directement la croissance cellulaire exemples le gène K-RAS, c-erbB2, c-met, VEGF.

III.2.2. Les gènes suppresseurs de tumeurs:

Les gènes suppresseurs de tumeurs contrôlent négativement la croissance cellulaire représentés par : APC, P53, DCC, CDH1 [39].

III.3. Les autres facteurs génétiques de susceptibilité au cancer gastrique :

L'exemple du polymorphisme C677T du gène de la MTHFR :

D'autres facteurs génétiques de susceptibilité au cancer gastrique ont été identifiés à partir d'approches de type gènes candidats ou d'études pangénomiques. Il s'agit de gènes impliqués dans le métabolisme de l'acide folique telles que la méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR), la méthionine synthase (MTR) et la méthionine synthase réductase (MTRR).

III.3.1. le gène de la MTHFR :

III.3.1.1. Localisation et structure du gène de la MTHFR:

Le gène de la MTHFR localisé sur le bras court du chromosome 1 en 1p.36.3. Plus précisément le gène est localisé dans la région des paires de bases 11 769 246 jusqu'à la 11 788 568pb du chromosome 1. Il comporte 12 exons. Plusieurs sites de début de la transcription, d'épissage alternatif et de

Chapitre III : Génétique du cancer de l'estomac

sites de polyadénylation ont été observés pour le gène MTHFR. La proportion de chaque transcription diffère selon les tissus. Il n'existe aucun élément TATA-BOX pour régler le gène MTHFR humain, mais il est riche en îlots CpG[39].

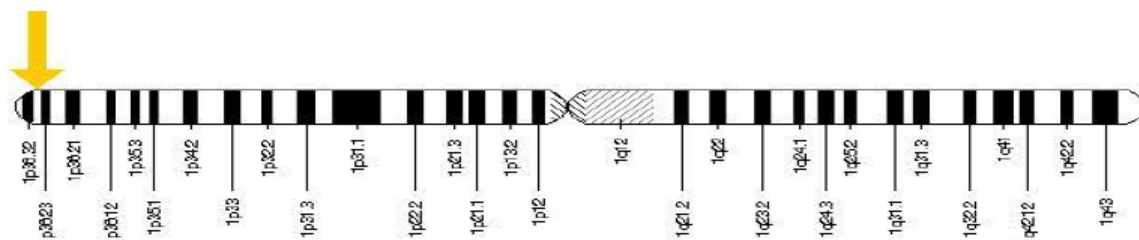


Figure 04 : localisation de gène de la MTHFR sur le chromosome 1 [40]

III.3.1.2. La protéine MTHFR :

III.3.1.2.1. Structure de la protéine MTHFR :

Chez l'homme, le produit du gène MTHFR est une protéine catalytique active de 77KDa, c'est la 5,10 méthylène-tétrahydrofolate-réductase (5,10-MTHFR). Il s'agit d'un homodimère. La protéine est composée de 656 acides aminés, possédant un domaine catalytique présentant un site de liaison pour le coenzyme FAD (Flavine Adénine Dinucléotide) et un domaine régulateur où se lie l'inhibiteur allostérique, la SAM (S-adénosyl méthionine). La protéine s'exprime fortement dans les testicules, modérément dans le cerveau et les reins et faiblement dans les autres tissus. Une isoforme plus petite de cette protéine, approximativement de 70 KDa, a été retrouvée dans certains tissus [39].

III.3.1.2.2. Fonction de la protéine MTHFR :

La 5,10-MTHFR catalyse la conversion irréversible du 5,10-méthylène-tétrahydrofolate (5,10-CH₂-FH₄) en 5-méthyltétrahydrofolate (5-CH₃-FH₄), qui est la forme biologique majeure des folates et la principale source du carbone nécessaire pour la conversion de l'homocystéine en méthionine [38,39].

Chapitre III : Génétique du cancer de l'estomac

Cette conversion est très importante pour la biosynthèse des nucléotides, la méthylation de l'ADN, et ainsi le métabolisme de l'homocystéine. Le processus métabolique de la 5,10-MTHFR dépend de plusieurs activateurs et inhibiteurs dont la SAM est un inhibiteur allostérique et le FAD un coenzyme. Une activité normale de la protéine MTHFR maintient un pool adéquat en folates circulants et prévient l'augmentation des concentrations de l'homocystéine. Contrairement une activité diminuée de la protéine induit une diminution des niveaux des folates, une diminution de la biodisponibilité de méthionine ainsi qu'une augmentation des concentrations de l'homocystéine [39].

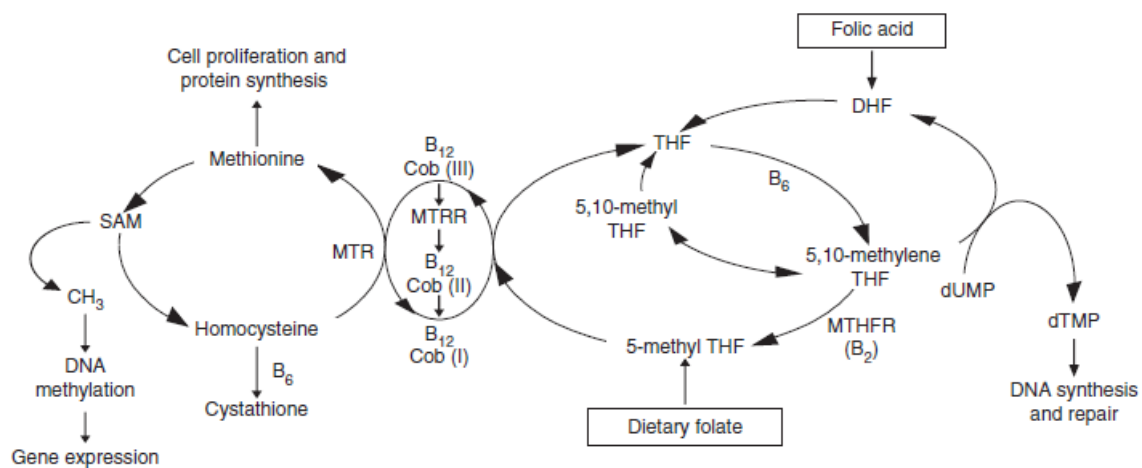


Figure 05 : Métabolisme de l'acide folique [41].

III.3.1.3. Les mutations de la MTHFR:

III.3.1.3.1. Les polymorphismes du gène MTHFR:

Un défaut d'activité de la protéine 5,10 MTHFR avec une activité résiduelle est dû à plusieurs polymorphismes, la majorité d'entre eux sont découverts chez seulement une ou deux familles, il s'agit des polymorphismes T1317C, G1793Q, T1081C, A983G, G1027T, T1084C, et T1711C.

Chapitre III : Génétique du cancer de l'estomac

Il existe deux polymorphismes courants et bien décrits du gène MTHFR. Il s'agit des polymorphismes : C677T et A1298C responsables de la synthèse d'une forme thermolabile de la protéine MTHFR. La relation entre la mutation MTHFR C677T et la prévalence de nombreuses pathologies a fait l'objet de nombreuses études : des maladies cardiovasculaires, divers types des cancers, des anomalies de la coagulation et des malformations congénitales, les accidents vasculaires cérébraux, les anomalies de fermeture du tube neural et les pathologies inflammatoires des intestins.

Plusieurs autres mutations rares ont été associées à une déficience sévère de l'enzyme MTHFR.

Les premiers polymorphismes sont moins courants que les deux derniers et leur rôle n'est pas encore bien élucidé [42].

III.3.1.3.2. Le polymorphisme C677T :

Un variant thermolabile du gène MTHFR est corrélé avec des concentrations modérément élevées de l'homocystéine. Ce variant est dû à la mutation C677T du gène MTHFR, qui correspond à une substitution d'une cytosine en une thymine en position 677 de l'exon 4 du gène MTHFR, est transmis de façon autosomique récessive.

Cette mutation altère ainsi la base du site de fixation du FAD cofacteur de la MTHFR.

La protéine résultante de ce polymorphisme présente une activité enzymatique réduite à 37°C et plus, pour cela la protéine est souvent appelée thermolabile. In vitro il a été démontré que la mutation C677T réduit l'activité enzymatique de la protéine MTHFR jusqu'à 70% chez les individus homozygotes (TT) et 40% chez les individus hétérozygotes (CT) [43].

Chapitre III : Génétique du cancer de l'estomac

La baisse de l'activité de la MTHFR engendre une disponibilité importante du substrat 5,10-méthylène THF, permettant par conséquent une synthèse adéquate des pyrimidines et des purines. Cependant, cette même diminution pourrait engendrer des altérations oncogéniques potentielles dans la méthylation de l'ADN menant ainsi à un processus carcinogène.

L'incidence de la mutation C677T de la MTHFR :

La mutation C677T de la MTHFR est un polymorphisme commun dans la population générale. Sa fréquence à l'état homozygote varie entre 5–15 % avec une distribution hétérogène significative parmi les différents groupes ethniques ;12 % parmi les Caucasiens, 10 % chez les Asiatiques alors qu'elle est de l'ordre de 1,45 % chez les Noirs africains. En Europe, la fréquence de l'allèle muté varie géographiquement entre 6 –10 % dans les pays nordiques et 13–18 % dans les pays méditerranéens. Une association a été observée entre le gène mutant et un taux de mortalité élevé, chez les hommes, d'âge moyen et âgés, mais non chez les femmes [44].

La mutation C677T et L'hyperhomocystéinémie (Hcy) :

Il est décrit que le polymorphisme C677T du gène de la MTHFR est associé à des concentrations élevées d'Hcy. Dans la voie de la reméthylation de l'Hcy, le groupement méthyl est apporté par le 5, méthyltétrahydrofolate qui est sous la dépendance de la 5,10-MTHFR. La mutation C677T du gène MTHFR engendre une diminution de l'activité enzymatique et une augmentation de la thermolabilité de la protéine MTHFR et ainsi perturbe l'apport du groupement méthyl nécessaire pour la reméthylation de l'Hcy en méthionine et donc sera responsable d'une augmentation des taux d'Hcy. La forme hétérozygote s'observe chez 43% de la population et s'accompagne d'une hyperhomocystéinémie modérée ou de degré intermédiaire. La forme homozygote (677TT) s'observe chez 10% de la population et entraîne une

Chapitre III : Génétique du cancer de l'estomac

hyperhomocystéinémie sévère et des complications vasculaires redoutables et des cancers [43].

Polymorphisme C677T de la MTHFR, méthylation et synthèse de l'ADN

En présence de la mutation C677T du gène de la MTHFR, l'affinité de l'enzyme pour la FAD est abaissée, et sa stabilité dégradée, entraînant une diminution de 5méthyl THF.

Dès lors, une relation entre certains néoplasies et cette mutation C677T a été recherchée avec des résultats souvent contradictoires.

Concernant les cancers digestifs, cette mutation favorise le cancer gastrique. Pour le cancer de l'œsophage et du cardia, les résultats sont très différents avec un risque augmenté pour Stolenberg et al alors que Yang et al concluent à un effet protecteur. Il faut cependant noter une grande hétérogénéité des populations étudiées.

Brattstrom et al ont démontré dans leur méta-analyse que le génotype TT, en entraînant une nette diminution de l'activité enzymatique de la MTHFR, est responsable d'une hyperhomocystéinémie qui est d'autant plus importante que la carence en folates éventuellement associée est marquée. Cette hyperhomocystéinémie à l'origine d'une réduction de la quantité de SAM disponible pour les réactions de méthylation entraîne une hypométhylation globale de l'ADN.

L'évaluation d'une revue systématique des études épidémiologiques évaluant l'association de l'apport en folate ou polymorphismes génétiques de la MTHFR, avec le risque de cancer de l'œsophage, de l'estomac, ou du pancréas a montré dans la plupart des études, que le variant C677T de la MTHFR a été associée à un risque accru de carcinome épidermoïde œsophagien, de l'adénocarcinome du cardia gastrique, du cancer gastrique et du cancer du pancréas.

Des études diverses ont associé la MTHFR à différents type de cancers. Actuellement, il semblerait qu'un déséquilibre au niveau du cycle du folate

Chapitre III : Génétique du cancer de l'estomac

pourrait affecter la stabilité de l'ADN par les deux voies dans lesquelles il intervient. Le 5,10-méthylène-tétrahydrofolate est un donneur de groupes méthyles pour l'uracile afin que celui-ci soit converti en thymine, utilisé alors pour la synthèse et la réparation de l'ADN. Si le taux de folate est limité, un déséquilibre dans le panel des précurseurs de l'ADN pourrait mener à l'incorporation de l'uracile à la place de la thymine au niveau de l'ADN, ce qui pourrait par conséquent engendrer des cassures dans les deux brins de l'ADN, cela pourrait être à l'origine des dommages chromosomiques et du cancer.

D'un autre côté, le folate affecte l'expression des gènes par la régulation cellulaire de S-adénosyl-méthionine (SAM). Le 5-méthyl-tétrahydrofolate est un donneur de méthyle pour la reméthylation de l'homocystéine en méthionine, qui a son tour est converti en SAM. Le SAM méthyle des cytosines spécifiques au niveau de l'ADN, régulant ainsi la transcription des gènes. Par conséquent, une diminution cellulaire de SAM, suite à une défaillance au niveau du folate, induirait une hypométhylation de l'ADN et potentiellement l'expression de proto-oncogènes responsables de la survenue du cancer. De plus, le rôle des polymorphismes du gène MTHFR dans la carcinogénèse semble dépendre des types de cellules et d'organes impliqués.

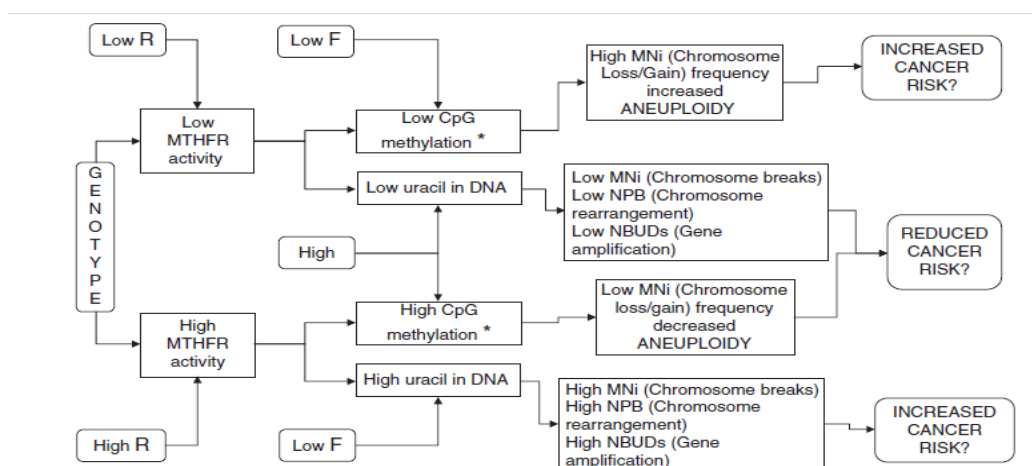


Figure 06 : La relation entre le génotype de la MTHFR ; la riboflavine (R) et l'acide folique (F) avec respect de CpG méthylation et l'uracile dans l'ADN [44].

