

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



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

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Génétique Moléculaire*

Intitulé :

Polymorphisme C677T du gène de la MTHFR
et risque de cancer du sein

Présenté et soutenu par : CHELGHOUM Dounia Zed
CHELGHOUM Amina

Le :01 /07/2015

Jury d'évaluation :

Président du jury	SATTA Dalila	Professeur	Université Constantine1
Rapporteur	BOUDAOU D Khadidja	MCA H.U	Université Constantine 3
Co encadreur	BOUCENNA Amira	Doctorante	Université Constantine1.
Examineurs :	TALEB Saloua	MA H.U	Université Constantine3.

Année universitaire
2014 - 2015

Remerciement

Nous aimerons tous d'abord à remercier notre dieu ALLAH qui nous a donné du courage et de volonté pour réaliser ce modeste travail.

La première personne que nous tenons à remercier est notre encadreur le Professeur **Boudaoud Khadidja** Onco-radiothérapeute au CHUC, pour l'orientation, la confiance, la patience, qui ont constitués un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port qui nous a dirigé dans l'élaboration de ce mémoire.

Nos vifs remerciements vont également à madame le professeur **Satta Dalila** responsable de la filière de la génétique moléculaire à l'université Constantine 1, nous sommes très honorées de vous avoir comme présidente du jury. Nous avons eu le grand plaisir de travailler sous votre direction ,et avons trouvé auprès de vous le conseiller et le guide qui nous a reçus en toute circonstance avec sympathie, sourire et bienveillance.

On tient à remercier notre Co-encadreur Mademoiselle **Boucenna Amira** qui nous a vraiment aidé, merci infiniment pour votre gentillesse et encouragement !

Nous tenons aussi à remercier vivement Monsieur **Rezgoune Mohamed Larbi** pour son précieux aide et sa grande gentillesse tout le long de notre parcours

Nous témoignons notre reconnaissance et notre gratitude aux :

Professeur **Filali, T**, chef de service d'oncologie médicale, CHUC qui nous a accueilli dans son service, nous laissant le libre accès aux dossiers, aux registres des archives patients et il nous a facilité le contact avec les patients .

Professeur **Abadi. N**, Directeur de laboratoire de recherche de biologie et génétique moléculaire de la FMUC3 de nous avoir accueilli au sein de son laboratoire

Docteur **Taleb. S** d'avoir accepter d'examiner notre travail.

Le personnel para médical et en particulier Mr **Aissa** infirmier au service d'oncologie radiothérapie pour son aide et son soutien

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tout les professeurs qui nous ont enseigné et qui par leurs compétences nous ont soutenu dans la poursuite de nos études. Enfin, on remercie tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à ceux qui m'ont donnés la vie, le symbole de tendresse ,qui se sont sacrifiés pour mon bonheur et ma réussite .

A mon adorable mère, à celle qui est toujours présente et continue de l'être pour faire mon bonheur.

Je sais bien maman, les larmes on les verse tout le temps, les moments de faiblesse on en a toujours, mais toi à chaque fois que je te regarde, j'observe la femme battante. Celle qui a du courage, Celle qui est dure mais celle qui est tout de même toujours, tendre, sensuelle. J'admise ta personne.

Je t'aime et je t'aimerai pour toujours !

Merci de remplir ma vie de joie et de bonheur

A mon père Ali, à l'homme que j'aime, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est sacrifié toute sa vie pour me voir réussir. Sans toi ce jour n'aurait pas existé !

Merci tout simplement d'être ...mon père

A mes chers frères : Walid ; Khaled ; Ismail ; Azzedine

A ma belle sœur : Meriem

A mon oncle et mon deuxième père Salah, sa femme et ma deuxième mère Fatiha

A mon oncle Fatah, sa femme et ma troisième mère Hafida

A mes oncles : Hassan ; Djamel ; Kamel ; Slimene ; Abd el Kader ; Ahmed et toutes mes tantes et ses enfants .

A mes chers cousins : Illyés ; Malek ; Zinou ; Chamsou ; Khalil ; Adib ; Bidjed ; Foufou ; Lamine et Oussama.

A mes chères cousines : Amina ; Soumia ; Rania ; Achwak ; Nedjla ; maram Djouhaina ; Roudaina ; chaïma ; Khawla ; Tasnim et Salsabil.

A ma chère amie et mon soutien de toujours : Bouchra

A mes amies : Nour ; Imen ; Rima ; Abir ; Khadidja ; Ibtissem ; Meriem ; Houda ; Oumaima ; Amira et tous mes amis avec lesquels j'ai partagé mes moments de joie et de bonheur.

A tous mes collègues de la promotion

A toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à l'accomplissement de ce travail sans oublier les malades et les cas témoins.



Dounia Zed

Dédicace

Je dédie ce modeste travail qui n'aurait pu voir le jour sans leur soutien

A ma très chère mère :

Affable, honorable, aimable : vous représentez pour moi le symbole de la bonté par excellence la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études,

Que Dieu vous donne longue vie et vous protège pour moi.

A mon chère père :

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous.

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail et le fruit de vos sacrifices que vous avez consentis pour que je sois la meilleure.

A mes chers frères :

Aux personnes de mon cœur, mes compagnons de la vie, mes frères Ilyes, Abd elmelek et ma sœur Nedjla, les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour que je leur témoigne.

A ma cousine (binôme) :

Dounia zed pour les bons moments passés ensemble, merci à vous que Dieu te protège.

A ma famille :

A mes oncles et tantes paternel et maternel

A mes grands-pères avec une pensée particulière pour les défunts j'implore Dieu de les accueillir dans son vaste paradis.

A ma grande mère Fatima et Daloula Que Dieu vous donne longue vie et vous protège

A mes chères cousines : Soumia, Khawla, Rawen, Ines, Nesrine, Riteje, Ghada, Rania, Achwak, Manel, Roudaina, Chaima.

A mes chères amies :

Oumaima, Soumia, Khadija, Amira pour notre sincère et profonde amitié et des moments agréables passés ensemble.



Amina

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableau

Introduction.....1

CHAPITRE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. RAPPELS

1. Anatomie de la glande mammaire.....2
2. Histologie de la glande mammaire.....2
3. Physiologie de la glande mammaire.....3

II. CACERS DU SEIN

1. **Epidémiologie**.....4
 - 1.1 . Epidémiologie descriptive.....4
 - 1.2. Épidémiologie analytique.....5
2. **Aspect anatomopathologique**.....6
3. **Aspect clinique**.....7
4. **Classifications du cancer du sein**.....9
 - 4.1. Classification clinique.....9
 - 4.2. Classification Radiologique.....11
 - 4.3. Classification anatomopathologique.....12
 - 4.4. Classification moléculaire.....13
5. **Histoire naturelle du cancer du sien**.....14
 - 5.1. Evolution naturelle du cancer du sein.....14
 - 5.2. Oncogenèse du cancer du sein.....17
 - 5.3. Forme sporadique et héréditaire.....19

III. METHYLENETETRAHYDROPHOLATE REDUCTASE (MTHFR)

1. Gène de la MTHFR : Localisation et structure du gène MTHFR.....21
2. Transcription du gène MTHFR.....22
3. Protéine MTHFR.....22
4. Les polymorphismes de MTHFR.....24
5. Le polymorphisme du gène MTHFR et cancer.....25

CHPITRE 2 : ETUDE PRATIQUE

I. TYPE DE L'ETUDE	27
II. METHODOLOGIE	27
1. Recrutement des individus	27
Population malade.....	27
Population témoins.....	28
2. Prélèvement sanguin	28
3. Etude moléculaire	29
Extraction d'ADN.....	29
Génotypage de la MTHFR.....	30
Amplification par PCR.....	30
Digestion des produits de PCR.....	32
Electrophorèse.....	32
4. Analyse statistique	33

CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DISCUSSION

I. RESULTATS	34
1. Caractéristique épidémiologique.....	34
2. Caractéristique du polymorphisme C677T de la MTHFR.....	39
II. DISCUSSION	43

CONCLUION

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

ANNEXES

Liste des Abréviations

La liste des abréviations

- ACR** : American College Of Radiologie
- AND**: Acide désoxyribonucléique
- ADNc**: Acide désoxyribonucléique complémentaire
- ARNm**: Acide ribonucléique messenger
- ATM** : Ataxie-téléangiectasie
- BBT** : Bleu de Bromophénol
- BET** : Bromure d'ETHidium
- BRCA1** : BREast Cancer 1 :gène 1 du cancer du sein
- BRCA2** :BREast Cancer 2 :gène 1 du cancer du sein
- BSA** : Bovine Serum Albumine
- CHEK2** : CHK2 check point homolog (S.pombe)
- CCI** : Carcinome Canalaire Infiltrant
- CCIS** : Carcinome Canalaire In Situ
- CIS** : Cancer Canalaire In Situ
- CLI** : Carcinome Lobulaire Infiltrant
- CLIS** : Carcinome Lobulaire In Situ
- c-Myc** :Cellular myelocytomatosis oncogene
- dél** : délétion
- DTMP** : Désoxythymidinemonophosphate
- EDTA** : Ethylen-Diamine -Tetra-acetic Acid
- EGFR**: Epidermal growth factor receptor
- FAD**: Flavin Adenine Dinucleotide
- H2O** : Peroxide Hydrogène
- HER2**: Human Epidermal Growth Factor Receptor 2
- Hinfl**:Haemophilusinfluenzae
- HLA**: Human leucocyte antigen

Liste des Abréviation

Ins: Insertion

INSP: Institut National de la Santé Publique

IRM : Imagerie par résonance magnétique

Kb : Kilo base

MTHFR : Méthylène-tétrahydrofolate réductase

NaCl : Chlorure de Sodium

NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate

OR : Odds Ratio

P : bras court

p53 : Protein 53

Pb : Paire de base

PCR/RFLP : Polymérase Chaîne Reaction/ restriction fragment length polymorphism

PK : Proteine kinase

PTEN : Phosphatase and TEN sin homolog

SAM : S-Adénosyl-Méthionine

SBR: Scarff Bloom Richardson

SDS: Sodium dodécyle sulfate

TBE: Tris Borate EDTA

THF: tetrahydrofolate

TMA: Tissu-micro-array

TNM: Tumeur ,Ganglion(Node),Métastase

Ts: Thymidylate synthase

UV: ultras Violets

Liste des figures

Liste des figures

<i>Figure 1</i> : anatomie de la glande mammaire	2
<i>Figure 2</i> : représentation schématique d'un acinus mammaire (alvéole).....	3
<i>Figure 3</i> : Répartition du taux d'incidence standardisé du cancer du sein dans le monde	4
<i>Figure 4</i> : les étapes de la carcinogénèse	16
<i>Figure 5</i> : les gènes impliqués dans le cancer du sein	19
<i>Figure 6</i> : Localisation du gène de la MTHFR au niveau du premier chromosome Humain	21
<i>Figure 7</i> : Les différents transcrits du gène MTHFR	22
<i>Figure 8</i> : Fonction de la protéine MTHFR.....	24
<i>Figure 9</i> : Profil électrophorétique sur gel d'agarose des fragments obtenus après digestion du produit de PCR du gène de la MTHFR par Hinf 1.....	33
<i>Figure10</i> : répartition des patientes et témoins selon l'âge	35
<i>Figure 11</i> : répartition des patientes selon l'âge de ménarche.....	35
<i>Figure 12</i> : Répartition des patientes selon le nombre d'enfants.....	36
<i>Figure 13</i> : Répartition des patientes selon l'âge de la première grossesse.....	37
<i>Figure 14</i> : Répartition des patientes selon les antécédents familiaux de cancer...38	
<i>Figure15</i> : Répartition des patientes selon la localisation de la tumeur.....	38
<i>Figure 16</i> : Répartition des patientes selon le type histologique.....	39
<i>Figure17</i> : Répartition des différents génotypes de la MTHFR pour les patients et les témoins.....	41
<i>Figure18</i> : Répartition des différents génotypes de la MTHFR pour les patients témoins.....	42

Liste des tableaux

Liste des tableaux

<i>Tableau 1</i> : Classification TNM de l'UICC ,2002 (Singletary et al,2002).....	10
<i>Tableau 2</i> : Groupement par stades du cancer du sein (Broeders et al .2000).....	11
<i>Tableau 3</i> : classification radiologique du cancer du sein	13
<i>Tableau 4</i> : Tableau de contingence.....	33
<i>Tableau 5</i> : Répartition de la population (cas / témoins) selon l'âge.....	34
<i>Tableau 6</i> : Répartition des patientes selon l'âge de la ménarche.....	35
<i>Tableau 7</i> : Répartition des patientes selon le nombre d'enfants.....	36
<i>Tableau 8</i> : Répartition des patientes selon l'âge de la première grossesse.....	37
<i>Tableau 9</i> : Répartition des patientes selon les antécédents familiaux de cancer.....	37
<i>Tableau 10</i> : Répartition des patientes selon la localisation de la tumeur	38
<i>Tableau 11</i> : Répartition des patientes selon le type histologique.....	39
<i>Tableau 12</i> : Fréquence génotypique du polymorphisme C677T de la MTHFR.....	41
<i>Tableau13</i> : Fréquence alléliques de la MTHFR dans la population malades et Témoins	42
<i>Tableau 14</i> : Fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme C677T de la MTHFR chez la population témoin et chez les patients.....	43

Introduction

Introduction

Le cancer du sein est le premier cancer de la femme. Malgré les progrès thérapeutiques récents, il demeure la première cause de mortalité par cancer chez la femme. Cette affection est liée à une série de facteurs de risque impliquant les facteurs environnementaux, l'âge, les facteurs hormonaux et les facteurs génétiques.

L'invasion est le principal signe de malignité d'une tumeur qui déborde de son siège d'origine pour s'étendre dans les tissus voisins et éventuellement à distance, formant des métastases. Ce caractère infiltrant traduit la perte des propriétés habituelles d'une cellule pour en acquérir de nouvelle. [1]

Cependant les travaux réalisés ces vingt dernières années en biologie moléculaire du cancer du sein ont permis d'identifier un grand nombre d'acteurs moléculaires participant aux grandes fonctions qui définissent le phénotype cancéreux. [2]

Plusieurs études épidémiologiques ont montré que la déficience en folates peut provoquer des lésions de l'ADN conduisant à une instabilité génétique et l'augmentation du risque de plusieurs cancers, notamment le cancer du sein où l'intérêt pour l'enzyme de la MTHFR fortement impliquées dans son métabolisme.

La 5' 10- Méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR), est une enzyme importante qui catalyse, de façon irréversible la conversion de 5,10-méthylène tétrahydrofolate en 5-méthylène tétrahydrofolate, un substrat clé donneur de folate et de carbone pour la reméthylation de l'homocystéine en méthionine.