III.3.1.3.3. Le polymorphisme A1298C:

Il s'agit d'une mutation résultant en une substitution d'un glutamate au lieu d'une alanine, au niveau du codon 429 (E429A) de la protéine MTHFR. La protéine résultante est caractérisée par une diminution modérée de son activité enzymatique (60%). Contrairement aux individus avec la mutation C677T, les homozygotes et les hétérozygotes pour A1298C ne présentent pas des concentrations basses en folates. L'association des deux variantes génétiques C677T et A1298C chez les mêmes sujets présente un profil similaire à celui présent chez les (MTHFR) homozygotes C677T avec élévation des concentrations d'homocystéine et une diminution des concentrations en folates.

La présence simultanée des deux variantes génétiques, le C677T et A1298C, est associée à des maladies cardiovasculaires, à divers types des cancers, à des anomalies de la coagulation et à des malformations congénitales [42].

CHAPITRE IV :
PATIENTS ET
MÉTHODES

IV-Patients et méthodes :

Notre étude est de type cas témoins. Elle a été réalisée au niveau du laboratoire de biologie et de génétique moléculaire de la faculté de médecine université de Constantine 3, des services de radio et chimiothérapie, de gastroentérologie, de chirurgie A et de la médecine interne de CHU de Constantine durant la période Mars-Juin 2015. Elle a porté sur deux types de population : Une population de 63 témoins présumés sains et une population de 30 patients présentant un cancer gastrique (GC).

IV-1-Patients

IV-1-1- Recrutement de la population d'étude :

Les témoins au nombre de 63 sont issus de la population générale. Il s'agit des sujets présumés en bonne santé des deux sexes, âgés de 10 à 70 ans, originaires de l'Est algérien.

Les patients sont au nombre de 30 des deux sexes atteints de cancer gastrique présentant ou non des métastases, âgés de 40 à 79 ans. Tous originaires de l'Est algérien admis au niveau du CHUC et appartenant aux services du CAC, chirurgie A, médecine interne et de gastroentérologie.

Des critères d'inclusion et d'exclusion ont été établis pour les deux populations :

Critères d'inclusion :

Ont été inclus dans l'étude les sujets des deux sexes.

- **Les témoins :**

Les sujets en bonne santé apparente et après interrogatoire, ne présentant aucun antécédent personnel ou familial de cancer ou toute autre pathologie.

Chapitre IV: patients et méthodes

- **Les patients :**

- ✓ Atteints de GC avec ou sans antécédents familiaux de cancer, le diagnostic a été prouvé par une étude anatomopathologique en cours de traitements.
- ✓ Tous les patients en rémission d'un cancer de l'estomac qui se sont présentés pour un contrôle médicale.
- ✓ Tous les patients récemment diagnostiqués pour un cancer de l'estomac se présentant pour une consultation.

Critère d'exclusion :

Les témoins :

- ✓ Tous témoins présentant un antécédent personnel ou familial de cancer.
- ✓ Les sujets ayant refusé le prélèvement.

Les patients :

- ✓ Tous les patients présentant un autre type de cancers.
- ✓ Les sujets qui ont refusés le prélèvement.
- ✓ Les sujets souffrants une déshydratation.
- ✓ Les sujets aux veines fragilisées par la chimiothérapie.
- ✓ Les sujets ayant subi une transfusion sanguine.

IV-1-2- Questionnaire et enregistrement des patients :

Un recueil de données a été effectué au niveau du service d'hospitalisation conservé .En plus du dossier médical du patient, un interrogatoire minutieux pour chaque patient a été mené par nous-même (annexe 2).

Sur chaque questionnaire, ont été mentionnés : le numéro du dossieret le service d'origine du patient.

IV-1-3-Prélèvements sanguins:

Le prélèvement sanguin a été réalisé selon certain critères :

- ✓ Le prélèvement a été fait systématiquement à chaque hospitalisation d'un patient présentant un cancer de l'estomac.
- ✓ Tous les prélèvements ont été effectués avec pose de garrot.
- ✓ Nous avons prélevé le sujet en position semi-assise.
- ✓ Les prélèvements ont été réalisés sur deux tubes EDTA.

IV-1-4-Enregistrement du prélèvement :

Tous les prélèvements ont été étiquetés soigneusement. Ils portent le nom et prénom du patient, associés à la numérotation (1, 2, 3,...) en rapport avec le registre du laboratoire.

IV-2-Méthodes:

La recherche du polymorphisme C677T du gène de la MTHFR a été réalisée par PCR/Digestion en appliquant l'algorithme de travail suivant :

1. Extraction de l'ADN à partir de sang total par la méthode au NaCl.
2. Quantification et dilution de l'ADN.
3. L'évaluation du procédé d'extraction.
4. PCR ou amplification de l'exon 4 du gène de la MTHFR.
5. Contrôle des produits de PCR de l'exon amplifié par électrophorèse sur gel d'agarose.
6. Digestion des produits de PCR des patients par l'enzyme de restriction Hinf I.
7. Séparation des produits de digestion par électrophorèse sur gel d'agarose.
8. Lecture des profils obtenus après digestion sous UV.

IV-2-1- Extraction de l'ADN à partir du sang total :

Dans notre étude, l'ADN génomique a été extrait à partir des leucocytes du sang périphérique en utilisant un solvant inorganique le NaCl (annexe 3).

IV-2-1-1-Principe :

Les leucocytes sont séparés du sang total par une lyse hypotonique et traités ensuite par un détergent (SDS) et une protéinase K. l'ADN nucléaire est libéré dans le milieu et les protéines qui lui sont associées sont digérées et éliminées par précipitation à l'éthanol (annexe 3).

IV-2-2-La détermination de la pureté de l'ADN :

L'ADN est solubilisé en phase aqueuse et le rapport de la DO à 260 nm (longueur d'onde de l'absorption de l'ADN) sur la DO à 280 nm (longueur d'onde de l'absorption des protéines) sont appréciés. Le rapport de la DO à 260 nm sur la DO à 280 nm est utilisé pour s'assurer de la pureté d'ADN de tout contaminant qu'il soit protéine ou ARN.

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

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

IV-2-3-La détermination de la concentration de l'ADN:

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

1 unité de $DO_{260\text{nm}}$ = 50 $\mu\text{g/ml}$ d'ADN double brin.

Exemple :

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

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

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

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

Considérant que l'ADN est dilué à 1/100, donc $6,95 \times 100 = 695 \mu\text{g/ml}$

Donc :

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

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

IV-2-4-PCR ou amplification de l'exon 4 du gène de la MTHFR:

Consiste à amplifier une partie de l'exon 4 du gène de la MTHFR, puis de différencier les génotypes par digestion par une enzyme de restriction spécifique.

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

Chapitre IV: patients et méthodes

- Préparation du milieu réactionnel (ou mix) de la PCR :

Pour préparer le milieu réactionnel (annexe 4), multiplier la quantité de chaque composant par le nombre de tubes voulu plus un, c'est le tube témoin négatif dans lequel on met uniquement le mélange réactionnel sans ADN.

L'ADN est amplifié par PCR avec deux amorces encadrant la région (exon 4) contenant les deux codons polymorphes de l'acide aminé 222 de la MTHFR (annexe 4).

- Déroulement des cycles de la PCR :

Chaque cycle de la PCR repose sur trois étapes indispensables :
Dénaturation, hybridation et élongation (annexe 4).

Les conditions d'amplification du fragment de 198pb de l'exon encadrant les sites de restriction ou des mutations par PCR étaient comme suit : une dénaturation initiale à 94°C pendant 5 minutes, suivie de 30 cycles de PCR, comprenant chacun une dénaturation à 94°C pendant 30 secondes, une hybridation à 65°C pendant 30 secondes et une élongation à 72°C pendant 40 secondes et enfin une élongation finale à 72°C pendant 10 minutes.

IV-2-5-Contrôle des produits de la PCR :

Le contrôle des fragments amplifiés s'effectue par une électrophorèse sur un gel d'agarose à

2 % additionné de 10 µl de BET (Bromure d'éthidium) et coulé sur plaque de cuve horizontale.

Dans chaque puits du gel, il est déposé :

- 10 µl de produit d'amplification + 2 µl BBP (Bleu de Bromophénol).

Et dans le dernier puits on dépose :

- 3 µl de marqueur de taille (PM 100pb LADDER, ref.018209) + 10 µl H₂O + 2 µl BBP.

Chapitre IV: patients et méthodes

Les dépôts se font du côté cathode (-). Le système est soumis à une migration sous un courant de 100 volts pendant 1 h.

Ce contrôle permet aussi, d'observer si une éventuelle contamination de l'ADN est survenue au cours de la PCR.

Après la migration des produits de PCR, le gel est soumis aux rayons UV. Les molécules de bromure d'éthidium fixées sur ADN émettent une lumière visible et photographiable permettant de visualiser les fragments amplifiés sous forme de bandes fluorescentes de mêmes tailles.

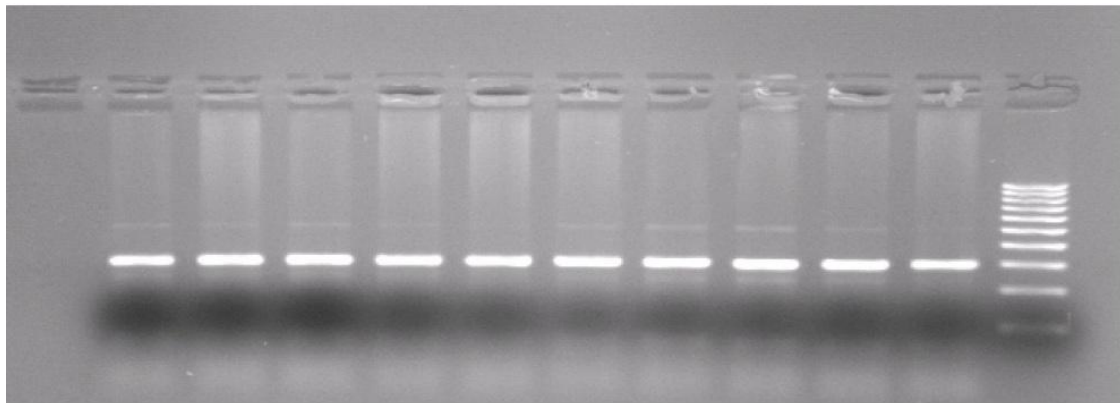


Figure 07 : Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose à 2 % des fragments amplifiés(198pb) par PCR du gène de la MTHFR.

IV-2- 6-Digestion des produits par la PCR :

Préparer le milieu de digestion par l'enzyme Hinf I pour un nombre de tubes N plus 1 témoin (annexe 5 : Tableau 05).

IV-2-7- Digestion par l'enzyme de restriction Hinf I du fragment amplifié:

Hinf I est une enzyme de restriction produite par la bactérie *Haemophilus influenzae*, elle reconnaît et clive la séquence G/ANTC codant pour l'Adénine en position 222 de la protéine.



Figure 08 : Site de restriction par l'enzyme Hinf I.

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

Après incubation ils sont concentrés.

IV-2-8- Séparation des produits de digestion:

Préparation d'un gel d'agarose :

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

- Monter le support du gel.
- Homogénéiser, couler immédiatement en versant le contenu du bûcher dans le support en plaques de verre tout en ayant soin de ne pas faire de bulles.
- Placer le peigne à plat afin de former les puits puis laisser polymériser à température ambiante pendant 1h 30 min à 2h 30 minutes (annexe 5).

Dépôts des échantillons :

Quand le gel est polymérisé, plonger le gel dans la cuve horizontale contenant un volume (450 ml) de tampon Tris Borate EDTA (TBE 1X) (annexe 5).

Nous avons déposé dans chaque puits du gel 12 à 14 µl du produit digéré et 3 µl du bleu de bromophénol.

Migration :

La migration se fait en parallèle avec des fragments d'ADN appelés marqueurs de taille (leurs taille est connue) et en présence d'un témoin hétérozygote connu à un voltage de 80 volts.

IV-2-9-Révélation du profil électrophorétique :

Le BET fixé sur l'ADN devient fluorescent sous UV va permettre de visualiser les fragments de restriction ayant migré dans le gel. Le gel est photographié après transillumination sous UV (**figure 9**).

Profils de restriction obtenus :

Ce polymorphisme C677T, correspond à une substitution d'une cytosine par une thymine en position 677 dans la séquence nucléotidique et qui, se traduit dans la séquence protéique par la substitution d'une alanine par une valine sur le codon 222. La digestion enzymatique du produit de PCR digéré par HinfI a générée des fragments de :175pb, 198pb, et 23pb, le premier apparait sur le profil électrophorétique sous forme d'une seule bande qui correspond au type homozygote muté (TT), le deuxième apparait aussi sous forme d'une seule bande, il s'agit du type homozygote sauvage (CC), les deux bandes ensemble, correspondent au type hétérozygote (CT)(voire la figure 9 ci-dessous), le troisième n'est pas visible à cause de sa faible taille.

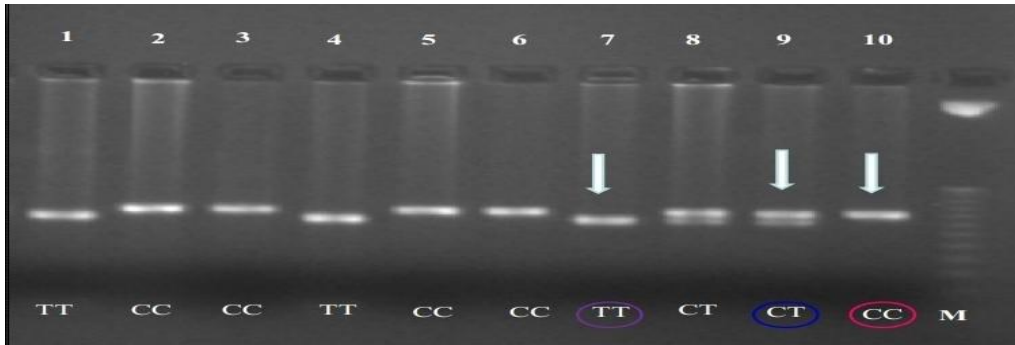


Figure 09 : Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose des fragments issus du clivage parHinf I et présentation des différents génotypes de la C677T de la MTHFR.

IV-3- L'Etude statistique :

-Différentes méthodes, ainsi que différents tests ont été utilisées dans cette étude.

IV-3-1-calcul des moyennes :

$$\bar{X}_a = \frac{\sum x}{n_a}$$

IV-3-2-calcul des écarts types :

$$S = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_i (x_i - \bar{x})^2}$$

IV-3-3-Calcul des odds ratios :

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

Tableau 01 : tableau de contingence

	Malades	Témoins	Totale
Exposé (E+)	A	B	a +b
Non exposé (E-)	C	D	c +d
Totale	a +c	b +d	

Le calcul de l'Odds ratio se fait par la formule suivante :

$$\text{OR} = a*d / b*c$$

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

Dans ce cas l'odds ratio peut être une bonne approximation du risque relatif que donnerait une enquête de cohorte pour la population.

IV-3-4-Les intervalles de confiance:

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

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

IV-3-5-Choix de la P-value:

Le seuil critique a priori est de 0.05 (risque). Si la valeur de p calculée a posteriori est inférieure à ce seuil, la différence entre les paramètres est déclarée statistiquement significative pour apparemment arbitraire est nécessaire pour l'homogénéité de la présentation des résultats.

Chapitre IV: patients et méthodes

L'usage a retenu de manière consensuelle l'ensemble des seuils (0.05, 0.01, 0.001) qui représentent des risques raisonnables pour prendre une décision. Le seuil 0.01 doit être choisi lorsqu'en complément d'une étude épidémiologique descriptive ; on teste le lien entre deux variables sans que l'on puisse a priori argumenter quand il existe une relation logique entre ces variables.

CHAPITRE V :

RÉSULTATS

V-Résultats :

V-1-Répartition des témoins :

V-1-1-Selon le sexe :

Notre étude a inclus 63 témoins répartis en :

- 38 hommes (60 %)

- 25 femmes (40 %) avec un sex-ratio H/F de 1.52.

Tableau 02 : Répartition des témoins selon sexe.

Sexe	Effectifs	%
Hommes	38	60 %
Femmes	25	40 %

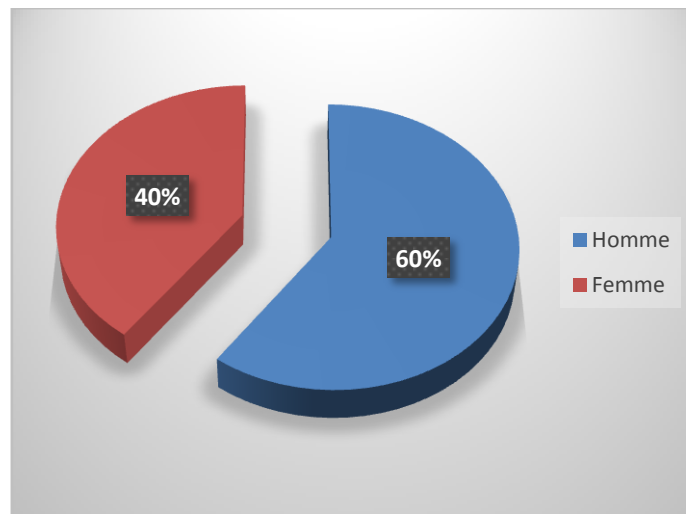


Figure 10 : Répartition des témoins selon le sexe.

V-1-2-Selon l'âge :

La population témoin a été répartie en tranches d'âge de 10 ans allant de 10 ans jusqu' à 60 ans.

Chapitre v : résultats

Dans la population témoin, la tranche d'âge 20 à 29 est plus fortement représentée suivie de la tranche d'âge 30 à 39ans puis 39 à 40 par contre les autres tranches d'âge sont faiblement représentées et cela sexes confondus.

Tableau 03 : Répartition en tranche d'âge de la population témoins.

Tranches d'âge	Population témoins	%
10-19	2	3%
20-29	36	57%
30-39	14	22%
40-49	8	13%
50-59	2	3%
<60	1	2%
Total	63	100%

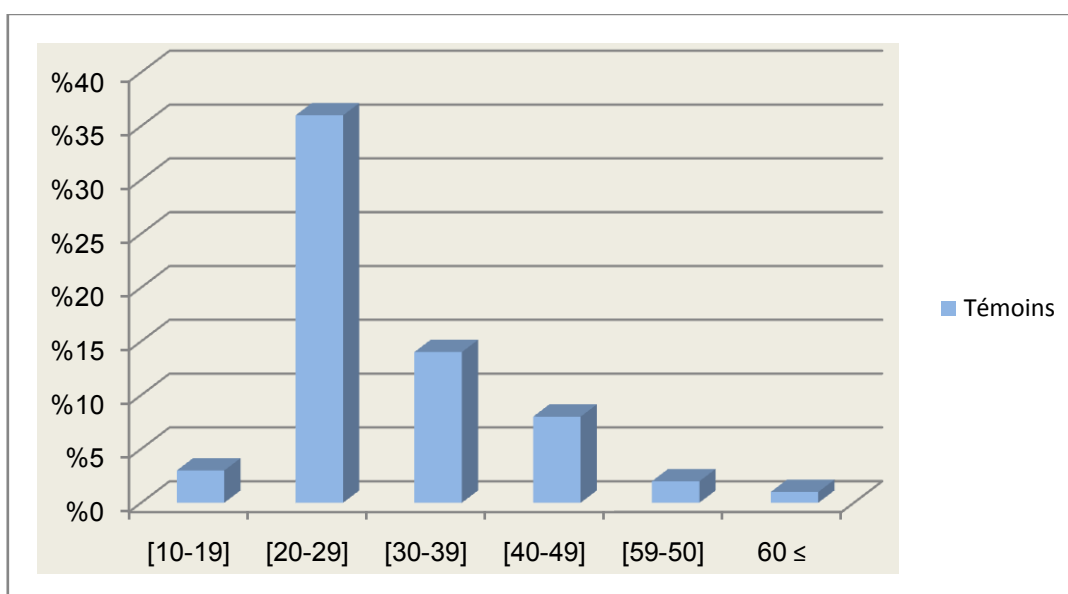


Figure 11 : Répartition des témoins selon l'âge.

V-1-3-Selon l'âge et le sexe :

Tableau 04 : Répartition de la population témoin selon l'âge et le sexe.

Age	<i>Hommes</i>		<i>Femmes</i>		<i>Total</i>	
	N	(%)	N	(%)	N	(%)
10-19	2	5%	0	0%	2	3%
20-29	24	63%	12	48%	36	57%
30-39	5	13%	9	36%	14	22%
40-49	6	16%	2	8%	8	13%
50-59	1	3%	1	4%	2	3%
≥60	0	0%	1	4%	1	2%
Total	38	100%	25	100%	63	100%

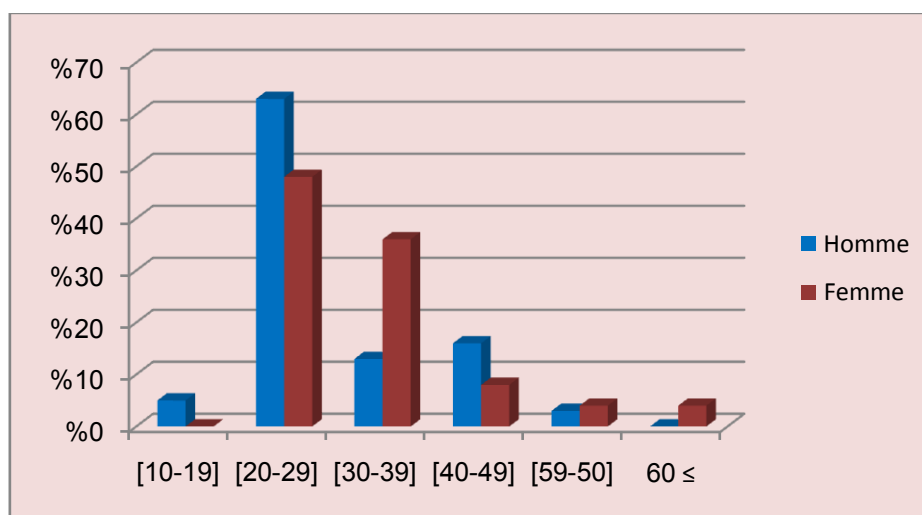


Figure 12 : Répartition de la population témoin selon l'âge et le sexe.

Dans la population témoin, la tranche d'âge 20 à 29 est plus représentée suivie de la tranche d'âge 39 à 40 ans chez les femmes et 40-49 chez les

hommes par contre les autres tranches d'âge sont faiblement représentés et cela dans les deux sexes.

V-1-4-Répartition des fréquences génotypiques et alléliques de la MTHFR chez les témoins :

L'analyse moléculaire des échantillons des témoins a permis de mettre en évidence la mutation C677T du gène de la MTHFR.

Les fréquences alléliques des deux allèles C et T et les fréquences génotypiques de la MTHFR homozygotes C/C (val/val), les hétérozygotes C/T (val/ala) et les homozygotes T/T (ala/ala) ont été calculés dans la population témoins.

Tableau 05 : Fréquence génotypique de la mutation C677T du gène de la MTHFR dans la population témoins.

Génotypes	Effectifs	Fréquences (%)
T/T	4	6 %
C/C	23	37 %
C/T	36	57 %
Total	63	100 %

36 (57 %) de nos témoins sont hétérozygotes C/T, 4 (6 %) sont homozygotes mutés T/T, et 23 (37 %) sont des homozygotes normaux C/C.

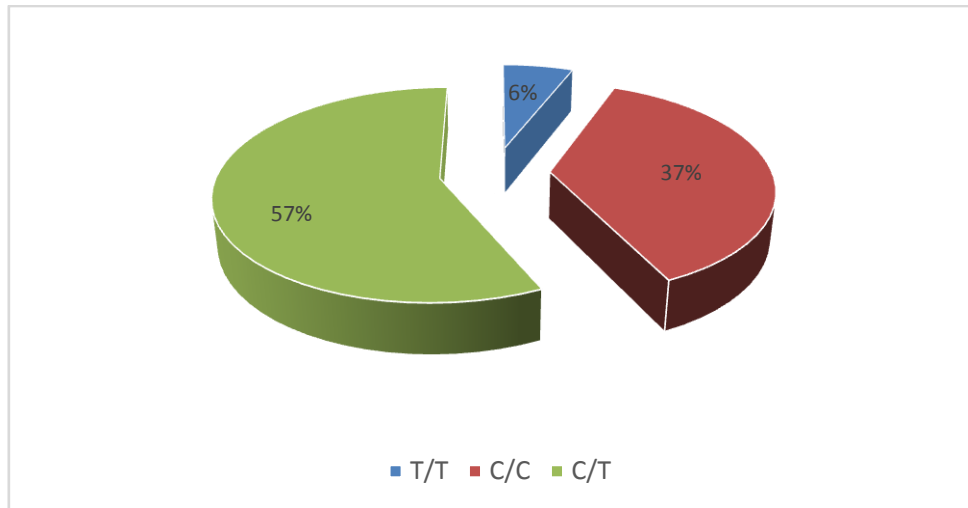


Figure 13 : Répartition des fréquences génotypiques chez les témoins.

V-1-5-Selon les fréquences alléliques :

Tableau 06 : Répartition des fréquences allélique de la MTHFR dans la population témoin.

allèles	Effectifs	Fréquences (%)
T	44	34.92
C	82	65.07
T+C	126	100

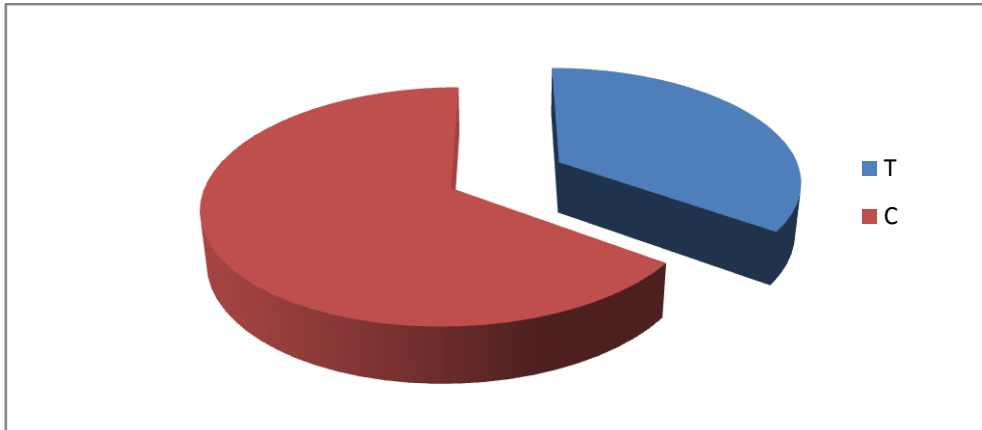


Figure 14: Répartition des fréquences alléliques chez les témoins. 65.07 % des témoins portent l'allèle C alors que 34.92 % l'allèle T.

V.2. Répartition des malades :

V.2.1. Répartition des malades selon le sexe :

La répartition des malades selon le sexe montre une prédominance du cancer gastrique chez les hommes que chez les femmes avec un sexe ratio de 2.

Tableau 07 : Répartition des sujets malades selon le sexe

Sexe	Effectifs	%
Hommes	20	66.66
Femmes	10	33.33

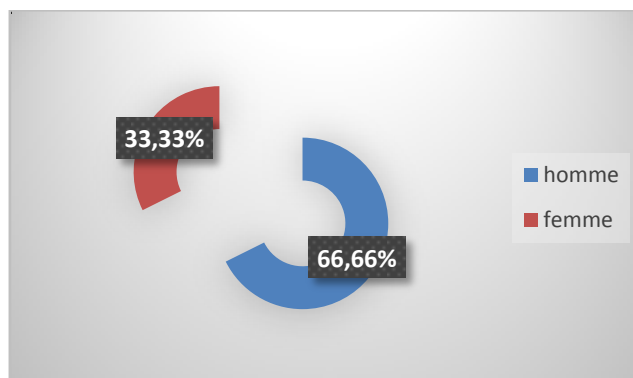


Figure 15 : Répartition des sujets malades selon le sexe.

V.2.2. Répartition des patients selon l'âge :

Les patients en été regroupés en tranche d'âge de 10 ans allant de 40 ans jusqu'à 79 ans.

Tableau 08 : Répartition des sujets malades selon l'âge.

Age	Hommes		Femmes		Total	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
40-49	4	20	2	20	6	20
50-59	6	30	4	40	10	33,33
60-69	9	45	2	20	11	36,66
70-79	1	5	2	20	3	10
Total	20	100	10	100	30	100

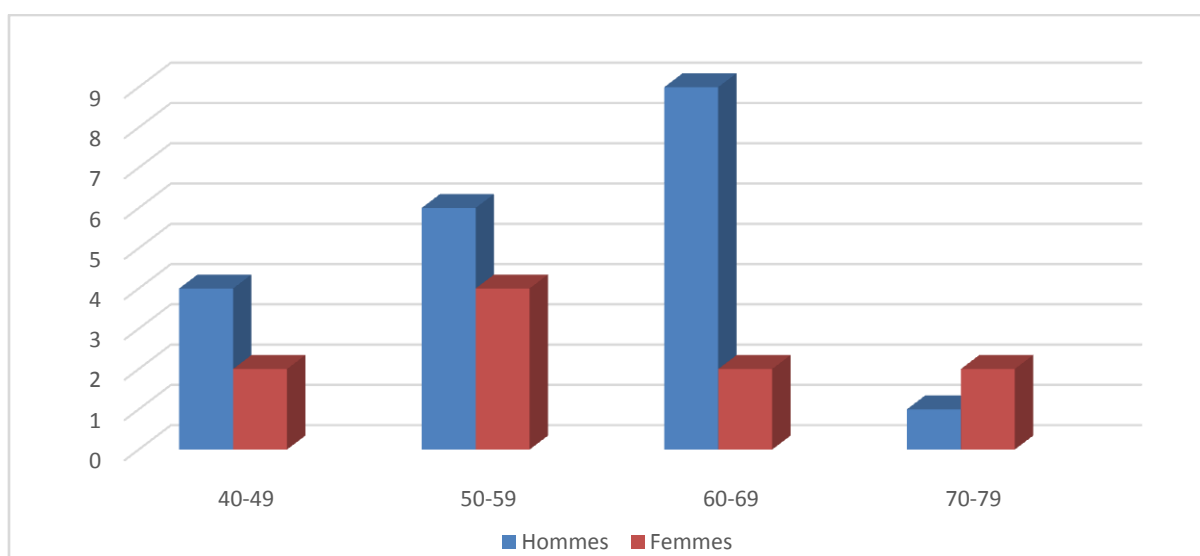


Figure 16 : Répartition des sujets malades selon l'âge

Nous avons constaté la fréquence du CG élevée dans la tranche d'âge 60-69 ans chez les hommes et dans la tranche d'âge 50-59 ans chez les femmes suivie de la tranche d'âge 40-49 ans chez les hommes et des tranches d'âge 40-49 ans, 60-69 ans et 70-79 ans chez les femmes.