La MTHFR équilibre le taux des coenzymes foliques dans le métabolisme d'un-carbone pour la synthèse d'ADN et sa méthylation, toutes les deux sont impliquées dans la carcinogenèse. Deux variantes communes dans le gène de MTHFR (C677T et A1298C) ont été associées à l'activité enzymatique réduite, faisant de ce fait des polymorphismes de la MTHFR un facteur de prédisposition au cancer.

Les mutations (C677T et A1298C), à l'état homozygote ou hétérozygote est corrélée avec une réduction de 50% de l'activité enzymatique et une augmentation de sa thermolabilité. Les individus homozygotes pour cette mutation ont une élévation très significative de la concentration de l'homocystéine plasmatique, associée à une baisse du taux des folats. [3]

Introduction

Notre travail a pour objectif d'explorer l'association possible entre la variante du gène de la MTHFR C677T, et la survenue du cancer du sein chez les patientes admises au service d'Oncologie médicale du Centre Anticancéreux de Constantine.

Rappels

1- Anatomie de la glande mammaire

Le sein est une glande superficielle plaquée contre le thorax entre la peau au-dessus et le muscle grand pectoral au dessous.

La glande mammaire chez la femme est la plus volumineuse gland cutanée, elle est constitué d'une vingtaine de lobes glandulaires entourés de tissus graisseux. Les lobes glandulaires sont responsables de la sécrétion du lait. Les canaux excréteurs de ces lobes appelés canaux galactophores, débouchent sur le mamelon. Le mamelon est lui-même entouré d'une zone pigmentée qui est l'aréole. La peau de l'aréole est légèrement déformée par les orifices des glandes sébacées, des glands sudoripares et des follicules pileux. Le sein repose sur le muscle pectoral. [4]

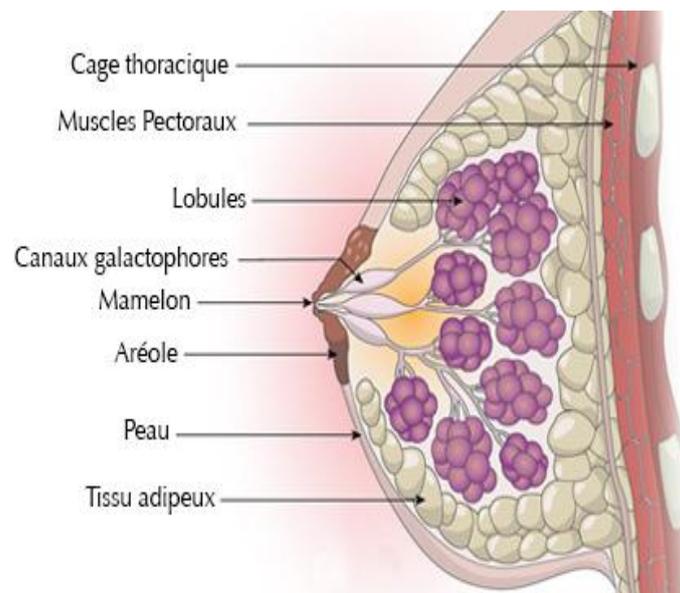


Figure 1: anatomie de la glande mammaire

2- Histologie

Le sein est un cône à base thoracique, dont le sommet est constitué par le mamelon .Il est constitué de 10 à15 canaux galactophorique, s'abouchant par un pore mamelonnaire après une dilatation appelée sinus lactifère.

Les canaux se ramifient en canaux lobulaires, j'jusqu'a l'unité terminale.

Chapitre 1 : Etude bibliographique

L'unité terminale est constituée d'un canalicule extra-lobulaire, qui se continue par un canalicule intra-lobulaire, dans lequel se jettent plusieurs canalicules terminaux ou acini.

La paroi des acini et des canaux est constituée par une couche de cellules épithéliales reposant sur des cellules basales myo-épithéliales à activité contractile.

L'ensemble se dépose sur une membrane basale.

Les acini sont entourés d'un tissu conjonctif (tissu de soutien) lâche, tandis que le tissu conjonctif extra-lobulaire est dense et peu cellulaire. [5]

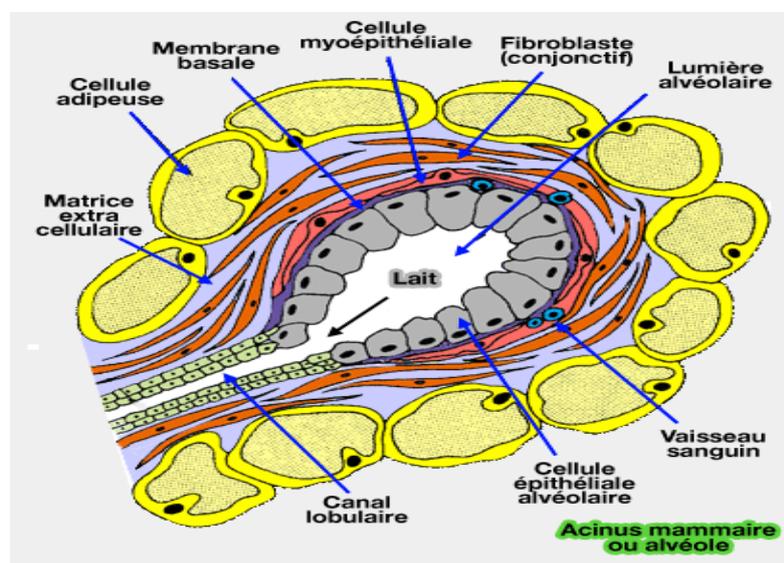


Figure 2 : représentation schématique d'un acinus mammaire (alvéole)

<http://www.vetopsy.fr/reproduction/lactation/images/acinus-mammaire.gif>

3- Physiologie

La principale fonction biologique du sein est la production du lait. Pendant la grossesse, les œstrogènes sécrétés par l'ovaire et la progestérone sécrétée par le corps jaune, puis par le placenta, provoquent le développement des glandes mammaires ainsi que l'élargissement des mamelons. Juste après l'accouchement les seins produisent un liquide, le colostrum. Celui-ci fait place au lait maternel, au bout de 3

Chapitre 1 : Etude bibliographique

jours ,sous l'influence de prolactine. Outre sa fonction alimentaire, le sein féminin a un rôle esthétique et sexuel.

L'érection du mamelon est une des premières manifestations de l'excitation sexuelle, suivie d'une turgescence de l'aréole. [6]

I- Cancer du sein

1- Épidémiologie

1-1- EPIDEMIOLOGIE DESCRIPTIVE :

1-1-1 dans le monde :

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS , décembre 2012) 1,7 million de femmes ont un diagnostic de cancer du sein chaque année et en 2012, 6,3 millions de femmes vivaient avec un cancer du sein diagnostiqué au cours des cinq années précédentes. Depuis les dernières estimations pour 2008, l'incidence a augmenté de plus de 20%, et la mortalité de 14%. Il représente la première cause de mortalité par cancer chez la femme.

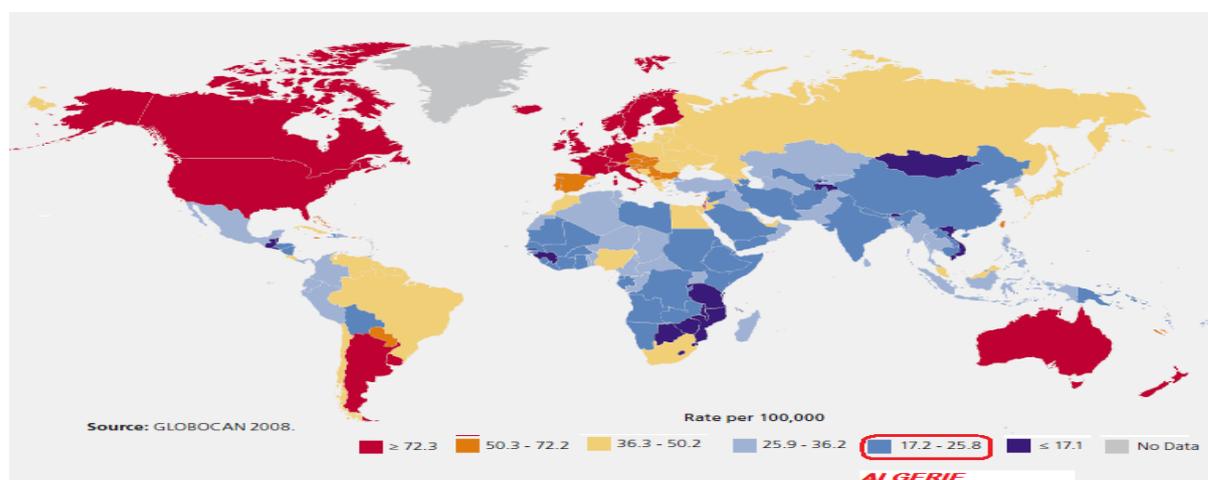


Figure 3 : Répartition du taux d'incidence standardisé du cancer du sein dans le monde

1-1-2 En Algérie :

Selon l'enquête nationale sur l'incidence et la prévalence des cancers qui a été réalisée par INSP en 2002, environ 4541 cas de cancer du sein sont enregistrés, il représente le premier cancer de la femme (29,5%) . [7]

1-2- EPIDEMIOLOGIE ANALYTIQUE :

De nombreuses études épidémiologiques prospectives sur l'incidence de ce cancer ont été menées à travers le monde, permettant d'identifier certains facteurs de risque :

- **Sexe:** Le sexe féminin constitue le principal facteur de risque, plus de 99% des cas se manifestent chez les femmes. [8]
- **Âge:** Le risque augmente avec l'âge; environ trois quarts des cas sont décelés chez les femmes âgées de plus de 50 ans. [8]
- **Facteurs liés à la vie reproductive de la femme:** La nulléparité, une ménarche précoce (avant l'âge de 11-12 ans), une première grossesse tardive (après l'âge de 30 ans), une ménopause tardive (après l'âge de 55 ans) ont un impact important sur l'incidence de ce cancer. [8]
- **Antécédents familiaux:** Le risque est augmenté si des proches de la famille au premier degré (la mère et/ou une sœur) ont contracté la maladie surtout en période préménopausale. [8]
- **Antécédents personnels:** La présence d'un cancer de l'ovaire, de l'endomètre, et du sein ou de lésions histologiques «à risque» découvertes lors d'un prélèvement biopsique (hyperplasie canalaire atypique, néoplasie lobulaire in situ,...). [8]
- **Antécédents génétiques:** Environ 5 à 10% des cas sont dus à une mutation génétique, hériter un des gènes mutés liés au cancer du sein augmente considérablement le risque d'en être atteint. [8]
- **Obésité :** Les femmes ayant un surpoids à l'âge adulte, présentent après la ménopause un risque de cancer du sein de 18%, probablement en raison de l'augmentation des concentrations sériques d'œstradiols libre. [8]
- **Consommation excessive d'alcool:** Les femmes concernées par une telle consommation ont un risque plus élevé (7%) pour une consommation moyenne d'une boisson alcoolique par jour. Les femmes ayant un cancer du sein et consommant au moins une boisson alcoolique par jour, ont une durée de survie diminuée de 15% à 40%, comparativement à celles qui ne boivent pas d'alcool. [8]
- **Consommation du tabac :** Pourtant la cigarette avait un effet protecteur dans le cancer du sein dû à l'effet anti-ostrogénique de la dioxane qui lui a contenu

Chapitre 1 : Etude bibliographique

cependant la fumée de celle-ci est une importante source de substances carcinogènes et le tabagisme passif semble associé à un risque augmenté d'environ 60%, ce risque est multiplié par trois chez les femmes après la ménopause . [8]

- **Traitement hormonal substitutif:** Les traitements à base à la fois d'œstrogènes et de progestatifs constituent un facteur de haut risque. [8]
- **Exposition aux radiations ionisantes:** L'exposition à ces radiations ionisantes avant l'âge de 40 ans est susceptible de provoquer un cancer du sein dans les années ultérieures, issue de l'endommagement de l'ADN est ses constituants par ces radiations. [8]
- **Hormones endogènes:** Le cancer du sein est une maladie hormono-dépendante. Les hormones sexuelles conditionnent le développement de la glande mammaire, les œstrogènes en particulier jouent un rôle de régulation, elles stimulent par ailleurs la prolifération cancéreuse. L'exposition totale et cumulative du tissu mammaire à ces hormones reste le facteur le plus important dans la survenue de cette pathologie. [8]

2- Aspect anatomopathologique

Le sein est composé de cellules qui s'organisent en canaux galactophores et en lobules. Ces deux éléments sont séparés du tissu de soutien (le tissu conjonctif) par une membrane dite basale [9].et on distingue les :

✓ ***Cancer canalaire in situ (cis) ou carcinome intracanalair*** :

-c'est une prolifération épithéliale maligne à l'intérieur des canaux galactophoriques.

-Il n'y a pas de franchissement de la membrane basale, donc pas de risque d'envahissement ganglionnaire.

-Les CIS se traduisent le plus souvent radiologiquement sous forme de microcalcifications .

-Une atteinte multifocale est possible pouvant aller jusqu'à l'atteinte de l'ensemble de la glande mammaire.

✓ ***Adénocarcinome canalaire (ou galactophorique infiltrant)*** :

Chapitre 1 : Etude bibliographique

C'est le type anatomopathologique le plus fréquent : prolifération maligne d'origine épithéliale, franchissant la membrane basale, et envahissant le tissu conjonctif. Il existe donc un risque d'envahissement ganglionnaire et de métastases.

✓ *Adénocarcinome lobulaire infiltrant :*

Ce type est rencontré plus rarement : cancers souvent bilatéraux et /ou multicentriques.

✓ *Formes plus rares :*

-carcinome mucineux, carcinome médullaire , papillaire , tubuleux....

-Sarcome, lymphes malins.