V.2.3. Répartition des sujets malades selon le groupe sanguin :

Notre étude a montré que la plus part des patients ont des groupes sanguins A et O avec un pourcentage de 46,66% pour le groupe O et 36,66% pour le groupe A.

Tableau 09 : Répartition des sujets malades selon les groupes sanguins.

Groupage	Nombre des malades	%
O	14	46,66
AB	0	0
A	11	36,66
B	1	3,33
Non déterminé	4	13,33
Total	30	100

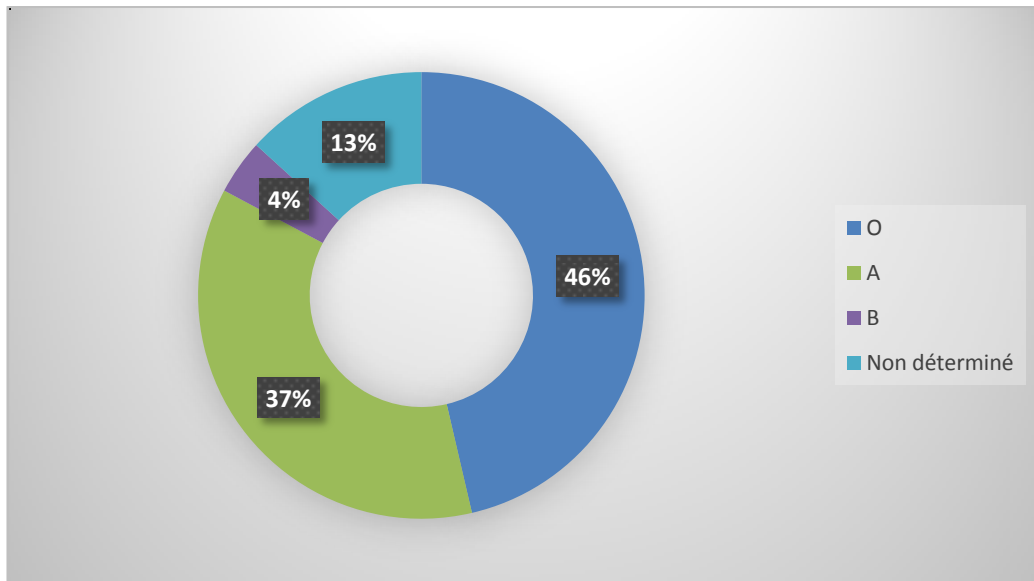


Figure 17 : Répartition des sujets malades selon les groupes sanguins.

V.2.4. Répartition des sujets malades selon la localisation du cancer gastrique :

Tableau 10 : Répartition des sujets malades selon la localisation du cancer gastrique.

Localisation du cancer gastrique	Nombre des malades	%
Cardia	11	36,66
Fondus	7	23,33
Antre	4	13,33
Antrepylorique	7	23,33
pylore	0	0
Tout l'estomac	1	3,33
Totale	30	100

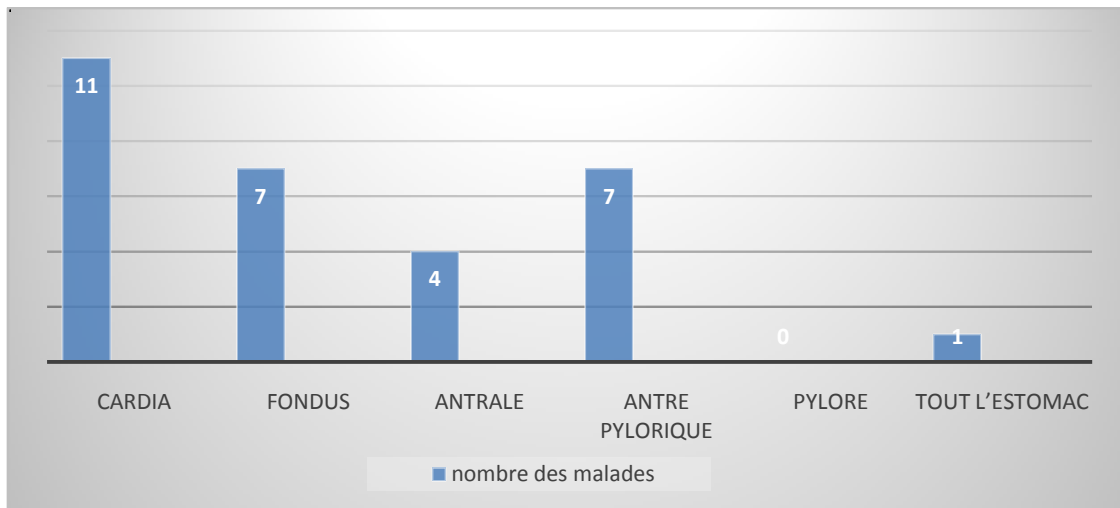


Figure 18 : Répartition des sujets malades selon la localisation de GC.

Dans la population étudiée, le cancer gastrique est majoritairement localisé au niveau du cardia avec un pourcentage 36,66% suivi par la localisation fundique et antre pylorique 23,33% puis celui de la région antrale.

V.2.5. Répartition selon le type histologique du cancer gastrique :

L'étude du type histologique de la tumeur montre que l'adénocarcinome est le plus fréquent avec un pourcentage de 81,25% des cas, suivi du lymphome avec 18,75%.

Tableau 11: Répartition des sujets malades selon le type histologique du cancer gastrique.

Le type histologique	Nombre	Pourcentage
Adénocarcinome	24	80
Lymphome	5	16,66
Carcinome épidermoïde	1	3,33

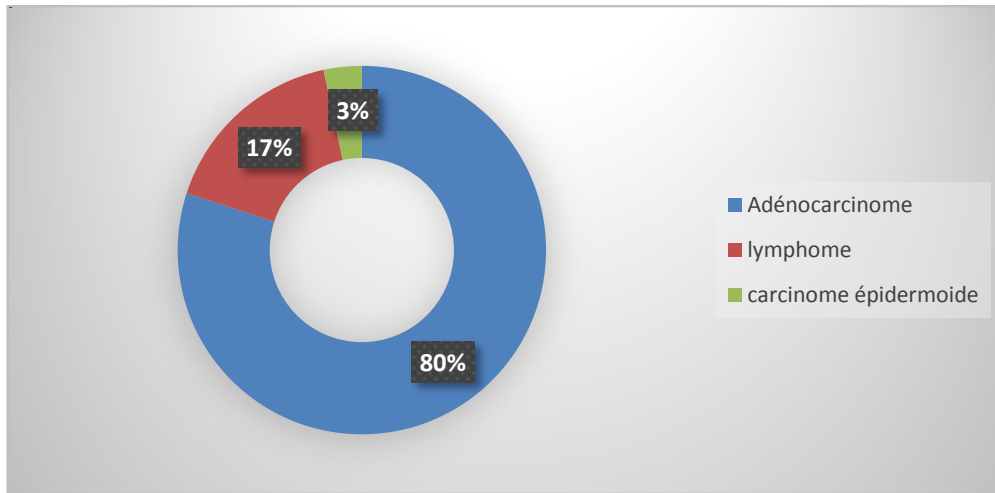


Figure 19 : Répartition des sujets malades selon le type histologique du cancer gastrique.

La majorité de nos patients ont présenté un adénocarcinome gastrique.

V.2.6. Répartition des sujets malades selon les facteurs de risque :

Tableau 12: Répartition des sujets malades selon les facteurs de risques.

Facteurs de risques	Malades présentant un cancer gastrique	
	Nombre	%
Sucreries	11	32.35
Tabac	17	50
Café	26	76.47
Végétaux	8	23.52
Poissons	5	14.70
Viandes	12	35.29
Alcool	5	14.70

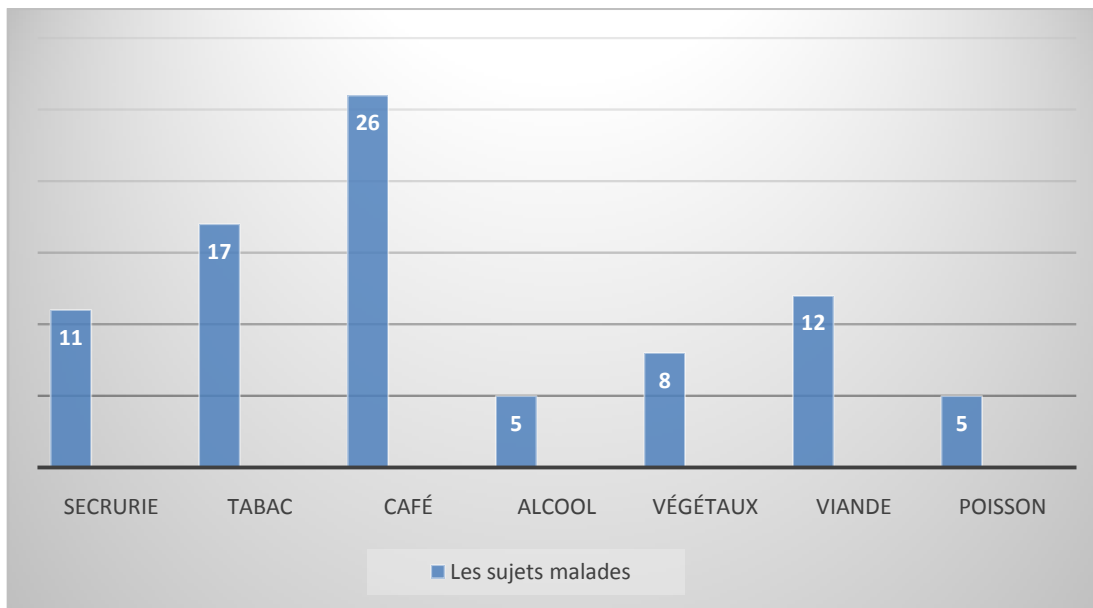


Figure 20:Répartition des sujets malades selon les facteurs de risques.

La consommation de café est plus fréquente chez nos patients suivie de la cigarette, les viandes et sucreries.

V.2.7. Fréquence génotypique et allélique de la MTHFR chez les malades :

V.2.7.1. Fréquences génotypiques de la mutation C677T de la MTHFR des sujets malades :

Tableau 13 : Fréquences génotypiques de la mutation C677T de la MTHFR chez les malades.

Génotypes	Effectifs	Fréquences (%)
T/T	3	10.34
C/C	14	48.27
C/T	12	41.37
Total	29	100

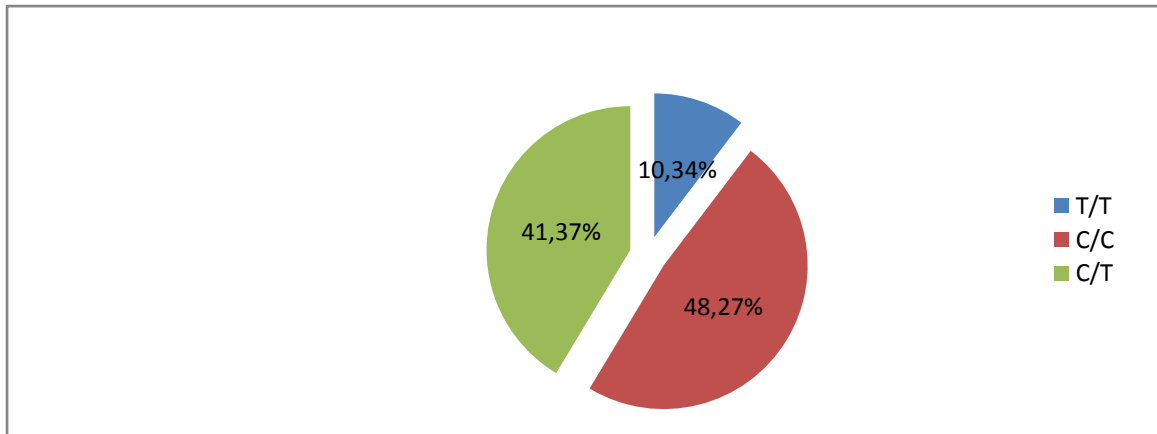


Figure 21 : Fréquences génotypiques de la mutation C677T de la MTHFR des sujets malades

48.27 % de nos patients ont présenté le génotype C/C, 10.34 % le génotype T/T et 41.37 % le génotype C/T.

V.2.7.2. Fréquences alléliques de la C677T de la MTHFR des sujets malades:

Tableau 14 : Fréquences alléliques de la C677T de la MTHFR des sujets malades.

Allèles	Effectives	%
T	18	31,03
C	40	68,96
T+C	58	100

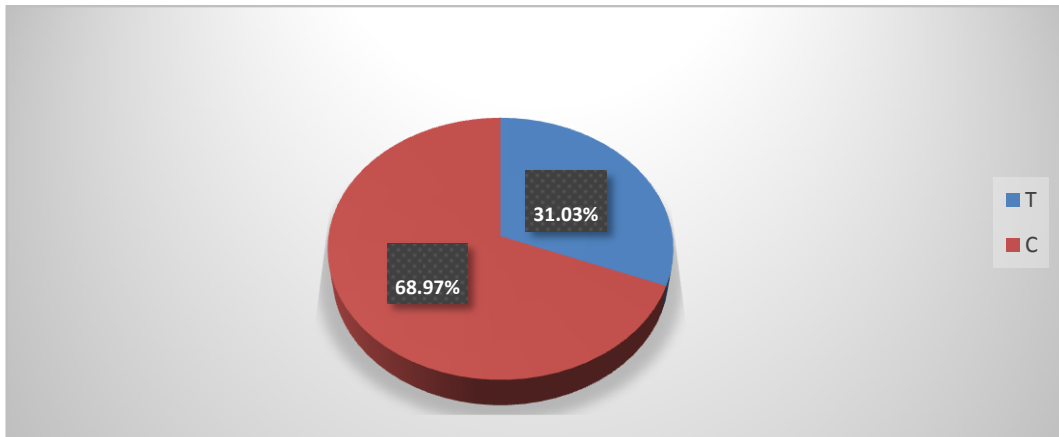


Figure 22 : Fréquences alléliques de la C677T de la MTHFR des malades.

Les fréquences des allèles C et T respectivement de 68,96% et 31,03% chez les patients possédant un cancer gastrique tout sexe confondu.