3- Aspect clinique

3-1 Dépistage :

Dépistage du cancer du sein se réfère à l'essai des femmes ailleurs en bonne santé pour le cancer du sein dans une tentative de parvenir à un diagnostic plus précoce. L'hypothèse est que la détection précoce améliore les résultats. Un certain nombre de tests de dépistage ont été utilisées, notamment : examen clinique des seins, la mammographie, le dépistage génétique, l'échographie et l'imagerie par résonance magnétique. [10] [11]

3-2 Diagnostic :

Un cancer du sein est découvert soit à l'occasion d'un examen systématique par le gynécologue, soit par la patiente elle-même par autopalpation du sein. Le diagnostic est confirmé par une mammographie et éventuellement une échographie mammaire, et par une ponction du kyste ou du nodule (biopsie), dont le liquide ou les cellules sont examinés au microscope afin de rechercher des cellules tumorales. [12]

Les étapes de diagnostic du cancer du sein :

1. **Interrogation** : il précise :

- L'âge, la profession, le statut familial

Chapitre 1 : Etude bibliographique

- Les antécédents médico-chirurgicaux et gynéco-obstétricaux (facteurs de risque, ménopause, traitement hormonal, antécédent d'irradiation....)
- Les antécédents familiaux du cancer du sein
- Début d'apparition des signes, évolution
- Existence de signes fonctionnels associés : douleurs mammaire, écoulements, douleurs osseuses, s'il existe d'anciens clichés de mammographie ou des échographies. [13]

2. Examen clinique :

L'examen clinique doit être mené avec patience et douceur. Chez la femme jeune, il est préférable d'examiner le sein dans la première partie du cycle. L'examen clinique doit comprendre :

- **Inspection** : recherche surtout une anomalie de la forme du sein, une modification de la coloration de la peau, une anomalie au niveau du mamelon. L'examen clinique est réalisé d'abord bras pendants le long du corps
- **Palpation** : examen clinique de chaque sein quadrant par quadrant. La recherche dans la position dans la quelle la patiente a perçu l'anomalie peut être d'une grande utilité. [13]

3. Bilan par imagerie :

- ✓ **Mammographie** : Elle peut être demandée, devant la présence d'une tuméfaction mammaire retrouvée à la palpation. Plus généralement, à partir de 50 ans, il est conseillé de faire une mammographie tous les deux ans , cet examen radiologique permet de confirmer ou non la présence de la tumeur palpée, elle peut aussi orienter le diagnostic vers la nature bénigne ou cancéreuse de la tumeur. Une mammographie détecte des anomalies sont parfois détectées même si l'examen clinique est normal. si une anomalie est découverte, le médecin prescrit des examens complémentaires (mammographie complémentaire, échographie, ponction et éventuellement biopsie) afin de confirmer ou d'éliminer le diagnostic de cancer. [13]
- ✓ **L'échographie** : Quand la mammographie ne suffit pas pour établir un diagnostic fiable, elle est complétée par une échographie. Si la mammographie donne sa pleine mesure avec les seins graisseux des femmes ménopausées, l'échographie est capable de repérer, dans les seins très denses des femmes plus

Chapitre 1 : Etude bibliographique

jeunes, des lésions qui peuvent échapper à la mammographie. En effet, un certain nombre de cancer du sein n'ont pas de traduction mammographique et ne sont visibles qu'en échographie (l'inverse étant également vrai)

- ✓ **Scanner** : on l'utilise essentiellement pour recherche d'éventuelles métastases au niveau de l'os, du foie, du poumon ou du cerveau, ainsi que pour évaluer l'efficacité du traitement sur ces lésions.
- ✓ **IRM (imagerie par résonance magnétique)** : L'IRM précise les informations obtenues à l'aide de la mammographie et de l'échographie. En raison de son coût, elle est surtout utilisée pour le dépistage de patientes ayant une mutation des gènes BRCA1 ou BRCA2. Elle est toutefois de plus en plus utilisée dans le bilan d'extension du cancer du sein. Son usage est également devenu quasiment systématique pour préparer l'opération chirurgicale.

4. Conseil génétique :

Dans certains pays, toute femme le souhaitant peut bénéficier d'une consultation génétique. La prévalence de la mutation BRCA1 ou BRCA2 est supérieure à 25% on propose à ces patientes un diagnostic moléculaire. Ce diagnostic est particulièrement prédictive si on connaît la mutation chez un parent déjà atteint d'un cancer du sein à prédisposition génétique. [14]

4- Classification du cancer du sein

4-1 La classification clinique (TNM) :

La classification TNM est basée sur le principe de l'extension anatomique déterminé par la clinique et l'histologie. A la base du système T (tumeur), N (nœuds), M (métastases) il y a l'idée de coder l'extension locale, régionale ou générale.

D'une façon générale, à ces trois lettres sont associés des chiffres (dont la valeur augmente en fonction de la gravité) qui varie de 0 à 4 pour le T, de 0 à 3 pour le N, et soit 0 soit 1 pour le M. (Tableau 1)

TAILLE DE LA TUMEUR(T)	-Tx : Détermination de la tumeur primitive impossible -T0 : Pas de signe de tumeur primitive (tumeur non palpable) -Tis : Carcinome in situ -T1 : Tumeur ≤ 2 cm dans sa plus grande dimension T1 microinvasion ≤ 0.1 cm dans sa plus grande dimension
------------------------------	---

Chapitre 1 : Etude bibliographique

	<p>T1a Tumeur >0.1 cm et \leq 0.5 cm dans sa plus grande dimension</p> <p>T1b Tumeur > 0.5 et \leq 1 cm dans sa plus grande dimension</p> <p>T1c Tumeur >1 cm et \leq 2 cm dans sa plus grande dimension</p> <p>-T2 : Tumeur > 2 cm et \leq 5 cm dans sa plus grande dimension</p> <p>-T3 : Tumeur >5 cm dans sa plus grande dimension</p> <p>-T4 : Tumeur de toute taille avec extension directe à la paroi thoracique (a) ou à la peau (b)</p> <p>-T4a : Extension à la paroi thoracique</p> <p>-T4b : Extension à la peau</p> <p>-T4c : A la fois 4a et 4b</p> <p>-T4d : Tumeur inflammatoire</p>
ADENOPAT HIES(N) détectées à l'examen clinique ou radiologique	<p>-Nx : Appréciation impossible de l'atteinte ganglionnaire</p> <p>-N0 : Absence de signe d'invasion ganglionnaire régionale</p> <p>-N1 : Ganglions axillaires homolatéraux suspects mobiles</p> <p>-N2 : Ganglions axillaires homolatéraux suspects fixés entre eux ou à d'autres structures ou présence clinique d'adénopathies mammaires internes en l'absence d'adénopathies cliniques axillaires</p> <p style="padding-left: 40px;">N2a Ganglions axillaires homolatéraux fixés</p> <p style="padding-left: 40px;">N2b Ganglions mammaires internes homolatéraux cliniquement apparents sans adénopathies axillaires cliniques</p> <p>-N3 : Ganglions sous-claviculaires homolatéraux ou mammaires internes avec présence d'adénopathies axillaires ou ganglions sus-claviculaires présents</p> <p>-N3a : Ganglions suspects sous-claviculaires et axillaires homolatéraux</p> <p>-N3b Ganglions mammaires internes et ganglions axillaires homolatéraux suspects</p> <p>-N3c : Ganglions sus-claviculaires homolatéraux suspects</p>
METASTAS ES(M)	<p>-Mx : Renseignements insuffisants pour classer les métastases à distance</p> <p>-M0 : Pas de métastases retrouvées</p> <p>-M1 : Métastases (ADP sus-claviculaires incluses)</p>

Tableau 1 : Classification TNM de l'UICC ,2002 : (Singletary et al ,2002)[15]

Chapitre 1 : Etude bibliographique

La juxtaposition de ces 3 lettres chiffrées donne une description abrégée de l'extension de la tumeur maligne

Cela conduit à un grand nombre de possibilités TNM. On peut alors créer des regroupements par **stades** que l'on définit pour qu'ils soient homogènes en durée de survie. Les cancers *in situ* sont toujours de stade 0, les métastatiques de IV. (Tableau 2)

Stade	TNM
0	Tis N0 M0
I	T1 N0 M0
IIA	T0 N1 M0 ; T1 N1 M0 ; T2 N0 M0 ;
IIB	T2 N1 M0 ; T3 N0 M0 T0N2M0;T1N2M0;T2N2M0;T3N1M0;T3 N2 M0
IIIA	T4 N0 M0 ; T4 N1 M0 ; T4 N2 M0
IIIB	Tous T N3 M0
IV	Tous T Tous N M1

Tableau 2 : Groupement par stades du cancer du sein (**Broeders et al .2000**).[16]

4-2- Classification radiologique (ACR)

Cette classification radiologique, permet de décrire l'imagerie du sein (mammographie, mais aussi échographie et IRM) en classant les anomalies en fonction de leur aspect[17], selon le classement ci-dessous : (Tableau 3)

ACR 1	Seins strictement normaux, sans image même bénigne
ACR 2	Seins présentant une/des images 100% rassurantes et identifiables comme bénignes. La surveillance doit alors être standard (tous les deux ans pour une femme sans antécédent, différente si antécédents particuliers).
ACR 3	Présence d'une image d'allure bénigne mais dont la bénignité ne peut être affirmée à 100% (97% seulement).Seule une surveillance pourra affirmer la bénignité sur deux ans. Une biopsie n'est cependant pas nécessaire sauf cas exceptionnels ou si l'image se modifiait. Il est donc proposé un contrôle à 4 mois (images nodulaires) ou 6 mois (micro calcifications).

Chapitre 1 : Etude bibliographique

ACR 4	Présence d'une image suspecte qui peut être une lésion bénigne, précancéreuse, ou même un cancer dans 40% des cas environ. Une cytoponction ou biopsie est nécessaire rapidement pour affirmer le diagnostic de façon certaine.
ACR 5	Présence d'une image très suspecte (97% de cancers). Une biopsie ou cytoponction est nécessaire pour affirmer le diagnostic et guider le geste opératoire.
ACR 0	On ne peut conclure, plus d'éléments sont nécessaires (mammographie insuffisante, pas d'échographie, etc.).

Tableau 3 : classification radiologique du cancer du sein

4-3- Classification anatomopathologique :

Il existe deux types de tumeurs du sein, les tumeurs épithéliales, les plus fréquentes, et les tumeurs non-épithéliales, beaucoup plus rares[18]. (annexe 1)

- Les cancers épithéliaux

▪ Les carcinomes non invasifs ou non infiltrant

Ils représentent 15 à 20 % des cancers du sein. Ce sont les carcinomes canalaire in situ (CCIS) et les carcinomes lobulaires in situ (CLIS), Il s'agit d'une prolifération carcinomateuse qui se développe dans la lumière des canaux et des lobules, sans franchir la membrane basale et sans envahir le tissu conjonctif.

▪ les carcinomes invasifs ou infiltrant

Dont les cellules tumorales envahissent le tissu conjonctif, générant alors un risque de métastases locorégionales ou à distance. Les plus fréquents sont les Carcinomes canalaire infiltrant : ils représentent 80% des carcinomes infiltrant.

▪ La maladie de Paget

Elle représente 1 à 3 % des cancers du sein. Il s'agit d'un adénocarcinome intra-épidermique du mamelon, associé à un adénocarcinome intra- galactophoriques sous jacent dans 82 à 100 % des cas.

- Les cancers inflammatoires

Le cancer du sein inflammatoire représente 1 à 6 % des cancers du sein, mais constitue une forme agressive dont l'évolution est rapide et le pronostic très sévère.

Chapitre 1 : Etude bibliographique

Ce type de tumeurs s'accompagne des métastases à distance lors du diagnostic dans un tiers des cas. [19] [20]

- Les autres tumeurs non épithéliales

Elles sont rares, représentant moins de 1% de toutes les tumeurs malignes du sein. Il s'agit d'une prolifération tumorale maligne issue des autres structures du sein (tissus conjonctifs, graisse, vaisseaux sanguins ou lymphatiques) représentés par:

- les sarcomes phyllades
- les sarcomes mésoenchymateux ou sarcome du stroma,
- les angiosarcomes,
- les lymphomes malins non hodgkiniens primitifs du sein,
- les métastases intra-mammaires d'un autre cancer primitif : mélanome, tumeurs pulmonaires, du tractus digestif, de l'appareil urogénital.

4-4- classifications moléculaires des cancers du sein

Concernant la classification des cancers mammaires, l'approche morphologique est actuellement remise en question par des données issues d'études de micro-arrays sur puces ADN et confirmées par des études sur le profil protéique par immunohistochimie sur tissu micro-arrays (TMA). Les études fondatrices proviennent des travaux de Sorlie et Pérou : utilisant un panel de 5 gènes, Sorlie et al ont analysé les profils d'expression de 115 tumeurs indépendantes du sein et ont classé les tumeurs mammaires en cinq groupes. [21]

❖ Les tumeurs lumineales A et B (2catégorie différentes) :(profil luminal)

Le type le plus fréquent et représente 60 à 70% des carcinome.il correspond à des tumeurs exprimant les récepteurs hormonaux (estrogènes et GATA 3) et dont le phénotype est celui des cellules normalement présentes à la superficie du revêtement canalaire. Elles expriment comme ces dernières la cytokératine 8 ,18 et 14 alors que les réactions à la CK 5/6 et l'HER2 sont négatives.

- ❖ **Des tumeurs dites normal-like** : Représentent 5 à 10% des carcinomes dont le phénotype et est proche de celui du tissu normal et dont le pronostic est intermédiaire

Chapitre 1 : Etude bibliographique

- ❖ **Les tumeurs sur exprimant Her2** (profil Her2) : Représentent 7 à 15% des carcinomes. Il s'agit de tumeurs sur exprimant l'HER 2 mais n'exprimant pas les récepteurs hormonaux.

Leur pronostic est favorable, mais elles sont susceptible de répondre à la fois aux chimiothérapies à base d'anthracycline et de trastuzumab.

- ❖ **Des tumeurs de phénotype basal** (profil basal) : Cette catégorie est caractérisée par un phénotype dit triple négatif, n'exprimant ni les récepteurs hormonaux, ni le Her2. Ce phénotype est par ailleurs proche de celui des cellules situées à la base du revêtement canalaire exprimant la cytokératine 5/6 et la cytokératine 17. Il exprime également fréquemment l'EGFR et le c Kit. C'est le groupe dont le pronostic est le plus défavorable, et qui de plus ne répond pas au deux principales thérapeutiques ciblées actuellement disponible (les traitements hormonaux et le trastuzumab), en revanche ces tumeurs sont susceptibles de répondre aux chimiothérapies à base d'anthracycline et de atxane.

5- Histoire naturelle du cancer du sein

5-1 Evolution naturelle du cancer du sein

Dans la genèse du cancer du sein il est à distingué que la première étape vers la carcinogénèse est l'initiation tumorale et ultérieurement les étapes de progression et d'invasion. La transformation de la cellule mammaire normale à une cellule cancéreuse passe par un processus progressif d'étapes successives faisant intervenir des mécanismes épigénétiques et une instabilité génétique.

5-1-1-Etat pré cancéreux : parallèlement des lésions bénignes ont été décrites qui constitue les étapes successives conduisant au cancer invasif. les états précancéreux sont identifiés par l'étude microscopique des biopsies du sein et ont permis d'individualiser parmi les mastopathies les états précancéreux du cancer du sein. Une hyperplasie simple ou atypique ou augmentation du nombre des assises cellulaires, le cancer in situ de type lobulaire ou canalaire dans lesquels les

Chapitre 1 : Etude bibliographique

cellules ont acquies les aspects morphologiques de la malignité et constituent une prolifération anarchique tout en respectant la membrane basale, et le cancer micro-invasif ou invasif ou la tumeur a perforé la membrane basale permettant à la tumeur de créer une éoangiogénese. [22]

5-1-2-Voie lente et rapide de la carcinogénèse

a- Initiation tumorale :

Sous l'effet d'un facteur cancérigène, il se produit la transformation d'un proto-oncogène en oncogène ou la délétion d'un gène suppresseur de tumeur voir l'inactivation de la protéine qu'il produit, la cause première du cancer du sein qui conduit à l'initiation tumorale est toujours inconnue. Chez l'homme, le rôle des radiations ionisantes a été établi par l'observation des populations soumises à l'explosion de la bombe au Japon et chez les patients ayant eu des radioscopiques itératives dans la surveillance de la tuberculose pulmonaire [23]. Plusieurs gènes ont été incriminés dont le rôle dans la carcinogénèse est en cours de description :

- ❖ Gene HER2 situé sur le chromosome 17 q 21 code pour un récepteur membranaire à activité tyrosine kinase. le gène est amplifié aboutissant à une surexpression de ce dernier dans 20 à 30 % des cancers invasifs et dans 60 à 100 % des cancers in situ.
- ❖ Gene ras une famille de gènes produisant des protéines qui interviennent dans la transduction des signaux intracellulaire. Les mutations des gènes ras ont été observées dans 30 à 80 % des cancers du sein elles pouvaient être impliqués dans la progression des hyperplasies atypiques vers les cancers invasifs
- ❖ L'inactivation des gènes suppresseurs de la tumeur par exemple le gène Rb (rétinoblastome) qui peut bloquer le cycle cellulaire ou contrôler sa progression, situé sur le chromosome 13 q 14 code pour une protéine qui contrôle le cycle cellulaire et code pour la transcription des proto-oncogènes c-fos ou c-myc ce qui détermine l'entrée en phase S du cycle cellulaire. Des délétions du gène Rb ont été découvertes dans presque 10 à 15 % des cancers invasifs du sein.

Chapitre 1 : Etude bibliographique

- ❖ L'inactivation du gène p53 qui contrôle lui aussi l'arrêt du cycle cellulaire en réponse aux dommages causés à l'ADN (acide désoxyribonucléique), un régulateur négatif du cycle cellulaire.
- ❖ Les BRCA qui sont impliquées dans la réparation de l'ADN, l'activation transcriptionnelle d'autres suppresseurs et le contrôle du cycle cellulaire grâce à leur interaction avec d'autres enzymes de réparation

b- Promotion tumorale :

La promotion tumorale est une phase relativement longue (pouvant durer plusieurs années chez l'homme) au cours de laquelle la cellule initiée va proliférer et conduire progressivement au développement d'un clone de cellule mutée. La multiplication cellulaire étant exponentielle, un nombre limité de divisions cellulaires suffit à engendrer un nombre considérable de cellules tumorales. Divers facteurs endogènes (facteurs de croissance et hormones) ou exogènes (toxiques chimiques, facteurs alimentaires, etc.), du fait de leur action répétitive, vont déréguler certains des mécanismes fins qui contrôlent la multiplication cellulaire. [24]

c- Progression tumorale :

Les dommages deviennent de plus en plus nombreux et les cellules cancéreuses évoluent en une tumeur maligne. Selon le type de cancer, les cellules cancéreuses vont migrer plus ou moins précocement vers d'autres organes (grâce au sang ou à la lymphe) pour y créer de nouvelles tumeurs (métastases) [23]

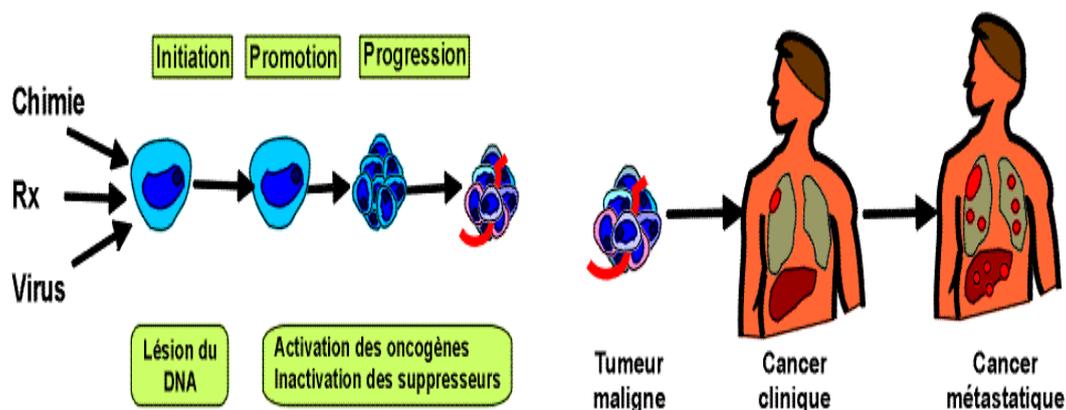


Figure 4 : les étapes de la carcinogénèse

5-2- Oncogenèse du cancer du sein

Le développement et la progression du cancer du sein sont des processus complexes qui impliquent des facteurs hormonaux ainsi que de nombreuses altérations génétiques et épigénétiques. Lors de la cancérogénèse, les cellules épithéliales canalaire ou lobulaire deviennent tumorales. Au cours de la transformation, il y a une perte de la différenciation cellulaire qui entraîne la perte du contrôle de la prolifération. Les cellules cancéreuses forment alors une masse de tissu couramment appelée carcinome in situ. Les cellules acquièrent ensuite la capacité à devenir invasives et à métastaser formant ainsi de nouvelles tumeurs solides en des sites plus ou moins éloignés dans d'autres tissus. Plusieurs gènes sont impliqués :

➤ Le gène BACR1 :

Le gène BACR1 est situé sur le chromosome 17, d'environ 100 kilo bases, codant pour une protéine de 1863 acides aminés. La protéine pour la quelle code le gène BACR1 semble être un gène suppresseur de tumeur impliqué dans de multiple processus cellulaire, incluant le contrôle du cycle cellulaire, le remodelage de la chromatine, la régulation de la transcription, la réparation de l'ADN et l'apoptose, elle jeu un rôle important dans la réparation des cassures double brins d'ADN. [25]

➤ Le gène BACR2 :

Le gène BACR2 est situé sur le chromosome 13. Plus de 100 mutations différentes ont été dénombrées. La protéine pour la quelle code le gène BACR2 maintien de la stabilité génomique par son implication avec BRCA1 dans la réparation des lésions double brin d'ADN.[26]

➤ Le gène TP53 :

Le gène TP53 est localisé sur le chromosome 17p. Les mutations germinales du gène TP53 sont dominantes. La pénétrance de ces mutations est de 50% à 50 ans. Ce gène code pour une phosphoprotéine nucléaire de 53 Kd. Elle a deux rôles principaux : régulateur négatif de la croissance et de la prolifération cellulaire ; réparation des altérations de l'ADN. En cas de modification de la molécule d'ADN, La protéine P53 arrête le cycle cellulaire en phase G1, permettant aux mécanismes de réparations de

Chapitre 1 : Etude bibliographique

l'ADN de se mettre en œuvre avant la duplication de ce dernier. La protéine P53 est aussi un acteur de la mort cellulaire programmée. Une inactivation du gène TP53 permettrait le maintien des modifications de l'ADN et de ce fait un développement à terme, de cellules malignes.[27]

➤ **Le gène PTEN :**

Un autre syndrome rare peut être responsable d'une augmentation du risque de développer un cancer du sein, c'est le syndrome de Cowden, correspondant aux mutations du gène PTEN sur le chromosome 10, gène suppresseur de tumeur intervenant dans la régulation de la croissance cellulaire. Il s'agit aussi de mutations dominantes. Les atteintes concernent la peau, Le seins, La thyroïde, le tube digestif.[28]

➤ **Le gène ATM :**

En 1999, une équipe américaine a mis en évidence une interaction entre deux gènes de l'organisme dont les mutations simultanées pourraient être à l'origine de 10% de tous les cancers du sein. Ces deux gènes sont BRCA1 et ATM est localisé sur le chromosome 11q22-23, il a été caractérisé en 1995. Ses rôles sont divers : il participe aussi bien au contrôle du cycle cellulaire (G1 et G2), à la réparation des cassures double-brins, à la recombinaison au cours de la méiose, qu'à la maturation des gènes d'immunoglobulines.[28]

➤ **Le gène CHEK2 :**

Le gène CHEK2 est un suppresseur de tumeur. Il participe donc à la régulation du cycle cellulaire. La protéine CHEK2 est activée quand des dégâts sont causés à la molécule d'ADN. Cette protéine interagit avec d'autre molécule : l'une codée par un gène suppresseur de tumeur, la protéine P53, pour arrêter le cycle cellulaire en cas de dommages à l'ADN ; l'autre, la protéine codée par BCRA1. L'ensemble de ces protéines commandent soit le déclenchement de la mort cellulaire programmée, soit la réparation de l'ADN. Une mutation du gène CHEH2 peut entraîner une légère augmentation du risque de cancer du sein. [28]

Chapitre 1 : Etude bibliographique

En effet la protéine kinase ATM active elle-même les deux gènes permettent l'arrêt de la division cellulaire grâce à la phosphorylation de la protéine P53 par la protéine CHEK2, à la suite d'un dommage à la molécule d'ADN. [28]

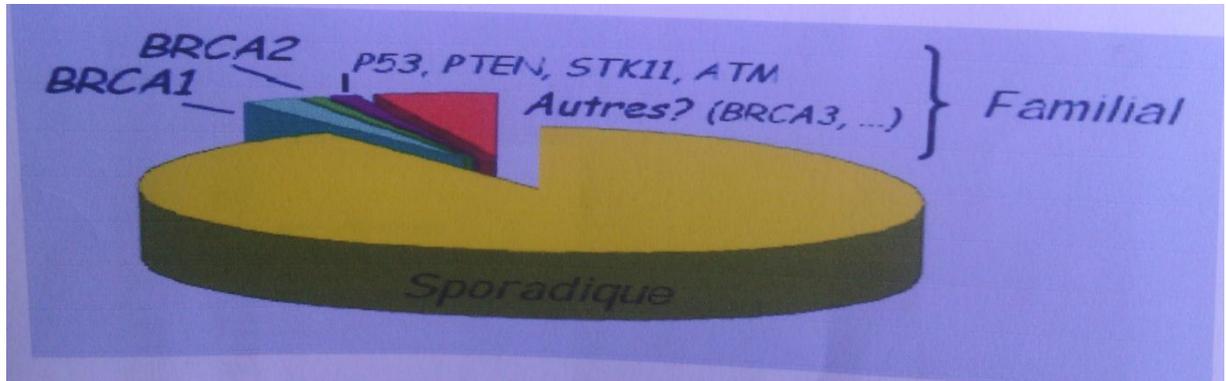


Figure 5: les gènes impliqués dans le cancer du sein

5-3- Forme sporadique et héréditaire

L'origine génétique du cancer du sein est liée aux mutations des gènes BRCA1, BRCA2 dans le cas du cancer du sein familial [29], aux mutations de certains gènes tels que l'anti oncogène p53[30] ou au polymorphisme HLA pour le cancer du sein sporadique [31].

5-3-1- Cancers héréditaire :

Même si la grande majorité des cancers du sein sont des formes sporadiques, on considère que 5 à 10 % des cas représentent des formes héréditaires. La plupart des prédispositions génétiques aux tumeurs mammaires sont liées à des mutations des gènes impliqués dans la surveillance du génome : BRCA1, BRCA2, mais également ATM, CHEK2, PTEN et TP53. Les deux gènes majeurs de prédisposition au cancer du sein ont été localisés puis identifiés en 1994 et 1995 : le gène BRCA1 (BREast CANcer 1) situé sur le chromosome 17q21[32] et le gène BRCA2 (BREast CANcer 2) sur le chromosome 13q12 [33] qui sont à eux seuls responsables de la moitié de ces cancers à prédisposition génétique, soit 2,5 à 5 % de tous les cancers du sein. Ces deux gènes ont un rôle important dans la réparation des lésions de l'ADN et fonctionnent comme des gènes suppresseurs de tumeur. Une mutation délétère constitutionnelle présente sur l'un des deux allèles de BRCA1 ou BRCA2 rend l'individu «prédisposé », mais il est nécessaire que le second allèle soit inactivé

Chapitre 1 : Etude bibliographique

secondairement au niveau d'une cellule somatique pour entraîner la transformation maligne de la cellule [34]. Certaines mutations sont toutefois récurrentes dans des populations spécifiques où il existe des effets fondateurs, comme la population juive ashkénaze (prévalence de 2,5% de trois mutations récurrentes : 185delAG et 5382insC sur BRCA1 et 6174delT sur BRCA2) ou la population islandaise (prévalence de 0,5 % de la mutation 999del5 de BRCA2) [35].

Un 3e gène de prédisposition de forte pénétrance (appelé BRCA3) a été longtemps recherché mais les tentatives pour le mettre en évidence par les études de liaison génétique dans les familles à haut risque ont échoué et il est probable qu'il n'existe pas [36].

Les mutations constitutionnelles des gènes BRCA1/2 se caractérisent par leur grande diversité et leur nature souvent unique pour une famille donnée (à ce jour, plus de 1000 mutations différentes réparties tout le long de chaque gène ont été identifiées) [35].

Le gène p53, suppresseur de tumeur, localisé sur le chromosome 17 en p13.1, code pour une phosphoprotéine nucléaire. Des mutations germinales du gène p53 sont en cause dans de très rares cas familiaux de cancers du sein survenant à des âges très jeunes.

Selon les populations, une personne sur 100 à 2 500 serait porteuse d'une altération constitutionnelle de l'un de ces gènes avec une probabilité de transmission de 50 % à chaque enfant. Dans ce contexte, homme et femme peuvent hériter d'un gène *BRCA1* ou *BRCA2* muté. En revanche, le risque ultérieur de développer un cancer est très différent : majeur chez la femme et globalement peu augmenté chez l'homme.