V.2.8. Répartition des sujets malades selon les antécédents de cancer :

Nous avons constaté dans notre série l'existence d'un manque d'information dans les dossiers de 3 de nos patients concernant les antécédents personnels et 2 dossiers pour les antécédents familiaux.

Tableau 15 : Répartition des sujets malades selon les antécédents de cancer.

Antécédents des malades	Nombre	%
Ulcère	7	33,88
antécédents de cancer	12	66,66

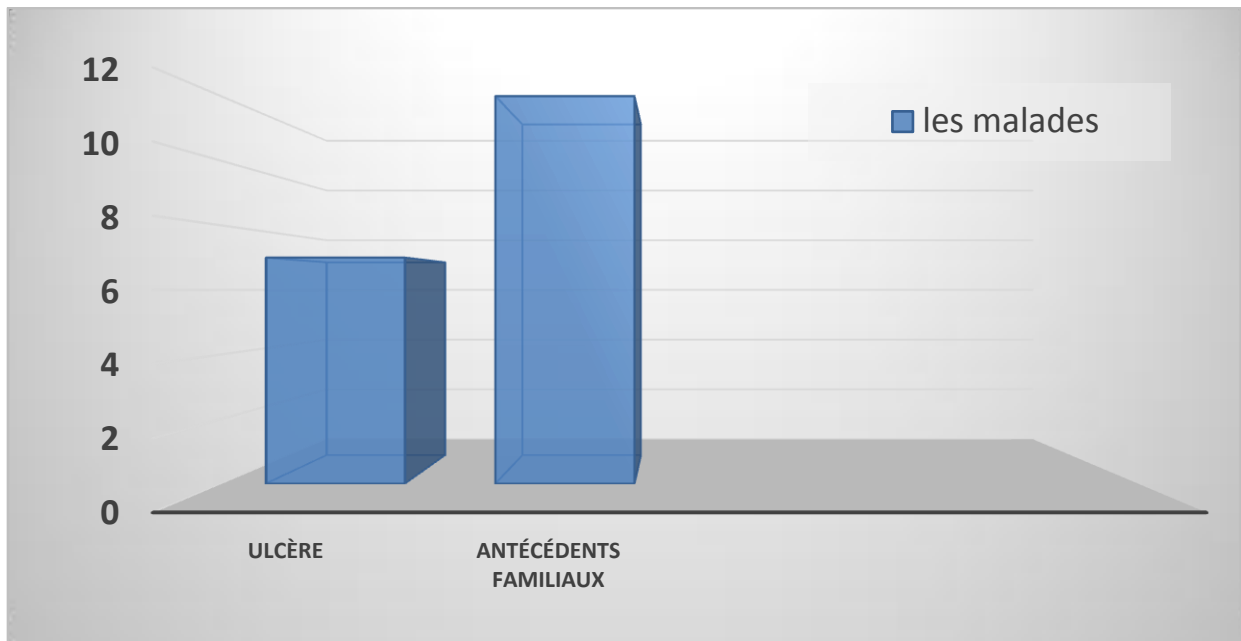


Figure 23 : Répartition des sujets malades selon les antécédents de cancer.

V.3. Fréquences génotypiques des malades et des témoins:

Le tableau 17 et la figure 23 montrent la comparaison des fréquences entre les témoins et les malades.

Tableau 16: Répartition des génotypes de la MTHFR des témoins et des malades.

Génotypes	Témoins		Malades	
	N	%	N	%
T/T	4	6	3	10.34
C/C	23	37	14	48.27
C/T	36	57	12	41.37
Total	63	100	29	100

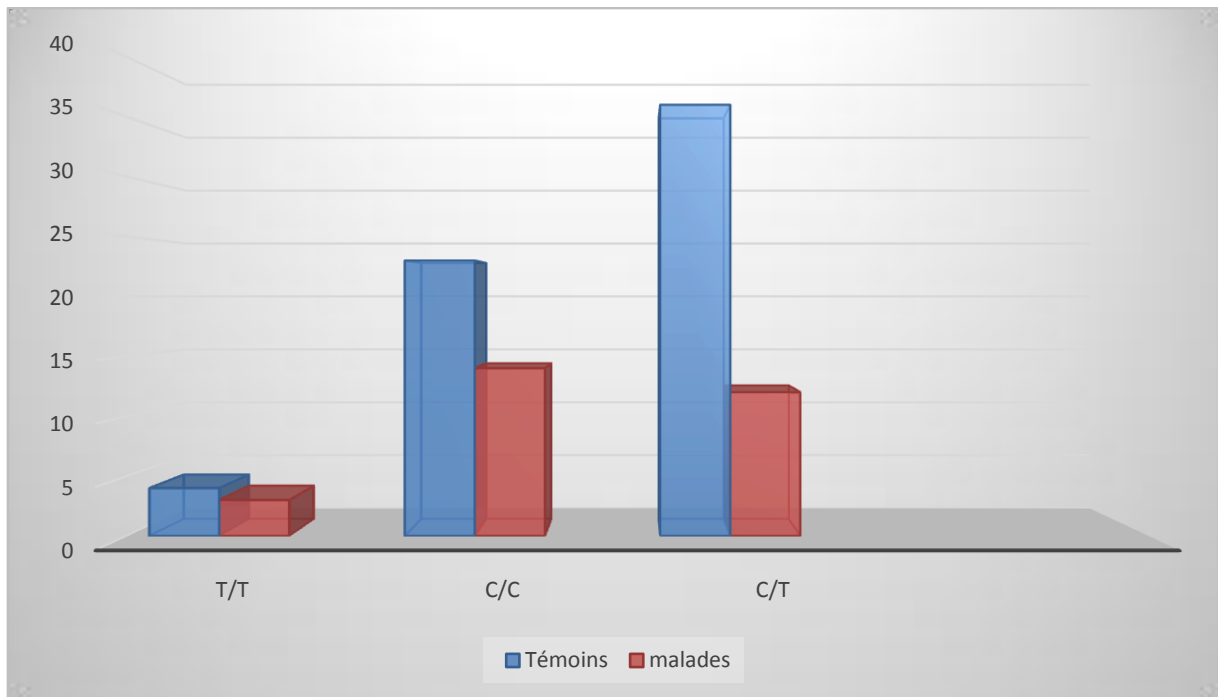


Figure 24 : Répartition des génotypes de la MTHFR des témoins et des malades.

V.4. Fréquences alléliques de la MTHFR des témoins et des malades :

Tableau 17 : Répartition des fréquences alléliques de la MTHFR dans la population témoins et malades.

Génotypes	Témoins		Malades	
	N	%	N	%
T	44	34.92	18	31.03
C	82	65.07	40	68.96
Total	126	100	58	100

Les fréquences des allèles T et C chez les malades présentant un GC sont respectivement de 34.92 % et 65.07 %.

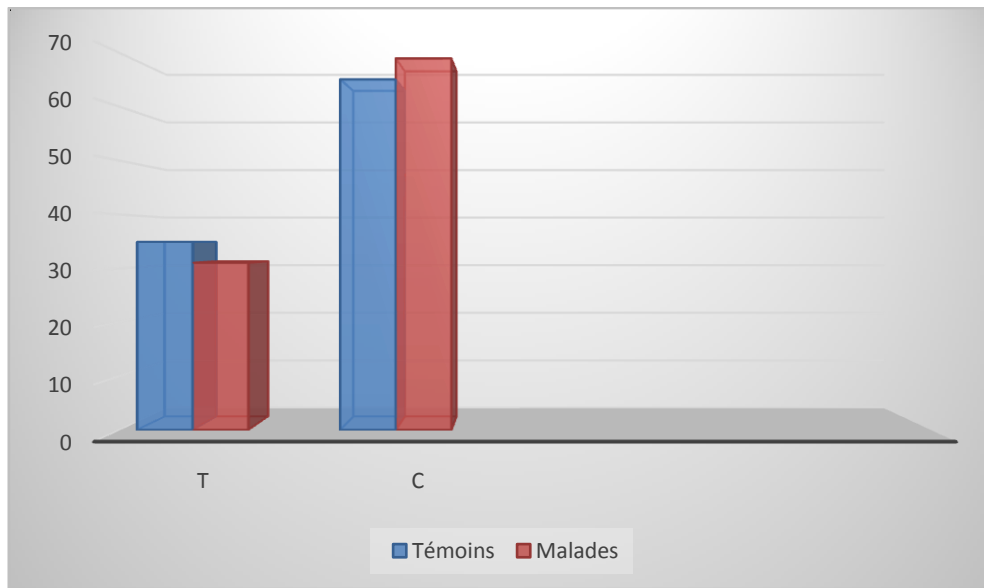


Figure 25 : Répartition des fréquences alléliques de la MTHFR dans la population témoins et malades.

V.5. Calcul des odds Ratios

Le calcul de l'odds ratio dans notre population des patients présentant un cancer gastrique a montré que les porteurs du génotype T 677T ne présentaient pas d'association significative avec le cancer gastrique.

TT vs CC: odds= 1, 23. p= 0, 55. NS

TT/CT vs CC: odds=0, 62 (0, 23-1, 65). p=0, 20. NS

CHAPITRE VI :

DISCUSSION

VI-Discussion :

Dans ce travail, nous avons étudié le polymorphisme C677T de la MTHFR dans une population de 30 patients ayant présenté un Cancer gastrique et chez 63 témoins.

Nous avons aussi étudié et comparé les données suivantes :

- Le sexe.
- L'âge des patients au diagnostic.
- La localisation de cancer gastrique.
- Le groupage.
- Les antécédentes au cancer.
- Le type histologique de la tumeur.
- La distribution des fréquences alléliques et génotypiques chez les témoins.

VI-1-Les caractéristiques phénotypiques de nos patients :

VI-1-1-Selon le sexe et âge :

La répartition des sujets malades selon le sexe a montré que le cancer gastrique (GC) est plus fréquent chez les hommes que chez les femmes avec une fréquence de 66,66 % pour le sexe masculin et seulement 33,33% pour le sexe féminin, avec un sexe ratio de 2.

Il y a une différence significative de la prédispositions au cancer gastrique entre les deux sexes.

Nos résultats sont en accord avec ceux d'une étude marocaine L. Chabani[45] qui a porté sur 19 cas de GC (19 cas ,sexe ratio 3.7) ,en revanche d'autres études comme celle de Jamal et al, 2011 [46], et J. Ferlay et al ,2012 (1.36) [47] et ceux d'une étude Canadienne réalisée en 2011 [48], ont retrouvé des sexe ratio de 1.36 et 1.9 respectivement .Cette différence pourrait être expliquée par le nombre limité des cas de notre étude.

Dans notre étude l'incidence du GC est plus importante chez l'homme que chez la femme, l'origine de cette différence demeure mal expliquée. Il a été suggéré que les hormones féminines auraient un rôle protecteur (Sipponen P et al, 2002) [49]. Précisément l'œstrogène puisque des récepteurs d'œstrogènes ont été identifiés à la surface des cellules du tissu gastrique, qui peut activer des protéines inhibitrices d'oncogènes [50], de plus L'atteinte s'élève avec l'âge en particulier chez les hommes.

La répartition des malades présentant un cancer gastrique selon l'âge et le sexe a montré une fréquence élevée de la maladie dans la tranche d'âge 60-69 ans chez les hommes suivie de la tranche d'âge 50-59 ans pour les femmes, les autres tranches d'âge restantes sont faibles.

Nos résultats sont similaires de celui de M.Hamdi Cherif et al, 2010 [51], cependant le GC dans les pays développés, la moyenne d'âge est supérieure ou égal à 70 ans (Benhamiche A.M et al, 2000) [52].

Tous ces chiffres prouvent que le cancer gastrique survient rarement avant l'âge de 40 ans avec une incidence qui augmente régulièrement après cet âge pour atteindre un pic entre la 6ème et la 7ème décennie [53,54].

En France, le cancer de l'estomac est rare avant 50 ans pour les deux sexes.

Les taux d'incidence augmentent jusqu'aux âges les plus élevés chez les deux sexes, mais le risque demeure constamment plus élevé chez les hommes. Entre 50 et 80 ans, le cancer de l'estomac fait plus que doubler chaque décennie [55]. En Amérique du Nord, l'âge médian de diagnostic de cancer de l'estomac est de 70 ans.

Environ 6,4% des patients ont moins de 44 ans [56,57]. L'apparition tardive de la maladie peut être expliquée par l'évolution lente de l'inflammation [58].

VI-1-2-Selon la localisation du cancer gastrique :

L'adénocarcinome distal représente 75 % des cancers gastriques dans les pays occidentaux [59].

Dans nos résultats la localisation la plus touchée est l'atteinte de cardia 36,66% suivi par la localisation fundique et antrepylorique 23,33%.

Nos résultats corroborent avec ceux d'A. Togo et al, 2010 [60], Koffi E et al, 1999 [53].

VI-1-3-Selon le groupage :

L'appartenance au groupe sanguin A, pourraient jouer un rôle dans la pathogénie du cancer gastrique et cela beaucoup plus dans sa forme diffuse que dans sa forme intestinale.

Dans notre série le pourcentage de sujets ayant les groupes sanguins O et A sont similaires à ceux de E Kofi et al, 1999 [53] et ceux de Iodice et al, 2010 [61] par contre dans l'étude de Wang et al, 2012 [62], c'est plutôt le groupe O qui prédominait.

La présence de facteur BabA (antigène binding adhesion) d'*H.pylori* est associée à la maladie ulcéreuse, à l'adénocarcinome et aux lésions précancéreuses. Il ya une affinité de BabA avec l'antigène Leb (Lewis B antigène) retrouvée sur la surface des globule rouges du groupe (O,A), Aspholm-Hurting et al, 2004 [63], Yamaoka, 2008 ; Rad et al, 2002 [64,65].

VI-1-4-Les antécédents aux maladies ulcéreuses et familiales de cancer :

Dans notre étude nous n'avons pas pu rechercher dans les antécédents de tous les patients la présence ou l'absence de maladie ulcéreuse avant l'apparition du GC ; dans les résultats de nos patients, nous avons retrouvé des antécédents d'ulcère gastrique chez 23.33%. Un antécédent d'ulcère gastrique est retrouvé dans environ un quart des cas selon Wanebo et al, 1993 [66].

Dans notre série les patients qui n'ont pas d'antécédents de maladie cancéreuse ont représenté 36.67% et 40 % des patients ont présenté des antécédentes de maladies cancéreuses.

VI-1-5-Le type histologique de la tumeur :

Plus de 90 % des cancers de l'estomac sont des adénocarcinomes, le restant correspondant essentiellement à des lymphomes ou des tumeurs stromales.

Sur les 30 cas de cancers gastriques, l'adénocarcinome est la forme histologique la plus fréquente (80%), suivie par les Lymphomes gastriques (16.66%), et les carcinomes épidermoïdes (3,33%), ces résultats sont en concordance avec ceux de J.B. Moussavou-Kombila et al [67], Togo et al 1999[60], et ceux de Youssouf Kone du Mali 2006 [68].