5-3-2- Cancer sporadique :

Un cancer est sporadique lorsqu'il survient sans prédisposition, c'est à dire "une mutation qui se produit par hasard" et c'est le cas dans la majorité des cancers (90 à 95%). Dans ces cancers, c'est souvent la lignée somatique qui est atteinte et donc les mutations (ou autres évènements) ayant donné lieu à ce cancer ne se transmettront pas à la descendance. Dans les cancers sporadiques, seules les cellules du tissu touché au départ par la tumeur primaire sont porteuses des mutations. Le polymorphisme HLA est corrélé à la survenue de plusieurs types de tumeurs du fait de son rôle clé dans la présentation des antigènes au système immunitaire y compris les cancers du sein

sporadiques. L'efficacité de cette présentation est définie par le type de molécules HLA impliquées. Une combinaison HLA pourrait donc induire une bonne réponse ou un échappement de l'antigène au système immunitaire. Par ailleurs, la diminution du niveau d'expression des molécules HLA I à la surface des cellules tumorales est une modalité d'échappement de ces cellules au système immunitaire, ces molécules déclenchent la cytotoxicité spécifique suite à la présentation des antigènes endogènes aux TCD8+. [37] [38] [39] [40] (**annexe 2**)

II- MTHFR (Méthylène Tétrahydrofolat Réductase)

1- Gène de la MTHFR : Localisation et structure du gène MTHFR

La MTHFR une enzyme clé dans le métabolisme des folates elle catalyse la conversion irréversible du 5,10-méthylènetetrahydrofolate en 5-méthyltetrahydrofolate en utilisant le NADPH (Nicotinamide Adénine Di nucléotide Phosphate H). Elle permet ainsi de maintenir le pool de folates et de méthionine circulants et de prévenir une éventuelle augmentation de la concentration en homocystéine. La MTHFR assure les processus de méthylation de l'ADN, de protéines, de neurotransmetteurs et de phospholipides. En faite la méthylation de l'ADN joue un rôle primordial dans la régulation de l'expression des gènes et le maintien de la stabilité génomique. La MTHFR est également impliquée dans la production de dTMP (désoxy Thymidine Mono-Phosphate) via la synthèse de purines. La MTHFR est donc un élément essentiel à la provision de nucléotides nécessaires à la synthèse d'ADN, sa réparation. Le gène de la *MTHFR* est localisé sur le bras court (p) du chromosome 1 en position 36.3 (1p36.3), Plus précisément dans la région des paires de bases 11.769.246 jusqu'à 11.788.568 du chromosome 1. [41]

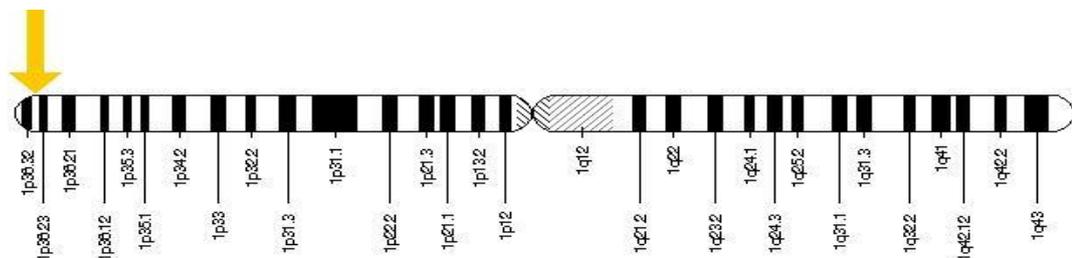


Figure 6 : Localisation du gène de la MTHFR au niveau du premier chromosome humain

Chapitre 1 : Etude bibliographique

L'ADNc de ce gène est de 2.2 kilo de longueur, répartie en 11 exons de taille comprise entre 102 Pb à 432 Pb, chevauché par 10 introns de taille comprise entre 250 Pb à 1.5 kilo base avec une exception d'un intron de 4.2 kb. [42]

2- Transcription du gène MTHFR

La transcription du gène MTHFR produit 4variants du transcrit du gène MTHFR, MTHFR 1qui se compose de deux formes, MTHFR 2 et MTHFR 3 qui diffèrent par leur région 5'. La diversité de ces transcrits (RNAm) du gène est due à l'épissage alternatif au moment de la transcription primaire ou au courant d'épissure (splicing) des 3 premiers exons. Trois polypeptides de 657 acides aminés sont à partir de ces trois variant. [43]

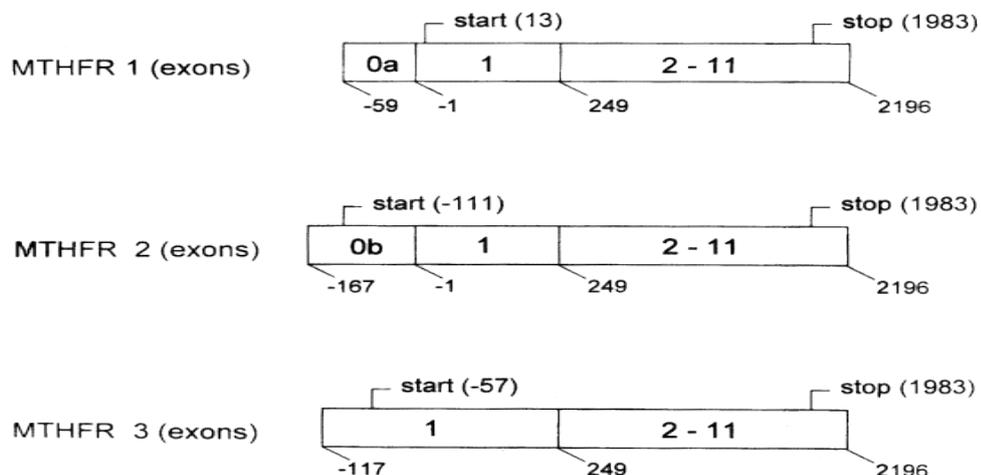


Figure 7 : Les différents transcrits du gène MTHFR

3- Protéine MTHFR :

Chez l'homme, la protéine a deux iso formes. L'un de poids moléculaire de 77 KDa et l'autre de 70 KDa dont la plus petite a été découverte uniquement dans le foie de l'adulte ainsi que dans le foie et les reins fœtaux.

L'expression de l'ADNc humain de 2,2 Kpb donne une protéine de 70 KDa comportant 656 acides aminés. Le site de démarrage de la traduction de l'isoforme de 77 KDa permet l'ajout de codons additionnels en amont de la séquence de l'iso forme de 70 KDa . [41] [44]

Chapitre 1 : Etude bibliographique

3-1- LA structure :

L'enzyme MTHFR est un homo dimère présent dans le cytoplasme de 150 KDa , localisée majoritairement dans la rate , les ganglions lymphatique et la moelle osseuse , son expression est plus intense dans le testicule , intermédiaire dans le cerveau et rein , et inférieure dans d'autres tissus .la MTHFR comprenant deux domaines [45] [46] :

- **Le domaine catalytique :** représenté par l'extrémité N-terminal de poids moléculaire de 40 KDa, liant le di nucléotide adénine flavine (FAD) (cofacteur), le NADPH (donneur d'électrons) et le méthylène tétrahydrofolate.
- **Le domaine de régulation :** à l'extrémité C terminale de poids moléculaire de 37 KDa entre ces deux domaines se trouve une forte région hydrophobe avec une séquence d'acides aminés LYS-Arg-Arg-Glu-Glu constituant un site de clivage par la trypsine.

3-2- La fonction :

La 5,10-méthylène tétrahydrofolate réductase, plus communément appelée MTHFR. C'est une flavoprotéine cytoplasmique qui agit avec le FAD comme cofacteur en catalysant la conversion du (5-CH₃-FH₄), cette conversion est très importante pour la biosynthèse des nucléosides, 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 S- adénosyl méthionine (SAM) est un inhibiteur allostérique et le FAD un coenzyme.

Une activité normale de la protéine MTHFR maintient un pool adéquat en folates circulant 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. [41] [44]

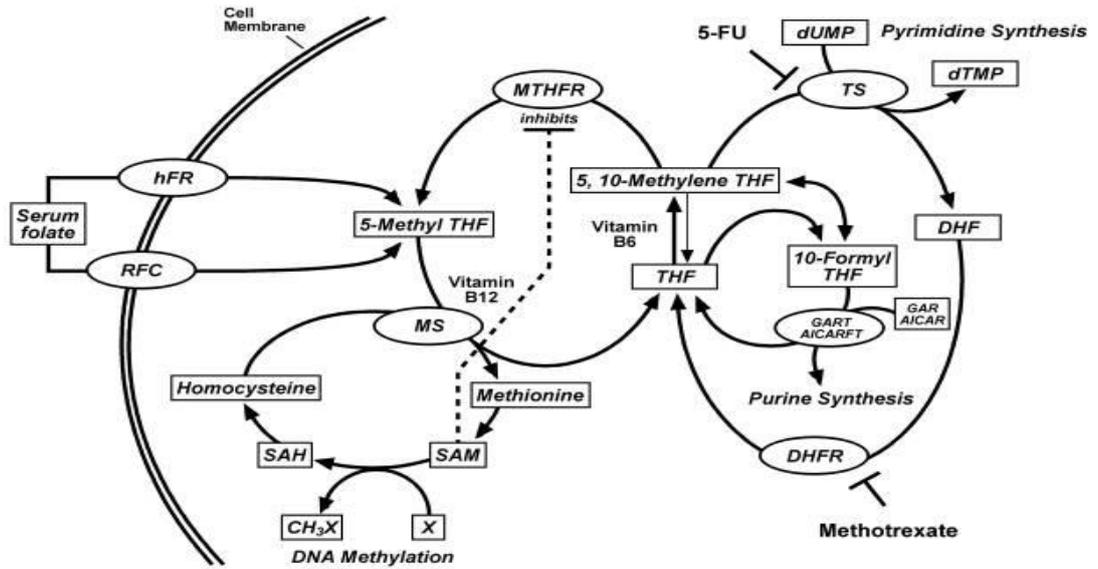


Figure 8 : Fonction de la protéine MTHFR.

4- Les polymorphismes de MTHFR :

Pour le gène codant pour la MTHFR une soixantaine de polymorphismes ont été décrit, les plus commun étant les polymorphismes C677T et C1298A responsables de la synthèse d'une forme thermolabile de la protéine MTHFR. Le variant génétique C677T est associé à des maladies cardiovasculaires, à des anomalies de la coagulation et à des malformations congénitales.

Plusieurs autres mutations rares ont été associées à une déficience sévère de l'enzyme MTHFR. Ces derniers polymorphismes sont moins courants que les deux premiers et leur rôle n'est pas encore bien élucidé. [42] [47]

4-1- Le polymorphisme C677T

Il s'agit de la conversion d'une cytosine en une thymine au niveau de l'exon 4 du gène MTHFR, elle est transmise de façon autosomique récessive. Cette mutation se traduit par une substitution d'une alanine en une valine en position 222 de la protéine MTHFR et se situe dans le domaine catalytique de l'enzyme au niveau du site de liaison avec le cofacteur FAD. 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). [47][48]

4-2- Le polymorphisme A1298C

Il s'agit d'une mutation dans l'exon 7 résultant en un glutamate au lieu d'une alanine, au niveau du codon 429 (E429A) de la protéine MTHFR et se produisant dans le domaine régulateur de l'enzyme pour la SAM. Fonctionnellement, 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 élevées en homocystéine, ni des concentrations basses en folates. L'association des deux variant génétiques C677T et A1298C chez les même sujets présente un profil similaire à celui présent chez les homozygotes C677T avec élévation des concentrations d'homocystéine et une diminution des concentration en folates. La présence simultanée des deux variant génétiques, le C677T et C1298A, est associée à des maladies cardiovasculaires, à des anomalies de la coagulation et à des malformation congénitales. [44] [48] [49]

4-3- Autres polymorphismes du gène MTHFR

Un défaut d'activité de la protéine 5,10MTHFR avec une activité résiduelle est du à plusieurs autres polymorphismes. La majorité d'entre eux sont découverts chez seulement une ou deux familles, il s'agit des polymorphismes T1317C, G1793A, T1081C, G1027T, T1084C et T1711C. Certains de ces polymorphismes ont été décrits en association avec le polymorphisme C677T et ceci diminue l'activité enzymatique de la protéine MTHFR de façon remarquable, alors que d'autres n'altèrent pas la séquence des acides aminés et leur rôle n'est pas bien décrit. [48,50,51,52] (annexe 3)

5- Le polymorphisme du gène MTHFR et cancer

La méta-analyse de Brattstrom et al. a démontré que le génotype TT, en entraînant une nette diminution de l'activité enzymatique de la MTHFR, est responsable d'une hyper-homocysteinémie, d'autant plus importante que la carence en folates éventuellement associée est marquée. Cette hyper-

Chapitre 1 : Etude bibliographique

homocystéinémie, à l'origine d'une réduction de la quantité de SAM disponible pour les réactions de méthylation entraîne une hypométhylation globale de l'ADN.

Le risque de mutation est lié à 2 éléments clés : la disponibilité du THF (en particulier de 5,10-méthylène-THF), et le taux de SAM. En cas de mutation de la MTHFR et de carence nutritionnelle, ces 2 mécanismes sont altérés. La méthionine synthase est inhibée et diminue le taux de SAM qui n'a plus son rôle de rétrocontrôle négatif sur la MTHFR. Le taux de 5,10-méthylène-THF diminue aussi pour augmenter le pool inexploité de 5-méthyl-THF ce qui retentit sur la TS. Par contre, lorsque la mutation est présente mais qu'il n'y a pas de carence associée, le taux de SAM est assuré malgré la diminution de l'activité de MTHFR. Celle-ci assure alors un rétrocontrôle négatif sur l'enzyme, ce qui assure une disponibilité suffisante de 5,10-méthylène-THF pour la TS.

I. Type de l'étude

Il s'agit d'une étude descriptive, observationnelle, analytique et transversale cas-témoins réalisées respectivement au service d'oncologie médicale et au laboratoire de recherche de biologie et génétique moléculaire de la faculté de médecine de Constantine.

Notre étude s'est déroulée entre Mars et Juin 2015. Elle a inclus une population de 50 sujets (25 patientes atteintes d'un carcinome du sein prouvé histologiquement et traités au service d'oncologie médicale et 25 témoins présumés sains). Les caractéristiques épidémiologiques cliniques et histologiques ont été recueillies à partir des dossiers médicaux des patientes et du questionnaire que nous avons établi. L'étude moléculaire a été réalisée au laboratoire de recherche de biologie et génétique moléculaire de la faculté de médecine de Constantine. Toutes ces données ont été rapportées et analysées.

II. Méthodologie :

1. Recrutement des individus :

L'échantillon de notre étude est subdivisé en deux populations : une population des malades et l'autre des témoins. Des critères d'inclusion et de non inclusion ont été établis pour chaque patiente.

❑ **Population malade :** L'étude effectuée concerne 25 patientes admises dans le service d'Oncologie Médicale du CHUC , La sélection de ces patientes a été faite en respectant des critères bien définis

➤ Critères d'inclusion :

- Patientes atteintes d'un cancer du sein prouvé histologiquement
- Age > à 18 ans
- Patientes en bon état général (PS<2)
- Consentement éclairé

➤ Critères de non inclusion :

- Patientes traitées auparavant pour un autre cancer
- Cancers synchrones
- Sujet refusant de faire le prélèvement

Chapitre 2 : Etude pratique

❑ **Population témoins :** C'est une population générale de référence, sujets sains de sexe féminin (présumée en bonne santé). âgée de plus de 18 ans. Sélectionnée en nombre de 25.

➤ **Critères d'inclusion :**

- Sujets sains de sexe féminin
- Sujets âgés de plus de 18 ans
- Femmes demeurant à l'est algérien
- Ne présentant aucun signe clinique cancer

➤ **Critères de non inclusion :**

- sujets présentant des antécédents personnels d'une maladie néoplasique quel que soit sa localisation

2. Prélèvement sanguin : le prélèvement sanguin destiné à l'extraction de l'ADN est recueilli à partir du sang total périphérique (5 à 10 ml), par ponction veineuse, dans un tube vacutainer contenant de l'EDTA (Ethylene Diamine Tetracetic Acid) comme anticoagulant.

- ❖ Ces prélèvements ont été réalisés, après avoir eu l'accord des patientes pour participer à l'étude. Des explications concernant l'objectif du travail ont été données aux patientes par le médecin traitant. Le formulaire du consentement a été signé par la patiente et le médecin. Les prélèvements ont été réalisés par les infirmiers du service d'oncologie médicale du CHU de Constantine. Un questionnaire comprenant toutes les données épidémiologiques et cliniques a été établi pour la toute la population (annexe 4) . Tous les renseignements nécessaires ont été enregistrés, à partir du dossier médical et de l'interrogatoire avec le patient.
- ❖ L'identification des tubes a été réalisée on mentionnant le nom, le prénom du sujet prélevé, et le service d'oncologie radiothérapie sur les étiquettes des tubes.
- ❖ Les prélèvements ont été conservés à une température de 4° C jusqu'au moment de la réalisation de l'étude.

3. Etude moléculaire.

3.1. Extraction de l'ADN

L'extraction d'ADN a été réalisée par la méthode utilisant des solvants non organiques (La méthode au Na Cl). L'ADN de chaque sujet a été extrait à partir de leucocytes du sang périphérique(annexe 5).

□ Principe :

- **Préparation des leucocytes :** les leucocytes ont été séparées du sang total par lyse hypotonique des globules rouge selon les étapes suivantes :
 - Dans un tube Falcon de 50 ml, mettre le sang et compléter à 30 ml avec du TE (Tris-EDTA) 20:5, laisser 10 mn dans la glace (la composition du tampon d'extraction TE 20:5 est mentionnée dans l'annexe 6),
 - Centrifuger 12 mn à 3900 tpm (tours par minute),
 - Jeter le surnageant,
 - Ajouter quelques ml de TE 20:5 au culot et le remettre en suspension,
 - Compléter à 25 ml avec du TE 20:5 et laisser 10 mn dans la glace,
 - Centrifuger dans les mêmes conditions,
 - Jeter le surnageant pour l'obtention d'un culot leucocytaire.
- **Extraction de l'ADN :**
 - Transvaser le culot des leucocytes dans un tube Falcon de 15 ml,
 - Ajouter 3 ml de tampon de lyse en dilacérant le culot (la composition du tampon de lyse est mentionnée dans l'annexe 6)
 - Ajouter 200 µl de SDS (Sodium Dodécyle Sulfate) à 10 %. C'est un détergent qui possède une action lytique sur les membranes cellulaires, dénature les protéines par destruction de leur structure tertiaire et inhibe l'action des nucléases,
 - Ajouter 100 µl de protéinase K à 10 mg/ml. Cette enzyme dénature et dégrade les protéines,
 - Agiter le tube sur une roue à 27° C pendant une nuit,

Chapitre 2 : Etude pratique

- Le lendemain, refroidir dans la glace 5 mn,
- Ajouter 1 ml de NaCl 4M et agiter vigoureusement à la main. L'ADN nucléaire est libéré dans le lysat et les protéines qui lui sont associées sont digérées et éliminées par précipitation au NaCl. La pelote d'ADN est formée dans le surnageant par précipitation avec l'éthanol pur,
- Remettre 5 mn dans la glace (précipitation des protéines),
- Centrifuger 12 mn à 3900 rpm,

3.1 Génotypage de la MTHFR : Pour la mise en évidence du génotype du polymorphisme C677T de la MTHFR, nous avons utilisé la technique PCR/RFLP qui consiste à la réalisation des étapes suivantes :

- Amplification par PCR (Polymérase Chaîne Réaction).
- Une migration électrophorétique sur gel d'agarose pour le contrôle du produit PCR (s'assurer qu'il n'y a pas de contamination)
- Digestion du produit de « PCR » par l'enzyme de restriction *HinfI*
- Une migration électrophorétique sur gel d'agarose pour la séparation des produits de PCR
- digestion

3.3 l'amplification par PCR : La PCR est une méthode de biologie moléculaire permettant d'amplifier des séquences d'ADN cibles et définies (l'Amplicon) en plusieurs millions d'exemplaires. La PCR est une réaction en chaîne qui consiste à effectuer n cycles successifs d'amplification, au cours desquels deux amorces dirigent l'amplification du fragment d'ADN double brin qu'elles encadrent. Un cycle d'amplification est composé de trois étapes : dénaturation, hybridation et élongation. Après la préparation du mix de la PCR (annexe 7), nous avons pris 49 µl de ce mélange avec 1 µl d'ADN pour chaque tube. Ensuite le déroulement des cycles de la PCR a été assuré par le thermocycleur selon les conditions d'amplification suivantes:

- Dénaturation à 94 °C pendant 30 secondes
- Hybridation à 65 °C pendant 30 secondes
- Élongation à 72 °C pendant 30 secondes

➤ **Préparation du milieu réactionnel de la PCR :** le milieu réactionnel de PCR comprend tous les constituants nécessaires à la réalisation d'une PCR. Pour

Chapitre 2 : Etude pratique

préparer le milieu réactionnel ou le mix, il faut multiplier la quantité de chaque composant par le nombre de tubes voulu plus un, ce dernier représente le tube témoin «blanc» dans lequel on avait mis uniquement le mix sans ADN.

- **L'enzyme** : La Taq DNA Polymérase (Kit Bioline) est utilisée à une concentration de 5 U/μl. La Taq polymérase est extraite de la bactérie *Thermophilus aquaticus*, elle est thermorésistante, sa température optimale d'action est de 72° C. C'est une enzyme capable d'associer des nucléotides en polymère d'ADN de l'extrémité 5' vers l'extrémité 3'.

- **La solution tampon** : on utilise 1 μl de tampon pour un volume final de 10 μl par tube de PCR. Le tampon de la Taq (Kit Bioline) nommé 10X NH4 Reaction Buffer est composé de : 160 mM (NH4)2SO4, 670 mM Tris- HCL (pH 8,8 à 25° C), 0,1 % stabilizer

- **Les oligonucléotides ou dNTP (désoxy-Nucléotides-Tri-Phosphates)** : les dNTP sont composés de dATP, dTTP, dGTP et dCTP. Ce sont les éléments de bases utilisés par la Taq polymérase pour synthétiser les brins d'ADN complémentaires lors de l'élongation. La concentration de la solution stock est de 25 mM pour chaque base. La concentration finale de chaque base dans la réaction de PCR est de 0,2 mM.

- **Le MgCl2** : il s'agit d'un cofacteur pour la Taq polymérase. Il est utilisé à une concentration stock de 50 Mm.

À cela on ajoute :

- **Les Amorces** :

Sens : 5'-TGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGGA-3'

Anti sens : 5'- AGGACGGTGCGGTGAGAGTG-3'

- **Le contrôle des produits PCR** : Le contrôle de la PCR s'effectue par une électrophorèse sur un gel d'agarose 2 % additionné (Annexe 8). Le gel est déposé sur une plaque d'une cuve horizontale. Dans chaque puits du gel, nous déposons 10 ul d'amplificat en présence de 3 ul du colorant Bleu de Bromophénol (BBP) qui permet de suivre le front de migration.

Parallèlement un échantillon sans ADN (blanc), est inclus dans la série à amplifier et sert de control négatif. Le dépôt se fait du coté cathode et le système est soumis à une

Chapitre 2 : Etude pratique

migration sous un courant de 60 à 120 volts pendant 30 mn. Après la migration, le gel est soumis au rayon UV. Les molécules de bromure d'éthidium fixées aux ADN émettent une lumière visible et photographiable et permettent de visualiser les fragments amplifiés sous forme de bandes fluorescentes de même taille. Ce contrôle permet aussi de vérifier si une éventuelle contamination de l'ADN est survenue au cours de la PCR grâce au puits contenant le blanc.

3.4 Digestion des produits de PCR : Les produits de la PCR sont soumis à une digestion enzymatique par l'enzyme de restriction *HinfI*. Pour cela nous préparons une quantité d'un mix pour digestion selon le nombre des amplificats à être digérés + 1. Ce mix contient un tampon, H₂O, l'enzyme de restriction *HinfI* et la BSA (Bovine serum albumine) (Annexe 9). Nous prenons 10 µl du mix pour digestion et 30 µl du produit de PCR. Le tout est incubé pendant une nuit dans une étuve à 37°C. Après incubation nous concentrons les ADN digérés au speed -vac (System ISS 40-SAranta) pendant quelques minutes.

3.5 Electrophorèse : Les fragments d'ADN obtenus seront de :

- 198 bases en cas d'absence de la mutation et les fragments d'ADN amplifiés et digérés apparaissent sur le profil électrophorétique sous forme d'une seule bande qui correspond au type homozygote sauvage (CC),
- 175 bases s'il y a mutation et les fragments d'ADN apparaissent sur le profil électrophorétique sous forme d'une seule bande qui correspond au type homozygote muté (TT),
- les deux bandes ensemble de 175 bases et 198 bases, correspondent au type hétérozygote (CT),
- une bande de 23 bases qui ne sera pas visible sur le profil électrophorétique à cause de son intensité trop faible.

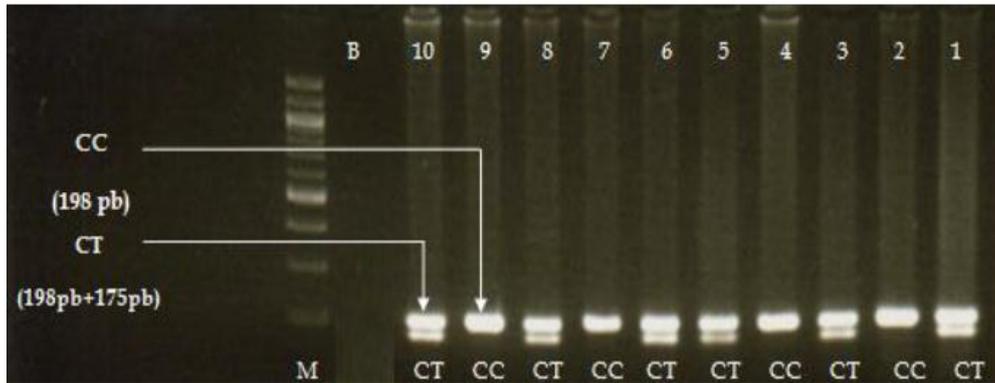


Figure 9 : Profil électrophorétique sur gel d'agarose des fragments obtenus après digestion du produit de PCR du gène de la MTHFR par Hinf I

4 Analyse statistique :

Nous avons procédé à une étude statistique pour déterminer une association entre le polymorphisme de la MTHFR et le cancer du sein. Notre étude est basée sur l'OR (Odds Ratio) et la P value; ceci se fait par la comparaison du nombre de fois où l'allèle est observé chez les patients par rapport au nombre de fois où il est présent chez les témoins.

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

	Malades	Non-malades	Total
Exposés (Présence du facteur présumé de risque de maladie)	A	b	a + b
Non-exposés (Absence du facteur présumé de risque de maladie)	C	d	c + d
Total	a + c	b + d	a + b + c + d

Tableau 4 : Tableau de contingence.

$$OR = \frac{a/b}{c/d}$$

- **Calcul de la P value** : le seuil critique a priori est de 0,05 (risque α). Si la valeur de p calculée à posteriori est inférieure à ce seuil, la différence entre les paramètres est déclarée statistiquement significative.

I- Résultats

1. Caractéristiques épidémiologiques

Ce travail est une enquête descriptive transversale du cancer du sein, a porté sur 50 dont 25 sujets atteintes d'un cancer du sein prouvé histologiquement et prises en charge au niveau du service d'oncologie médicale et 25 témoins présumés seins.

1-1- Répartition de l'échantillon selon l'âge :

La moyenne d'âge des témoins était de 36 avec des extrêmes de 20 à 60

La moyenne d'âge de nos patientes était de 47 avec des extrêmes de 20 à 80

La tranche d'âge la plus concernée par la maladie est située entre 40 et 50 ans

Le nombre de cas diminue progressivement à la fois aussi bien chez les femmes plus jeunes que chez les femmes plus âgées

Tableau 5 : Répartition de la population (cas / témoins) selon l'âge

Tranches d'âge	patientes	fréquence	Témoins	fréquence
[20 -30[1	4%	12	48%
[30 -40[2	8%	4	16%
[40 -50[18	72%	5	20%
[50 -60[2	8%	4	16%
[60 -70[1	4%	0	0%
[70 -80[1	4%	0	0%

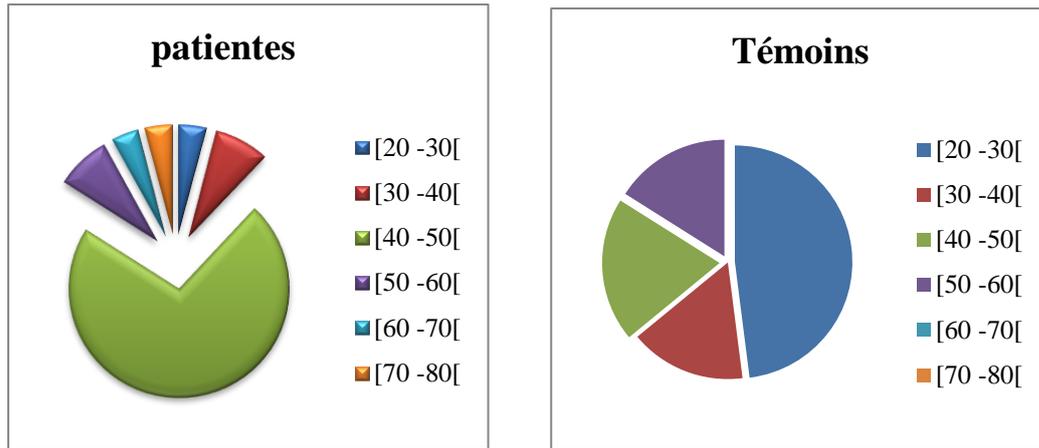


Figure10 : répartition des patientes et témoins selon l'âge

1-2- Répartition des patientes selon L'âge de ménarche :

La proportion des patientes dont l'âge de la ménarche est précoce (< 11 ans) est nettement plus faible soit 4% que celle des autres dont l'âge de la ménarche est >13 ans soit 44%. 13 patientes avaient un âge de ménarche entre 11 et 13 ans (52%).