VI-2- Caractéristiques génotypiques de nos patients :

36 (57 %) de nos témoins sont hétérozygotes C/T, 4 (6 %) sont homozygotes mutés T/T, et 23 (37%) sont des homozygotes normaux C/C. En effet les fréquences génotypiques du polymorphisme C677T de la MTHFR des témoins sont très variables selon les différents groupes ethniques [69].

La distribution mondiale du polymorphisme C677T est très hétérogène. Elle correspond géographiquement à une répartition croissante Nord-Sud, notamment en Europe et en Amérique du Nord.

En Europe, la fréquence du génotype T/T est faible au nord, de 4 à 7 % en Finlande et en Russie, intermédiaire de 8 à 10 % en France et 12 à 15% en Espagne et au nord de l'Italie et élevé au sud 20 à 26 % en Sicile. Un gradient similaire a été trouvé en Amérique du Nord, où la fréquence du génotype T/T augmente de l'ouest du Canada (Alberta) au sud-est des États-Unis, pour atteindre un pic au Mexique (tableau 18) [69].

La fréquence du génotype T/T dans notre population témoin est de 6 % ce rapport est similaire à celui retrouvé en Turquie, Tunisie, en France à Rotterdam, et est très différent de celui retrouvé au Mexique et en Italie [69], alors qu'un très faible pourcentage chez les afro-américains est retrouvé [69,70, 71,72]. Parmi 102 malades afro-américains, Mc Andrew et al [71] n'ont retrouvé aucun cas d'homozygotie TT. Adjalla et al [73], ont rapporté une fréquence de 0,8 % du variant génotypique TT dans la population noire issue de l'Afrique de l'Ouest. A l'état hétérozygote (CT), cette mutation est présente chez approximativement 40 % des caucasiens, 20 % des afro-américains, et 15,9 % de la population noire africaine [73].

Le phénotype de ce variant génotypique, appelé « variant thermolabile » selon Kang SS et al [74], est caractérisé par une diminution de l'activité enzymatique de 70 % en cas d'homozygotie, et de 35 % en cas d'hétérozygotie.

Les fréquences des allèles T et C chez les témoins sont respectivement de 34.92 % et 65.07, ces résultats concordent avec ceux des pays de la méditerranée.

Tableau 18 : Les fréquences génotypiques et alléliques dans différents pays et groupes ethniques. [69]

Pays	FréquenceGénotypique			FréquenceAllélique	
	T/T	C/T	C/C	Allèle T	Allèle C
Bretagne	12.1	47.2	40.7	35.7	64.3
London	13.7	39.1	37.2	33.2	66.8
Rotterdam	7.0	48.0	45.0	31.0	68.0
France	9.77	52.6	37.6	36.1	63.9
Nord de l'Italie	21.00	47.0	32.0	44.5	55.5
Centre de l'Italie	30.2	45.3	24.5	52.8	47.2
Sud de l'Italie	18.7	51.3	30.0	44.3	55.7
Yémen	2.2	30.4	67.4	17.4	82.6
Turquie	7.5	41.9	50.6	28.5	71.5
SaouditeArabie	2.1	23.1	74.8	27.3	72.7
Mexique	32.2	49.6	18.2	57.0	43.0
Tunisie	5.4	24.9	69.7	17.8	82.2
Maroc	12.3	34.7	53.0	29.6	85.0
Notre étudeAlgérie	6	57	37	34.92	65.07

VI.3. Distribution des fréquences alléliques et génotypiques chez les patients :

Tableau 19 : Répartition des fréquences alléliques chez les patients.

Allèles	Effectifs	%
T	18	31.03
C	40	68.96
T+C	58	100

48.27% de nos patients ayant présenté un CG ont présenté le génotype C/C, 10.34 % le génotype T/T et 41.37 % le génotype C/T. Les fréquences des allèles C et T sont respectivement de 68,96 % et 31% chez ces patients.

Des odds ratio avec un intervalle de confiance ont été calculés à fin de déterminer un lien possible entre le polymorphisme de la MTHFR et le cancer gastrique.

Le calcul des odds ratios :

TT vs CC: odds= 1,23. p= 0,55. NS

TT/CT vs CC: odds=0,62 (0,23-1,65). p=0,20. NS

Notre population d'étude a montré que les porteurs du génotype T/T 677 ne présentaient pas d'association significative avec le Cancer gastrique suggérant que les sujets ayant un génotype T/T ne sont pas prédisposés à développer cette maladie par rapport aux porteurs du génotype C/C.

Ces résultats n'impliquent aucune corrélation significative entre le génotype T/T et le risque de cancer gastrique.

La MTHFR dirige le cycle des folates vers la méthylation de l'ADN et agit indirectement sur le niveau de synthèse de l'ADN.

Cette activité varie selon les polymorphismes de l'enzyme et l'apport alimentaire en folates.

Le polymorphisme C677T du gène *MTHFR* est celui parmi les polymorphismes des enzymes du métabolisme des folates qui a fait l'objet du plus grand nombre d'études dans le cadre du cancer de l'estomac.

De nombreuses études épidémiologiques ont mis en évidence le rôle important du méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR) dans la carcinogénèse. L'association de la mutation C677T de la MTHFR avec le risque de cancer gastrique reste obscure en raison des résultats très contradictoires dans des études indépendantes entre diverses ethnies.

Dans une méta-analyse basée sur toutes les publications disponibles sur cette association génétique réalisée par Susanna C. et al [75], Dans la plupart de ces études, le variant génotypique MTHFR 677TT (qui est associée à activité enzymatique réduite) a été associé à un risque accru de carcinome de l'œsophage, de l'estomac, à l'adénocarcinome du cardia, au cancer gastrique non cardia, au cancer gastrique (tous les sous-sites), et au cancer du pancréas.

Dans ces études 13 estimations étaient seulement statistiquement significatives.

Les résultats concernant l'apport alimentaire en folate et le risque de cancer de l'estomac de 11 études cas témoins et 2 cohortes ont montré une incompatibilité avec le développement du cancer gastrique.

Dans l'ensemble, il n'y avait pas d'association significative entre la consommation de folates alimentaires et le risque de cancer de l'estomac. Cependant, il y avait une hétérogénéité significative entre les études cas-témoins, mais pas dans les études de cohortes.

Bien qu'il n'y ait pas de relation globale entre la consommation de folates alimentaires et le risque de cancer de l'estomac, il est apparu que le génotype 677TT de la MTHFR est associé à un risque accru.

Les résultats de certains de ces travaux ont indiqué que les personnes ayant le génotype TT sont environ 70% à 90% plus susceptibles de développer un cancer gastrique (tous sites) et surtout l'adénocarcinome du cardia gastrique.

L'étude de Stefania Boccia et al. [76] a montré un risque accru pour le génotype TT de la MTHFR.

Les résultats en fonction des niveaux de folate sont montrés un risque accru pour les personnes 677 TT homozygotes à faible OR (OR = 2,05, IC 95%:1,13, 3,72) et à taux de folates bas par rapport à ceux 677 TT avec un OR élevé (OR = 0,95, IC 95%:0,54, 1,67 niveaux de folate). Dans l'ensemble, ces résultats soutiennent l'hypothèse que les folates jouent un rôle dans la cancérogenèse gastrique à des taux bas et en présence d'un génotype T677T de la MTHFR.

D'autres études sur la possibilité d'un risque accru de cancer gastrique chez les sujets qui sont 677 TT homozygotes avec un niveau faible en folates sont nécessaires, cependant, si ce résultat préliminaire est confirmé, une bonne évaluation de l'utilité clinique des tests de recherche du polymorphisme C677T de la MTHFR pour identifier la prédisposition au cancer gastrique chez les populations présentant un déficit en folates, suivie par l'introduction de la supplémentation en folate spécifique, serait justifiée. Actuellement, cependant, les essais de supplémentation des populations en folates chez les sujets MTHFR C677T pour prévenir le cancer gastrique n'est pas indiqué.

La méta-analyse de Xingli Dong et al [77], a inclus 22 études et ses résultats étaient très hétérogènes. De nombreux facteurs peuvent contribuer à cette hétérogénéité, et l'ethnicité peut être l'un d'eux parce que les distributions

alléliques et génotypiques du locus MTHFR C677T sont différentes dans différentes ethnies.

Dans le groupe des pays asiatiques, l'hétérogénéité disparaît, et les résultats ont montré une association significative entre le polymorphisme T677T et le cancer gastrique. Cependant, l'hétérogénéité a été retenue dans le groupe de race blanche. Les résultats de l'analyse des sous-groupes ont montré un risque accru chez les Asiatiques, mais pas chez les Caucasiens (effet aléatoire) qui avaient un génotype T677T de la MTHFR.

L'Odds ratio chez les homozygotes (TTvsCC) est significatif chez les Asiatiques, alors que, chez les Caucasiens, il ne l'était pas.

Une autre méta-analyse réalisée en 2013 publiée en 2013 et 2014, basée sur toutes les publications disponibles sur cette association génétique a été réalisée par Wang P et al [78,79]. Dans cette étude des odds ratios avec des intervalles de confiance à 95% (IC à 95%) ont été calculés pour estimer l'effet des variants de MTHFR sur la cancérogenèse gastrique.

L'augmentation des études épidémiologiques ont mis en évidence le rôle important de méthylène-tétrahydrofolate réductase (MTHFR) dans la carcinogenèse. L'association de la MTHFR A1298C et MTHFR C677T polymorphismes avec le risque de cancer gastrique reste obscure raison de résultats contradictoires dans les études indépendantes entre diverses ethnies. Une méta-analyse basée sur toutes les publications disponibles sur cette association génétique a été réalisée.

Les odds ratios (OR communs) avec des intervalles de confiance à 95% (IC à 95%) ont été calculés pour estimer l'effet des variants de MTHFR sur la cancérogenèse gastrique. Totallement, 25 études cas-témoins admissibles ont été incluses dans la méta-analyse selon les critères d'inclusion.

Le polymorphisme C677T MTHFR a été démontré à augmenter de manière significative la susceptibilité au cancer gastrique (ORT vs C = 1,21, IC 95% 1,10 à 1,34; ORTT vs CC = 1,47, IC 95% 1,22 à 1,76; ORTC vs CC = 1,20, IC 1,03 à 1,40 95%; ORTT + TC vs CC = 1,27, IC 95% 1,10 à 1,47; ORTT vs CC + TC = 1,29, IC 1,15 à 1,46 95%), tandis qu'aucune corrélation significative n'a été observée lors de l'évaluation de la MTHFR polymorphisme A1298C (ORC vs A = 1,00, IC 0,90-1,10 95%; CRCO vs AA = 0,99, IC 95% 0,75 à 1,31; ORCA vs AA = 1,01, IC 95% 0,89 à 1,14; CRCO + CA vs AA = 1,00, IC 95% 0,89 à 1,13; CRCO vs AA + CA = 0,97, IC 0,74 à 1,27 95%). Les analyses de sous-groupes selon l'origine ethnique et la source des contrôles plus confirmé les conclusions de l'analyse globale. La méta-analyse suggère que le polymorphisme A1298C de la MTHFR ne confère un effet sur le risque de développement de cancer de l'estomac chez les Asiatiques et les Caucasiens, qui offrent un nouvel éclairage sur la pathogenèse du cancer gastrique, au contraire de polymorphisme C677T.

Les données publiées sur le polymorphisme C677T de la MTHFR et le risque de cancer indiquent que l'allèle T protège contre le cancer chez les sujets présentant un taux élevé de folates mais augmente le risque dans des conditions de carences en folates.

La protection peut être associée à la disponibilité abondante de purines et de pyrimidines pour la synthèse de l'ADN, conduisant à une réparation efficace de l'ADN et pratiquement l'absence d'incorporation accidentelle d'uracile dans l'ADN.

L'association d'un taux faible en folate et le génotype TT compromet la reméthylation de l'homocystéine en méthionine ; ce pourrait provoquer ainsi une hypométhylation de l'ADN, qui est connue pour être impliqués dans carcinogénèse [79,80].

Plusieurs études ont suggéré que la relation entre le polymorphisme C677T et le risque de cancer peut être modifié par l'alcool ou la cigarette, qui peuvent interférer avec le métabolisme de l'acide folique [81, 82,83].

Le risque accru de cancer de l'estomac associé au génotype MTHFR 677TT suggère qu'une méthylation aberrante de l'ADN pourrait un rôle dans le développement de ces cancers montrant que la méthylation de l'ADN génomique est significativement plus faible chez les personnes présentant le génotype TT de la MTHFR.

Les résultats obtenus dans notre étude indiquent que de nombreux facteurs peuvent contribuer à la genèse du GC , dont l'origine ethnique parce les fréquences alléliques et génotypiques du locus MTHFR C677T est différente dans différentes ethnies ,de plus le nombre restreint de notre population d'étude, l'alimentation et le statut fumeur ,alcoolique ou non à un grand rôle dans la pathogénie du cancer gastrique comme en témoigne de nombreuses études [81, 82,83].

CONCLUSION

Les résultats de notre étude ont montré que le cancer gastrique est plus fréquent chez les hommes que chez femmes avec un taux plus élevée de la maladie dans la tranche d'âge 60-69 ans chez les hommes et la tranche d'âge 50-59 ans pour les femmes.

L'adénocarcinome du cardia gastrique est la forme la plus répandue chez nos patients et que l'appartenance au groupe sanguin A, pourraient jouer un rôle dans la pathogénie du cancer gastrique.

Les porteurs du génotype T677T ne présentent pas d'association significative avec le cancer gastrique suggérant que les sujets ayants un génotype T/T ne sont pas prédisposés à développer cette maladie par rapport aux porteurs du génotype C/C.

L'association de la mutation C677T de la MTHFR avec le risque de cancer gastrique reste obscure en raison des résultats très contradictoires dans des études indépendantes entre diverses ethnies. En effet, le cancer gastrique apparaît comme le résultat d'une interaction complexe entre gènes et environnement.

D'autres études incluant un nombre élevé de patients sont nécessaires pour mieux étayer et expliquer et confirmer cette relation entre le polymorphisme C677T de la MTHFR et le cancer gastrique.

ANNEXES

Annexe 1 :

classification TNM du cancer de l'estomac [8].

Tis	Tumeur intra-épithéliale sans invasion de la muqueuse
T1	Tumeur envahissant la muqueuse ou la sous-muqueuse
T2	Tumeur envahissant la musculuse ou la sous-séreuse
T3	Tumeur envahissant la séreuse sans envahissement des organes adjacents
T4	Tumeur envahissant les structures adjacentes
N0	Absence d'envahissement des ganglions lymphatiques régionaux
N1	Envahissement de 1 à 6 ganglions lymphatiques régionaux
N2	Envahissement de 7 à 15 ganglions lymphatiques régionaux
N3	Envahissement de plus de 15 ganglions lymphatiques régionaux
M0	Absence de métastases
M1	Présence de métastases

Survie à 5 ans selon le stade:

La survie des stades de cancer de l'estomac [8].

Stade	T	N	M	survie
Stade IA	T1	N0	M0	85%
Stade IB	T1	N1	M0	50%
	T2	N0	M0	
Stade II	T1	N2	M0	40%
	T2	N1	M0	
	T3	N0	M0	
Stade IIIA	T2	N2	M0	35%
	T3	N1	M0	
	T4	N0	M0	

Annexe 2 : Questionnaire :

1) Données relatives au patient :

N° de dossier :
Nom & prénom :
Date et lieu de naissance :
Sexe : F M
Poids : Taille :
N° Tel :
Etat civil :
Fonction :

Service :
Age :
Groupe sanguin :
Adresse :
Nbre d'enfants :

2) Habitudes personnelles :

Régime alimentaire :

Viande :	Non <input type="checkbox"/>	Oui <input type="checkbox"/>	Nbre/ semaine :
Poisson :	Non <input type="checkbox"/>	Oui <input type="checkbox"/>	Nbre/ semaine :
Sucrierie :	Non <input type="checkbox"/>	Oui <input type="checkbox"/>	Nbre/ semaine :
Végétaux :	Non <input type="checkbox"/>	Oui <input type="checkbox"/>	Nbre/ semaine :
Tabac :	Non <input type="checkbox"/>	Oui <input type="checkbox"/>	Nbre/ jour :
Café :	Non <input type="checkbox"/>	Oui <input type="checkbox"/>	
Alcool :	Non <input type="checkbox"/>	Oui <input type="checkbox"/>	

Les antécédents :

*Personnels :

Ulcère gastrique : Non Oui

Gastrite chronique prouvée par fibroscopie : Non Oui

Année de la gastrectomie:.....

*Familiaux :

Antécédents familiaux de cancer de l'estomac ou l'œsophage :

Père:..... Mère :..... Fratrie :..... Cousinage:..... Indéterminé :.....

3) Renseignements clinique :

Diagnostic de la maladie :

Age au moment du diagnostic :

Analyse biologique : CA19.9 ACE Autre

Examen clinique : Endoscopie Echo/Scanner

Délai entre le début de la maladie et la première consultation médicale :

Histologie de la biopsie : date:..... Métastase :

Localisation anatomique à la fibroscopie :

cardia fondus antre pylorique pylore

Examen anatomopathologique :

Lymphome Sarcome Adénocarcinome Autre

Thérapie :

Chirurgie seule Chirurgie plus chimiothérapie

Chirurgie plus chimiothérapie plus radiothérapie

La durée du traitement :

Annexe 3:L'extraction de l'ADN :

1-Préparation des leucocytes:

- Dans un tube flacon de 50ml ; 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.

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 Flacon conique de 15 ml.
- Ajouter 3 ml de tampon de lyse (Na Cl 400 mM, EDTA 2 mM, 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 Flacon 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 l'A₂₆₀ de cette ADN.

Annexe 4 :

1-Préparation du milieu réactionnel :

Tableau 03 : Préparation du milieu réactionnel du PCR pour MTHFR.

PCR	MIX	X Nombre d'échantillons (ADN)	Quantité μ l
H ₂ O	35,2 μ l		
Tampon 10 X sans Mg Cl ₂	5 μ l		
Dntp 2mM	5 μ l		
Mg Cl ₂ 25mM (1,5mM)	3 μ l		
Oligo F (100 pmol/ μ l)	0,2 μ l		
Oligo R (100 pmol/ μ l)	0,2 μ l		
Taq polymérase	0,4 μ l		

Dans l'éppendorf : 2 μ l ADN + 49 μ l Mix.

Le blanc : 2 μ l d'eau distillée + 49 μ l Mix.

Puis dans le thermocycleur et programme appliquer, le programme de la MTHFR :

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

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

2-Déroulement de la PCR :

Tableau 04 : Déroulement des cycles de la PCR dans le thermocycleur.

Nombre de cycles	Etape	Température (°C)	Durée
X 1	Dénaturation	94	5 min
X 30	Dénaturation	94	30 s
	Hybridation	65	30 s
	Elongation	72	40 s
		72	10 min
		4	5 min-24 h

Annexe 5:

1-Préparation du TBE 10 X:

Tris 108g + Acideborique 55g

Ajuster le PH à 8.3 avec l'acide acétique glacial

EDTA 9.3g

QSP 1L H₂O

2-Préparation du milieu de digestion par l'enzyme Hinf I :

Tableau 05 : Préparation du milieu de digestion par l'enzyme Hinf I

Milieu de digestion	Quantité en µl
H ₂ O	4
Tampon 10 X	5
Hinf	1
BSA (Bovine Sérum Albumine)	0.2

X (nombre de produit de PCR)

30 µl produit PCR + 10 µl de Mix

Le BSA est un activateur.

Préparation d'un gel d'agarose 3%:

3g agarose + 100 ml TBE 1X + 10 ml BET

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUE

Références bibliographique

- 1- **American Society of Clinical Oncology** (Ed). Cancer Types –Stomach Cancer, *Cancer.net*. [Consulté le 15 November 2009].
- 2- **M. HamdiCherif, Z. Zaidi, D. Abdellouche, S. Hamdi, N. Lakhdari, A. DjemaBendjazia, S. Laouamri, A. Mahnane, H. Moussaoui, L. Kadri, D. Guerra**.Cancer registry of Setif (Algeria): cancer incidence, trend and survival, 1986–2005 . *Journal africain du cancer / African Journal of Cancer*24 245-258 ,2010.
- 3- **Aparicio T, Yacoub M, KarilA-Cohen P et Renne**. (2004) ; Adénocarcinome gastrique : notions fondamentaux ; diagnostic et traitement. *EMC- chirurgie ; 1*, 47-66.
- 4- **Saif M.W, Makrilia N, Zalonis A, et al**. (2010). Gastric cancer in the elderly. *European journal of surgical oncology*, 36, 709-717.
- 5- **Coleman MP, Gatta G, Verdecchia A, et al**, erocare-3 summary: cancer survival in Europe at the end of the 20 Th century. 14 (suppl. *Ann oncology* 2003).
- 6- **DE Martel C, Forman D, ET Plummer M**. (2013).Gastric cancer: Epidemiology and Risk Factors.*Gastroenterology clinics of North America*; 42 (2); 219-240
- 7- **Zeybek U, Yaylim I, Yilmaz H, Ağaçhan B, Ergen A, Arikan S, Bayrak S, Isbir T**. Methylene-tetrahydrofolate reductase C677T polymorphism in patients with gastric and colorectal cancer. *Cell biochemistry and function*. 2007; 25(4):419-22.
- 8- **Lv L,Wang P, Sun B, Chen G**. The polymorphism of methylene-tetrahydrofolate reductase C677T but not A1298C contributes to

Références bibliographique

gastric cancer. *Tumour biology: the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*. 2013;35(1):227-37.

9- Kang SS, Wong PWK, Susmano A, Sora J, Norusis M, Ruggie N. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase : an inherited risk factor for coronary artery disease. *Am J Hum Genet* 1991; 48, 536-45.

10- Frosst P, Blom HJ, Milos R, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease : a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet* 1995; 10: 111-3.

11- Engbersen AMT, Franken DG, Boers GHJ, Stevens EMB, Trijbels FJM, Blom HJ (1995) Thermolabile 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase as a cause of mild hyperhomocysteinemia. *Am J Hum Genet* 56:142-150.

12- Friso S, Choi SW. Gene-nutrient interactions in one-carbon metabolism. *CurrDmgMetab*. 2005;6(1):37-46.

13- Z. Jerbi ;M. Abdennebi ; H. Douik ;H. Ben Romdhane ; L. Harzallah ;F. Guemira ; A. Ghanem. Étude du polymorphisme C677T du gène du méthylène tétrahydrofolate réductase dans la population tunisienne. *Ann Biol Clin* 2005 ; 63 (5) : 487-91.

14- Torrisani J. Méthylation de l'ADN et régulation épigénétique des cancers. (14) *Hépatogastro* 2003; 10(6):455-67.

15- Kang SS, Wong PW. Genetic and nongenetic factors for moderate hyperhomocyst(e)inemia. *Atherosclerosis* 1996; 119:135–8.

16- Jacques PF, Bostom AG, Williams RR, Ellison RC, Eckfeldt JH, Rosenberg IH, Selhub J, Rozen R. Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase, and plasma homocysteine concentrations. *Circulation* 1996;93:7–9 .

Références bibliographique

- 17- Matthews RG, Boers GJ, den Heijer M, Kluijtmans LA, van den Heuvel LP, et al.** A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet* 1995;10:111–3.
- 18- Hudler P,** (2012).Genetic aspects of gastric cancer instability, *scientific world journal* 2012, 761p.
- 19- GJ.Tortora et S.R. Grabwski.** Principe d'anatomie et de physiologie, Québec, De Boek Université, 1994, 1159 p.
- 20- Moore et DalleY.** Anatomie médicale : aspect fondamentaux et application clinique, Bruxelles, De Boek Université, 2007. 1154 p.
- 21- F. Scotte, P. Colonna. J.M.Andrieu.** cancérologie, tumeur digestives, ellepses. 2003.908p.
- 22- N. Dalyschveitzer. E. Cabarrot. R. Guimband. E. Moyal.** cancerologie clinique. Connaissances et pratique, campus Masson. 2011.1025p.
- 23- DE. Martel. C Forman. D et Plummer. M.** (2013). Gastriccancer: epidemiology and risk factors. *Gastroenterologyclinics of NorthAmericana* ; 219 p.
- 24- R.Allem.** (2014). Epidémiologie des cancers digestifs dans la région de chlef (Algérie).*J .Afr. Cancer*, 6, 22-26.
- 25- M.Hamdi Cherif et Coll.** (2010). Registre du cancer de Sétif (Algérie) : incidence tendance et suivie, 1986-2005, *J. Afr. Cancer* 2,245-258p.
- 26- Association de recherche sur les cancers dont gynecologiques** (Ed). *Info-Cancer – Cancer de l'estomac (gastrique)*, *Info-Cancer*. [Consulté le 15 novembre 2009]. www.arcagy.org.
- 27- S. Naveau. A. Balian. G. Pertemuter.** Hépto-gastro-enterologie. compus masson. 2008.1019p.

Références bibliographique

- 28- Richard Hamelin.**2008. conséquences clinique et moléculaires de l'instabilité des microsatellites dans les cancers humains. Bull cancer, 95(1), 121-32.
- 29- Ohini L, Falchetti, M, Saieva C, DE Marco M, Masala G, Zanna I, et AL.** 2004. MRE 11 expression is impaired in gastric cancer with microsatellite Instability. Cancirogenesis, 25, 2337-2343.
- 30- Sugai T, Habano W, Jiao YF, Suzuki M, Takagane A, Nakamura S.** (2005). Analysis of genetic alteration associated with DNA diploidy, aneuploidy and multiploidy in gastric cancers, oncology, 68, 548-557.
- 31- Hudler P,** (2012). Genetic aspects of gastric cancer instability, scientific world journal 2012, 761p.
- 32- Suzuki K, Ohnami S, Tanabe C, Sasaki H, Yasuda J, Katai H, et al.**(2003). The genomic damage estimated by arbitrarily primed PCR DNA fingerprinting is useful for the prognosis of gastric cancer. Gastroenterology. 125, 1330-1340.
- 33- Kimura Y, Noguchi T, Kawahara K, Kashina K, Daa T, Yokoyama S.** (2004). Genetic alteration in 102 primary gastric cancers by comparative genomic hybridization: gain of 20q and loss of 18q are associated with tumor progression. Modpathol, 17, 1328-1337.
- 34- Buffart TE, Van Grieken NC, Tijisen M, Coffa J, Yistra B, Ggrabsch HI, Van DE, Velde CJ,** et al. High-resolution analysis of DNA copy-number abenation of chromosomes 8, 13, and 20 in gastric cancers. Virchowsarch, 455, 213-223.
- 35- Sanz-Ortega J, Sanz-Esponera J, Coldes T, Gomez DE , LA Concha E, Sobel ME, Merino MJ.**(1996). LOH at the APC/MCC gene (5Q21) in gastric cancer and preneoplastic lesions. Prognostic implications. Patholrespract, 192, 1206-1210.

Références bibliographique

- 36- Panani AD.** (2008). Cytogenetic and molecular aspects of gastric cancer:clinical implications cancer let, 266, 99-115 .
- 37- Ushijima T, Sasako M,** (2004). Focus on gastric cancer, cancer cell, 5, 121-125.
- 38- Aparicio T, Yacoub M, Karila-Cohen P et Renrichare E,** (2004).Adénocarcinome gastrique : notions fondamentales, diagnostic et traitement. EMC-chirurgie, 1, 47-66.
- 39- L.Hambaba, S.A Sammed, M.Yahia, et al** 2008. relation entre l'hyperhomocystéinimé et le polymorphisme C677T du gene de la MTHFR dans la population algerienne saine 637- 640.
- 40- <http://ghr.nlm.nih.gov/gene>.** Le 23/06/2014.
- 41- Wagner .**Biochemical role of folate in cellular metabolism in folate in health and disease,ed bailey LB editor (newyork Marcel dekker,23-42;1995.
- 42- Elizabeth A;Verga; Amyc. Sturm, Canon P. Moll.S,**homocysteine and MTHFRmutation relation to thrombosis and coronary artery disease.circulation 2005 111 289- 293.
- 43- Alesandro P, Silvana A et AL.**2009.Plasma homocysteine concentration C677T MTHFR genotype and 844ins 68 pb CBS genotype in young adults xithsponthenious cervical artery.
- 44- G Benut.A Ghoki .I Quere .C Termision.I Galoise P. M Roy. M Marre.P Fressinaud.**la mutation C677T du gène de la MTHFR est associé aux thromboses veineuses idiopathiques France 2003. 576 p.
- 45- Chabani,** les aspects épidémiologiques des cancers au **CHU Hassan II de Fes. Thèseméd. Rabet** (2005) No: 131.
- 46- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward et Forman D. (2011).** Glibal cancer statistics. Cancer jornal for clinicians; 61, 69-90.

Références bibliographique

- 47- Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C et Pakin. (2012).** Cancer incidence and mortality worldwide. IARC Base No.10.
- 48- Canadien cancer society s steering committee on cancer statistics.** Canadian cancer statistics 2011. Toronto, ON : Canadian cancer society ; 2011.
- 49- Sipponen P, Correa P. (2002).** Delayed rise in incidence of gastric cancer in females results in unique sex ratio (M/F) pattern: etiologic hypothesis. *Gastric cancer*, 5, 213-9.
- 50- Ghandanos E, Lagerren J. (2008).** Oestrogen and enigmatic male predominance of gastric cancer. *European Journal of cancer*,44, 2397-2403.
- 51- M. Hamdicherif et coll.**Registre du cancer de setif (Algerie) : incidence, tendance et survie, 1986-2005, *Afr.Cancer*, 2 ,245-258.
- 52- BenhamichA .M, Faiv REJ. Menogose Groclaud P. (2005).** Les cancers digestifs en France l'aube de l'an 2000. *Hépatogastro*, 4, 8,12.
- 53- Koffie, Koussi JC. (2003).** Le cancer gastrique : aspects épidémiologiques et pris en charge en milieu tropical. *Médecine d'Afrique noire*, 46, (1), 52-55.
- 54- Bendahmane Hafida,** profil épidémiologique de cancer gastrique (à propos de 113 cas). Service de gastroentérologie-CHU Hassan II- Fès, faculté de médecine et pharmacie de Fès- thèse N°73/08.201.
- 55- A- M. Bouvier, C Lepage, J. Faivre (2009).** Epidémiologie des cancers de tube digestif. EMC (Elsevier Masson SAS) ;gastroentérologie, 9-000-12.
- 56- A- Verdacchia, A Mariott O, G Gatta. MT Bustamante-Teixeira, W Ajiki. (2003)** comparaison of stomach cancer incidence and survival in four continents. *European Journal of cancer*, 39,1603-1609.
- 57- Jon R. Kelley, John M, Duggan, (2003).** Gastric cancer epidemiology and risk Factors *Journals of clinical Epidemiology*, 56,1-9.