Tableau 6: Répartition des patientes selon l'âge de la ménarche

Age de ménarche	Effectifs	fréquence
<11	1	4%
11-13	13	52%
14-16	8	32%
>16	3	12%

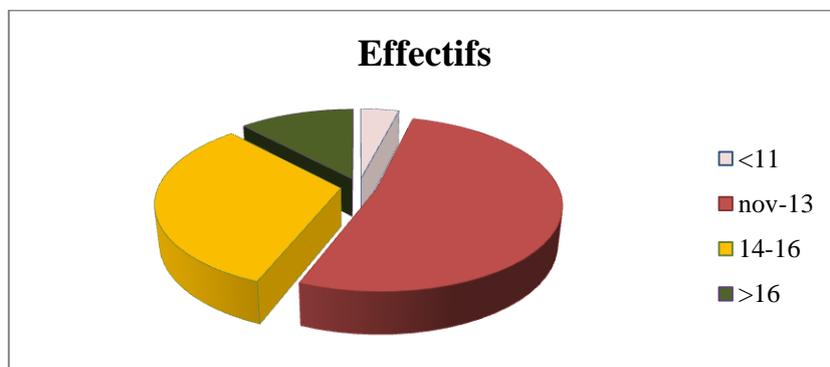


Figure 11 : répartition des patientes selon l'âge de ménarche

Chapitre 3 : Résultats et discussion

1-3- Répartition des patientes selon la Parité :

La répartition selon la parité, nous révèle une recrudescence de ce type de pathologies chez les femmes nullipares soit 28% par rapport aux femmes multipares soit 72%

Tableau 7: Répartition des patientes selon le nombre d'enfants

Nombre d'enfant	Effectifs	Pourcentage%
0	7	28%
1-3	10	40%
>3	8	32%

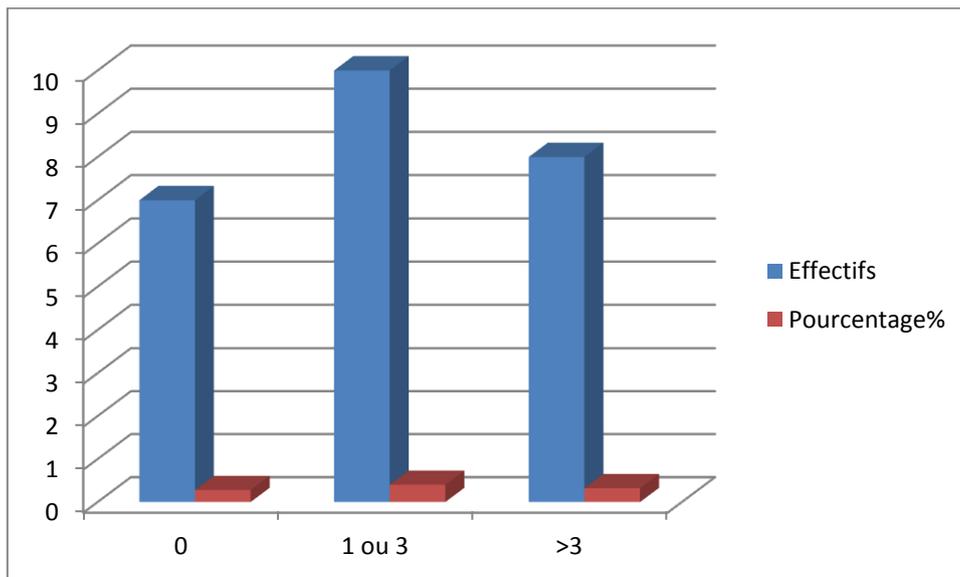


Figure 12 : Répartition des patientes selon le nombre d'enfants

1-4- Répartition des patientes selon L'âge de la première grossesse :

Dans notre série 5 patientes ont eu une grossesse leur première grossesse après l'âge de 30 ans (20%).

Chapitre 3 : Résultats et discussion

Tableau 8 : Répartition des patientes selon l'âge de la première grossesse

L'âge de la première grossesse	Effectifs	fréquence
15-20	3	12%
21-26	9	36%
27-32	3	12%
33-38	1	4%
39-44	2	8%
Pas d'enfant	7	28%

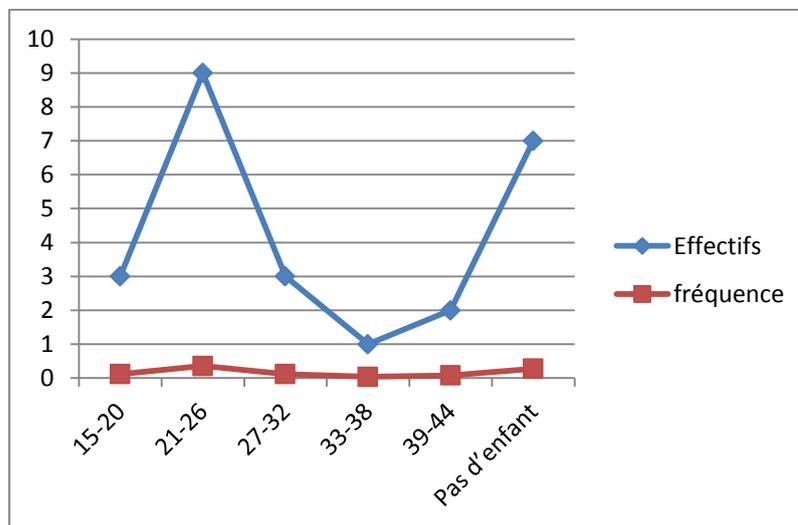


Figure 13 : Répartition des patientes selon l'âge de la première grossesse

1-5- Répartition des patientes selon les antécédents familiaux de cancer

12 patientes présentaient des antécédents familiaux de cancer (48%).

Tableau 9: Répartition des patientes selon les antécédents familiaux de cancer

ATCD F	Nombre	Fréquence
Présence (sein, digestif, ovaire)	12	48%
Absence	13	52%

Chapitre 3 : Résultats et discussion

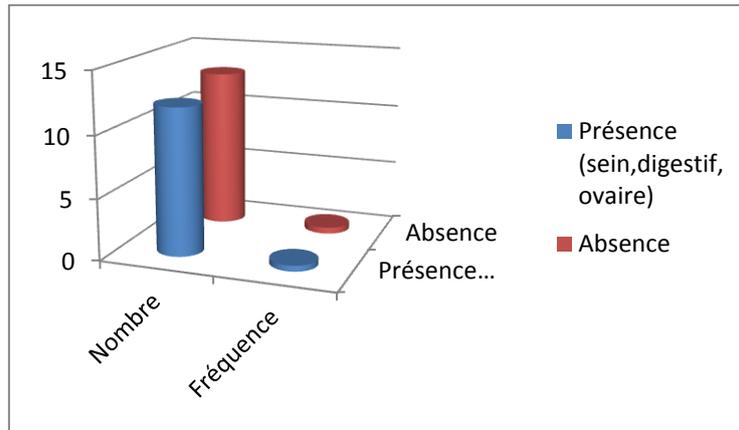


Figure 14 : Répartition des patientes selon les antécédents familiaux de cancer

1-6- Répartition des patientes selon la Localisation de la tumeur :

18 patientes présentaient un cancer du sein au niveau du sein gauche (72%).

La localisation bilatérale était retrouvée chez une patiente (4%)

Tableau 10: Répartition des patientes selon la localisation de la tumeur

Localisation de la tumeur	Effectifs	Fréquence
Sein droit	6	24%
Sein gauche	18	72%
Sein bilatéral	1	4%

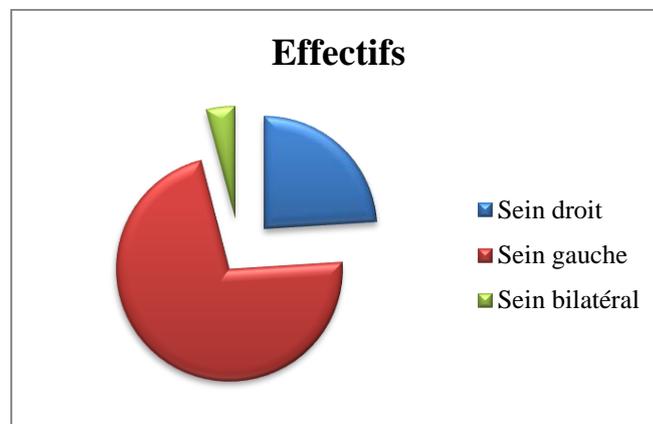


Figure15 : Répartition des patientes selon la localisation de la tumeur

1-7- Répartition des patientes selon Le type histologique :

La carcinome canalaire infiltrant représentait le type histologique prédominant (92%)

Tableau 11: Répartition des patientes selon le type histologique

Type	Effectifs	Fréquence
CCI	23	92%
CLI	2	8%
Autre type	0	0%

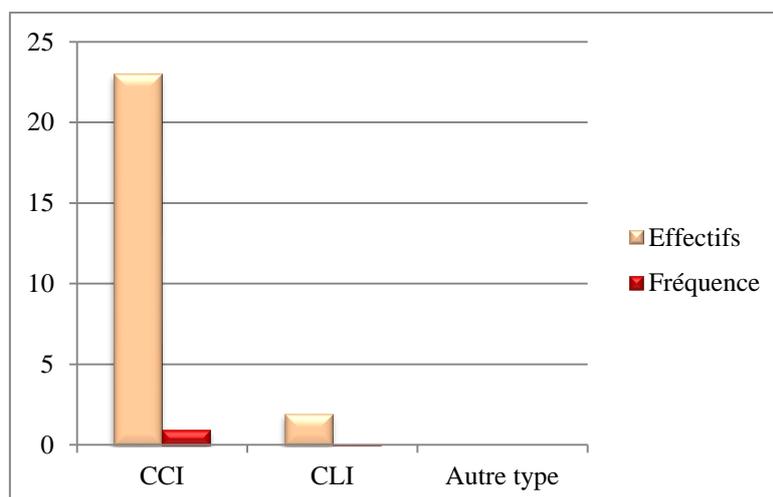
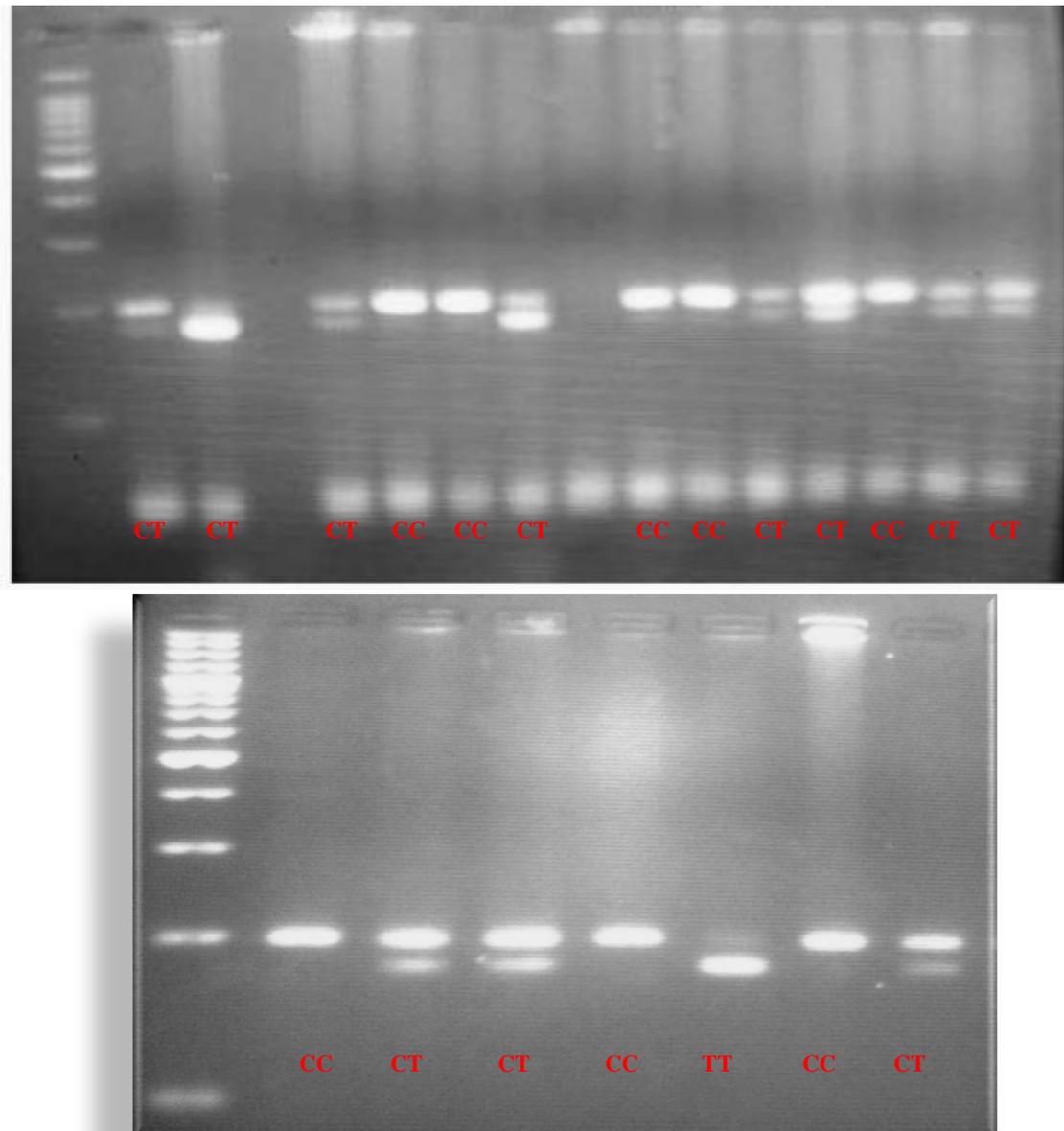


Figure 16 : Répartition des patientes selon le type histologique

2- Caractéristiques du polymorphisme C677T de la MTHFR

Nous avons procédé au génotypage de la MTHFR pour 25 patientes recrutées au niveau du service d'oncologie médicale entre mars et mai 2014, malheureusement un problème technique s'est rencontré au niveau du laboratoire de biologie moléculaire et on a pas pu obtenir des résultats concernant le génotypage de la MTHFR. Cependant nous avons utilisé des résultats de génotypages des travaux réalisés auparavant au niveau du laboratoire de biologie.