Références bibliographique

- 58- Ferrand J. (2009).** H pylori dans un modèle de carcinogénèse gastrique impliquant les cellules souches mésenchymateuse, thèse de doctorat Université de poudreux, 2 ;223.
- 59- D. Lamarque (2008).** Epidémiologie de l'adénocarcinome de l'estomac. Hépatogastro, 15, 101-110.
- 60- A. Togo et al. (2011).** Cancer gastrique au CHU Gabriel-Touré : aspect épidémiologique et diagnostique. J Afr cancer, 3,227-231.
- 61- Iodice S, Maisonneuve P. Botteri E et al. (2010).** ABO blood group and cancer. European Journal of cancer, 36, 3345-3350.
- 62- Wang Z, Liu L, Ji J, Zhang J et al. (2012).** ABO Blood Group System and gastric cancer : a case control study and Meta-Analysis. International Journal of molecular sciences ; 13, 1308-1321.
- 63- Aspholm-Hurtig M, Dailide G, Lahman M, et al. (2004).** Functional adaptation of Bab A, The H.pylori ABO Blood groupe 522 antigen binding adhesin. Science ; 305,519-522.
- 64- Yamaoka Y. (2008).** H.pylori :molecular genetics and cellular biology ; Edition Caister Academic.257.
- 65- Rad R ; et al. (2002).** thehelicabacterbyton blood group antigen. Binding / adhesinfacilitats bacterial adonisation and augments a nous pecifecimunerensons, the journal of immunology.106, 3033-3041.
- 66- Wanebo H J, Kennedy BJ, Chmiel J, Steele Jr G, Winchester D, Osteen R. (2003).** Cancerof stomach. A patient care study by the American College of Surgeons. Annsurg ; 218,583-592.
- 67- J, B Moussa Vou-Kombila et al. (2009).** Les cancers de l'estomac au Gabon à propos de 79cas observés en 10ans. Acta Endoscopica, 29(4), 499-503.

Références bibliographique

- 68- Kone Y. 2006.** Cancer de l'estomac : aspects épidémiologique, clinique et thérapeutique dans le service de la chirurgie A au centre hospital universitaire du point G, thèse de doctorat université de Bamako, 101.
- 69- Astin H, Hooper WC, Dilly A, Drews C, Renshaw M, Elligshen D, et al. (2007).** The prévalence of tow genetic traits related to venous thrombosis, in whites and African-Americans. *Thromb Res*, 86,409-415.
- 70- Franco RF, Aroufo AG, Guerreiro JF, Elinon J, Zago MA.(2008).** Analyses of the 677 C-T mutation of the MTHFR gene in different ethnic groups. *ThrombHaemost*, 79-119.
- 71- MC Andrew PE, Brand J T, Pearl D K, Prion TW. (2006).** The incidence of MTHFR gene in African-American. *ThrombRes*, 195-8.
- 72- Stevenson RE, Schwartz CE, Du TYZ, Adams MJ, Jr.(2011).** Differences in MTHFR genotype frequencies, between whites and black, *Am J Hum Genet*, 60,229-30.
- 73- Adjalla CE, AMOUZO EK, Samni A, Abdelmoutaleb I, Chabi N, Namour F, et al. (2013).** Low frequency of mutated MTHFR 677C-T and 1298A-C genetic single nucleotide polymorphisms (SNPs) in sub-saharan population. *Clinchem Lab Med*, 41,1028-1032.
- 74- Kang SS, Wong PW, Zhou JM, Sora J, Lessick M, Ruggie N, et al.(2008).** Thermolabile MTHFR in patients with coronary artery disease. *Metabolism* 37,611-3.
- 75- Susanna C. Larsson, ED ward giovann CCI, and AlicjaWolk. (2006).** Folate intake, MTHFR polymorphisme, and Risk of Esophageal, Gastric and pancreatic cancer : Meta-analyses. *GASTROENTEROLOGY*, 131,1271-1283.
- 76- Stefania boccia rayjean hung, GualterioRicciardi, et al.(2008).** Meta and pooled Analyses of the MTHFR C677T and A1298C polymorphisms and gastric

Références bibliographique

cancer Rick A Hoge-GSEC Review-American Journal of Epidemiology, 167,505-576.

77- Xingli dong, Jianing Wu, PengLiang, Jihong LI, Lijie Yuan, and XinghanLieu (2010). The polymorphism of MTHFR C677T but not A1298C polymorphisms and gastric cancer : A Meta-analysis Archives of Medical Research 41,125-133.

78- Wang P, Chun G. (2013). Tumour biology : the journal of the international society for oncodevelopmental Biology and medicine, 35(1), 227-37.

79- Chan J, et al. (2009). MTHFR polymorphisme methyl-repete diets and risk of colorectal carcénoma and adenoma among U. S. men and women : an exemple of gene environment interaction in colorectal tumorigenesis.JNutr, 129,560s-564s.

80- Uland PM, hustad S, schneedeJ, Refsum H and Vollset se. (2011). Biological and clinical implication of the MTHFR C677T polymorphism. Pharmacologicalsciences ; 22,195-201.

81- Rillman R S, Steinbrs. (2002). The effects of alcohol on folate metabolismAnnu. Rev Med, 33, 345-354.

82- Boley LB. Folate status assesement.JNutr (2000).

83- Halsted CH, Willanueva JA, Deulin AM, Chandler CJ. (2002). Metabolic interactions of alcohol and folate.JNutr, 132,23672S.

Résumé

La 5,10 méthylènetétrahydrofolate réductase (MTHFR) est une enzyme clé du métabolisme des folates. Elle catalyse de façon irréversible la conversion du 5,10 méthylènetétrahydrofolate en 5 méthyltétrahydrofolate, un substrat clé donneur de carbone pour la reméthylation de l'homocystéine. L'activité de la MTHFR varie selon les polymorphismes du gène de l'enzyme et de l'apport alimentaire en folates.

Le polymorphisme C677T de la MTHFR génère une enzyme thermolabile qui possède une activité réduite d'environ 75% à 37 °C à l'état homozygote. Il semble interférer avec les phénomènes de la carcinogenèse en diminuant le taux de méthylation de l'ADN le rendant instable et en contrôlant la synthèse de l'ADN. Ce polymorphisme C677T est celui qui a fait l'objet du grand nombre d'étude dans le cadre des cancers digestifs.

Les fréquences génotypiques du polymorphisme C677T de la MTHFR des témoins sont très variables selon les différents groupes ethniques. Nos résultats concordent avec ceux des pays de la méditerranée.

Les odds ratios calculés de nos patients ont montré que les porteurs du génotype T677T ne présentaient pas d'association significative avec le cancer gastrique suggérant que les sujets ayant un génotype T/T ne sont pas prédisposés à développer cette maladie par rapport aux porteurs du génotype C/C.

Le rôle du polymorphisme C677T de la MTHFR dans la genèse du cancer gastrique est controversé. Nos résultats sont en accord avec les études qui disent que le génotype T/T n'est pas associé au cancer gastrique.

De nombreuses études épidémiologiques ont mis en évidence le rôle important de la MTHFR dans la carcinogenèse. L'association de la mutation C677T de la MTHFR avec le risque de cancer gastrique reste obscure en raison des résultats très contradictoires dans des études indépendantes entre diverses ethnies.

La méthylation de l'ADN joue un rôle important dans la régulation épigénétique de l'expression des gènes, ainsi que dans le maintien de l'intégrité structurelle du génome, une méthylation aberrante est associée à diverses maladies dont le cancer gastrique.

Mots clés : Cancer gastrique, MTHFR, polymorphisme C677T.

Laboratoire de recherche de biologie et de génétique moléculaire faculté de Médecine université Constantine 3.

Summary

5,10 methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) is a key enzyme in folate metabolism. It catalyzes the irreversible conversion of 5,10 methylenetetrahydrofolate to 5-methyltetrahydrofolate, a key substrate carbon donor for the re-methylation of homocysteine. The activity of MTHFR varies polymorphisms of the enzyme gene and the dietary intake of folate.

The C677T polymorphism of MTHFR enzyme that generates a heat labile has reduced by about 75% at 37 ° C in the homozygous state activity. It appears to interfere with the phenomena of carcinogenesis by reducing the DNA methylation levels making unstable and controlling the synthesis of DNA. The C677T polymorphism is one which has been the subject of many studies in the context of digestive cancers. The genotype frequencies of MTHFR C677T polymorphism of witnesses are highly variable between different ethnic groups. Our findings are consistent with those of the countries of the Mediterranean.

The odds ratios calculated our patients have shown that carriers of the T677T genotype showed no significant association with gastric cancer, suggesting that subjects assigns a T / T genotype are not predisposed to developing the disease compared to genotype C / C. The role of MTHFR C677T polymorphism in the genesis of gastric cancer is controversial. Our results are consistent with studies that say that the T / T genotype was not associated with gastric cancer. Numerous epidemiological studies have highlighted the important role of MTHFR in carcinogenesis. The association of the C677T mutation of MTHFR with gastric cancer risk remains unclear due to very mixed results in independent studies between various ethnic groups.

DNA methylation plays an important role in the epigenetic regulation of gene expression, as well as in maintaining the structural integrity of the genome, aberrant methylation is associated with various diseases including gastric cancer. **Keywords:** Gastric cancer, MTHFR, C677T polymorphism.

**Biology Research Laboratory of Molecular Genetics Faculty of Medicine
UniversitConstantine3.**

ملخص

5,10 اختزال الميثيلين تتراهيدروفولات (MTHFR) هو إنزيم أساسي في عملية التمثيل الغذائي لحمض الفوليك. وهو يحفز تحويل لا رجعة فيه من 5,10 الميثيلين تتراهيدروفولات إلى 5-ميثيل تتراهيدروفولات، أحد أبرز المانحين الكربون الركيزة لإعادة مثيلة الحمض الاميني. نشاط MTHFR يختلف الأشكال من الجينو الانزيم والمتحصلات الغذائية من حمض الفوليك. قد قلل من تعدد الأشكال C677T من الانزيم MTHFR الذي يولد عطوب بنحو 75٪ عند 37 درجة مئوية في النشاط الدولة متماثل. يبدو أن تتداخل مع الظواهر التسرطن عن طريق الحد من مستويات الحامض النووي صنع غير مستقرة والسيطرة على تركيب الحمض النووي. تعدد الأشكال C677T هو واحد والتي كانت موضوع العديد من الدراسات في سياق سرطانات الجهاز الهضمي.

ترددات الوراثة C677T من MTHFR تختلف اختلافا كبيرا بين المجموعات العرقية المختلفة. لدينا نتائج مماثلة لتلك في بلدان البحر الأبيض المتوسط أظهرت نسب الأرجحية لمرضانا أن الناقلين من النمط الجيني T677T أظهرت عدم وجود علاقة كبيرة مع سرطان المعدة، مما يشير إلى أن حاملي T / T وراثي ليس لديهم استعداد لتطوير هذا المرض بالمقارنة مع النمط الجيني C/C .

دور تعدد الأشكال MTHFR C677T في نشأة سرطان المعدة هو المثير للجدل. نتائجنا تتفق مع الدراسات التي تقول أن T / T الوراثة لم يترافق مع سرطان المعدة. وقد أبرزت العديد من الدراسات الوبائية على الدور الهام لل MTHFR في التسرطن. رابطة طفرة C677T من MTHFR مع خطر الإصابة بسرطان المعدة لا تزال غير واضحة بسبب نتائج متباينة جدا في دراسات مستقلة بين الجماعات العرقية المختلفة الحامض النووي يلعب دورا هاما في تنظيم التعبير الجيني، وكذلك في الحفاظ على السلامة الهيكلية للجينوم، ويرتبط مثيلة الشاذة مع الأمراض المختلفة ومنها سرطان المعدة.

كلمات البحث: سرطان المعدة، MTHFR، C677T تعدد الأشكال

مختبر أبحاث البيولوجيا الجزيئية علم الوراثة بكلية الطب جامعة قسنطينة 3

Noms : Béchara Asma.

Année universitaire : 2014/2015.

Djeghader Wassila.

Le polymorphisme C677T de la méthylène tétrahydrofolate réductase et risque de cancer gastrique.

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master en Génétique Moléculaire.

Résumé :

La 5,10 méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR) est une enzyme clé du métabolisme des folates. Elle catalyse de façon irréversible la conversion du 5,10 méthylène tétrahydrofolate en 5 méthyl tétrahydrofolate, un substrat clé donneur de carbone pour la reméthylation de l'homocystéine. L'activité de la MTHFR varie selon les polymorphismes du gène de l'enzyme et de l'apport alimentaire en folates.

Le polymorphisme C677T de la MTHFR génère une enzyme thermolabile qui possède une activité réduite d'environ 75% à 37 °C à l'état homozygote. Il semble interférer avec les phénomènes de la carcinogenèse en diminuant le taux de méthylation de l'ADN le rendant instable et en contrôlant la synthèse de l'ADN. Ce polymorphisme C677T est celui qui a fait l'objet du grand nombre d'étude dans le cadre des cancers digestifs.

Les fréquences génotypiques du polymorphisme C677T de la MTHFR des témoins sont très variables selon les différents groupes ethniques. Nos résultats concordent avec ceux des pays de la méditerranée.

Les odds ratios calculés de nos patients ont montré que les porteurs du génotype T677T ne présentaient pas d'association significative avec le cancer gastrique suggérant que les sujets ayants un génotype T/T ne sont pas prédisposés à développer cette maladie par rapport aux porteurs du génotype C/C.

Le rôle du polymorphisme C677T de la MTHFR dans la genèse du cancer gastrique est controversé. Nos résultats sont en accord avec les études qui disent que le génotype T/T n'est pas associé au cancer gastrique.

De nombreuses études épidémiologiques ont mis en évidence le rôle important de la MTHFR dans la carcinogenèse. L'association de la mutation C677T de la MTHFR avec le risque de cancer gastrique reste obscure en raison des résultats très contradictoires dans des études indépendantes entre diverses ethnies.

La méthylation de l'ADN joue un rôle important dans la régulation épigénétique de l'expression des gènes, ainsi que dans le maintien de l'intégrité structurelle du génome, une méthylation aberrante est associée à diverses maladies dont le cancer gastrique.

Mots clés : Cancer gastrique, MTHFR, polymorphisme C677T.

Laboratoire de recherche de biologie et de génétique moléculaire faculté de Médecine université Constantine 3.

Jury d'évaluation : Président du jury : DR REZGOUNE. D (MC.B université Constantine 1).

Rapporteur : K.SIFI (MCA Faculté de médecine université Constantine 3).

Examineurs : Mme ZIADA. H (MA.A université Constantine 1).

Date de la soutenance: 01/07/2015.