2-1- Génotypage de la MTHFR



Photographie 1 :le profil de la digestion par Hinf I

La lecture des profils d'électrophorèse nous a permis de reconnaître tous les génotypes de la MTHFR des patientes. La répartition des différents génotypes et allèles, pour les patients et nos témoins, est mentionnée dans la figure ci-dessous

Tableau 12 : Fréquence génotypique du polymorphisme C677T de la MTHFR

Témoins			Cancéreux		
	N	%		N	%
CC	8	32	CC	8	40
CT	16	64	CT	11	55
TT	1	4	TT	1	5
Total	25	100	Total	20	100

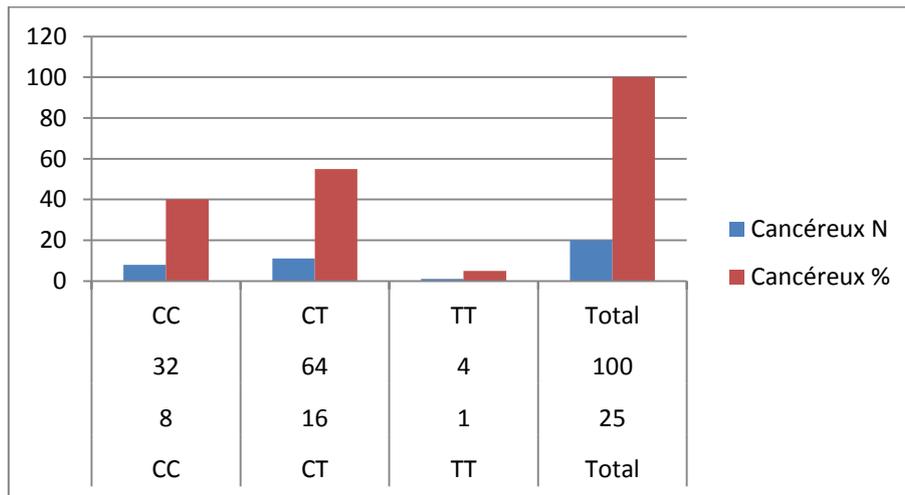


Figure17 : Répartition des différents génotypes de la MTHFR pour les patients et les témoins.

Le génotype homozygote sauvage **CC** présente une fréquence de 32% , le génotype hétérozygote **CT** présente une proportion de 64% et le génotype muté **TT** présente une fréquence de 4% chez les témoins. Alors que chez les cancéreux le génotype hétérozygote **CT** présente une fréquence de 55%, le génotype homozygote sauvage **CC** présente une proportion de 40% et le génotype muté **TT** présente une fréquence de 5%.

Chapitre 3 : Résultats et discussion

2-2- Répartition des fréquences alléliques dans les deux groupes :

Tableau13 : Fréquence alléliques de la MTHFR dans la population malades et témoins

	Témoins		Cancéreux	
	N	%	N	%
C	32	64%	27	67.5%
T	18	36%	13	32.5%
Total	50	100%	40	100%

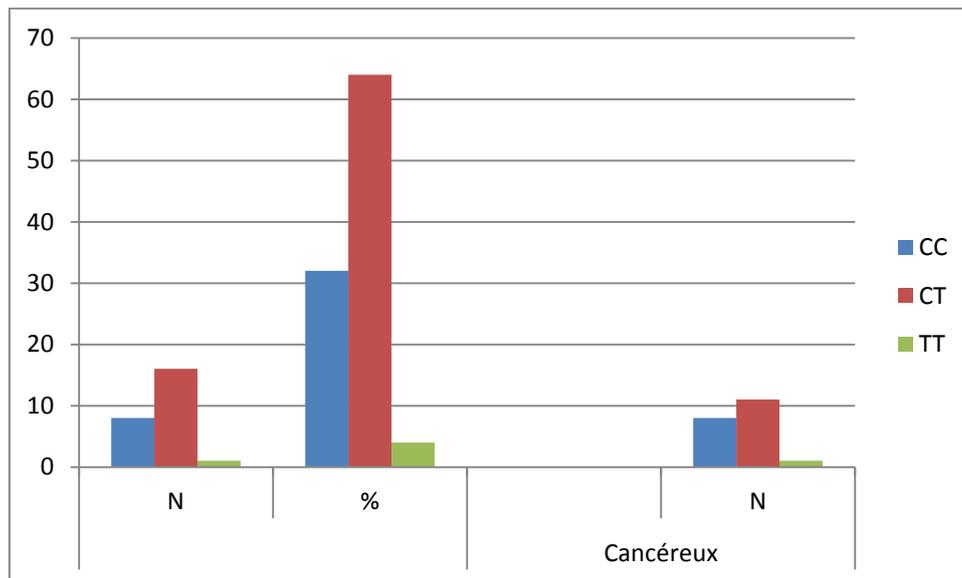


Figure18 : Répartition des différents génotypes de la MTHFR pour les patients et les témoins.

- On observe que les fréquences alléliques sont presque similaires chez les deux populations, et Les fréquences de l'allèle C est plus importante que celle de l'allèle T.

La fréquence de l'allèle C est de 64% chez les témoins et il est de 67.5% chez les cancéreux, Cependant l'allèle T présente une proportion de 36% chez les témoins et de 32.5% chez les cancéreux

Chapitre 3 : Résultats et discussion

Les résultats de l'analyse statistique réalisée dont le but de prospector l'association possible entre le facteur de risque étudié (polymorphisme **C677T** de la MTHFR). Sont mentionnés ci-dessous.

Tableau 14 : Fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme **C677T** de la MTHFR chez la population témoin et chez les patients.

génomotypage	Patients (n=20)		Témoins (n=25)		OR
	n	%	n	%	
C/C	8	40	8	32	1,42
C/T	11	55	16	64	0.69
T/T	1	5	1	4	1.26
CT+TT	12	60%	17	68%	0,71
Allèle C	27	67.5%	32	64%	
Allèle T	13	32.5%	18	36%	

La distribution des génotypes CC, CT et TT correspondait respectivement aux proportions 40%, 55% et 5%. L'odds-ratio pour le génotype CC était 1,42 (95%IC= 0,42- 4,85) L'odds-ratio pour les génotypes TT et CT était respectivement et 1,26 (95% IC=0,07-21,49) et 0,69 (95% IC 0,21- 2,29). La prévalence de l'allel (677T) (CT+TT) dans cette population était de 0,71(95% IC 0,21-2,42). Nous avons retrouvé une plus grande incidence 1,26 fois de génotype TT et 0,69 fois de génotype CT chez les patients par rapport au sujets sains. Nous avons également objectivé une modeste augmentation du risque de cancer du sein chez les individus avec le génotype TT comparé à la population générale (OR=1,26 ; 95% IC=0,07-21,49).

II- Discussion

Dans notre série la moyenne d'âge de nos patientes était de 47 ans, la tranche d'âge prédominante était entre 40-50 ans dans 72% des cas. L'étude de **El Saghir NS,Khalil**

Chapitre 3 : Résultats et discussion

MK,Eid T et al (53) réalisée entre 1990 et 2000 concernant l'âge médian des patientes atteintes d'un cancer du sein dans les pays arabes a révélée que cette affection survient chez les femmes de moins de 50 ans. En 2010 **Najjar H, Easson et al** (54) dans une publication de 28 articles consacrés au cancer du sein dans le monde arabe ont remarqué que cette maladie affecte les femmes dont la médiane d'âge est de 45,5 ans. Les deux tiers (65,5%) des patientes avaient moins de 50 ans. L'âge de la ménarche de nos patientes était moins de 11 ans dans 4% des cas. Dans 96% des cas nos patientes avaient eu leurs premières menstruations après 11 ans dont 11 patientes après 13 ans (44%). la plus part des études ont retrouvé que l'âge précoce de la ménarche est un facteur de risque de cancer du sein. Le fondement biologique de cette association correspondant à l'exposition précoce et prolongée à l'imprégnation hormonale qui existe durant la période d'activité ovarienne. Cette exposition est considérable lorsque les cycles menstruels sont réguliers. [55]

Dans 28% des cas nos patientes étaient nullipares. Dans l'étude de **Layde PM et al** Les femmes qui ont mené au moins une grossesse à terme avant l'âge de 30 ans présentent, en moyenne, un risque de cancer du sein diminué de 25% par rapport aux femmes nullipares. L'effet protecteur de la multiparité est proportionnel au nombre d'accouchements. Les femmes qui ont eu de huit à neuf accouchements présentent des risques réduits d'environ 30%, en comparaison avec celles qui ont eu cinq accouchements. [56]

Des antécédents familiaux de cancer au premier degré ont été retrouvés dans 48 % des cas, 50% de ces derniers sont représentés par le cancer mammaire. Ces données ne rejoignent pas ceux de la littérature ou la fréquence du cancer du sein familial est de 5-10%. (57).

Pour la majorité des patientes, le cancer du sein se localise le plus souvent au niveau du sein gauche (72%). D'après **perkins CL et al** en 2004, après une analyse de 935. 419 incidents du cancer du sein unilatéral de 26 registres du cancer (1994-1998) , basés sur la population qui couvre 40% de la population des États-Unis ,ils ont observé que le cancer du sein a d' environ 5% plus de chance d'être diagnostiqué dans le sein gauche que le sein droit [58] . C'est ce qu'a été confirmé par une étude Islandaise effectué sur 2139 cas de femmes atteintes d'un cancer du sein dans les 40

Chapitre 3 : Résultats et discussion

ans de période de 1948 à 1987, une prédominance au niveau du sein droit de 49% vs 44.04% pour le sein gauche. [59].

le carcinome canalaire infiltrant a représentait le type histologique le plus fréquent dans 92% des cas. Dans l'étude Britannique réalisée par **Gillian K REEVERS et al en 2006 incluant** 11 869 femmes atteintes d'un cancer du sein, recrutées entre 1999-2001 , le CCI représente 67.46%, [60]. Ces résultats ont été confirmé par l'étude de l'institut du cancer à Dakar , ou la fréquence de CCI était de 48.45% sur un échantillon englobant 161 femmes atteintes du cancer du sein.[61].

Les résultats de notre étude ont montré qu'il y a une modeste association entre le polymorphisme **C677T** et la susceptibilité du cancer du sein aussi bien pour les mutants hétérozygotes **CT** que pour les homozygotes **TT**. On déduit que le polymorphisme **C677T** représente une modeste augmentation du risque dans la survenue du cancer du sein. l'étude Allemande publiée par **Christina Justen hoven et al** en 2004, menait sur une population de 1412 sujets, 688 patientes atteintes d'un cancer du sein et 724 témoins a montré qu'il n'y a pas une différence statistiquement significative pour les hétérozygotes **CT** et les homozygotes **TT** . Cette étude n'a pas retrouvé de relation entre le polymorphisme **C677T** de la MTHFR et le risque de survenue du cancer du sein. [62]

Des résultats semblables ont été observés dans l'étude de **Wei-Yu Lin** sur une population de Taiwan en 2004. Cette étude portait 88 patients atteints du cancer du sein et 344 témoins entre 1992-2000. Elle a montré une relation entre le polymorphisme **C677T** et le risque du cancer du sein, mais la différence était statistiquement non significative [63].

Ces résultats ont été confirmés par celle rapporté par **MarthaJ.Shrubsole et al** en 2004, dans une étude menait sur une population chinoise de 1144 patients diagnostiqués pour un cancer du sein et 1236 contrôles. Le polymorphisme **C677T** n'est pas un facteur de risque pour le cancer du sein (différence statistiquement non significative) avec un $P=0.58$, mais l'association de ce polymorphisme avec un taux bas d'absorption du folate montre que ce polymorphisme augmente le risque du cancer du sein particulièrement chez les patients ayant un génotype **TT** ($OR= 2.16$, $P=0.002$). [64]

Chapitre 3 : Résultats et discussion

En 2000 , une étude Britannique a montré que le génotype **TT** réduit le risque du cancer du sein (OR=0.39). Cette protection n'était pas évidente pour ceux qui avaient un taux bas des folates dans le sang ou qui prennent un régime alimentaire faible en folates. [65]

Ce pendant des études plus récentes ont suggéré qu'une faible activité de la **MTHFR** est associée à un risque accru de cancer du sein précoce. Il est possible que cette contradiction avec nos résultats est peut être liée à d'autres facteurs tel que l'origine ethnique, le régime alimentaire et l'environnement dans les différents pays ou même l'influence des facteurs de risque tels que la prise de contraceptifs oraux.

l'étude de **Xinran Xu** en 2007 sur une population de l'Island a montré que le polymorphisme **C677T** est responsable de l'augmentation du risque du cancer du sein [66] .L équipe de **Ian G Campbell et al** dans un essai porté sur 335 patientes et 233 sujets présumé sains a trouvé une association entre le polymorphisme **C677T** et le risque du cancer du sein chez les femmes de moins de 40 ans. Cependant ce risque n'était pas présent chez celles qui ont des antécédents familiaux d'un cancer du sein, cette étude a montré que le polymorphisme **C677T** augmente le risque du cancer du sein[67].

Conclusion

Conclusion

Plusieurs études ont démontré qu'il existe une relation entre le génotype TT et le risque de survenue de cancer du sein, dans notre travail nous avons objectivé une modeste augmentation de ce risque chez les individus avec le génotype TT comparé à la population générale. Il serait intéressant de continuer ce travail préliminaire par une analyse moléculaire sur une population plus large et d'intégrer l'étude d'autre gène de susceptibilité, afin de décrypter les mécanismes de la cancérogenèse, d'établir les corrélations génotype-phénotype, et également d'identifier les sujets à haut risque.

Référence Bibliographique

- 1- **Leclerc JP.(1982)** . anatomie pathologique spéciale TOME 2. Edition MarKeting.
- 2- **P. Cremoux.** Marqueurs pronostiques et prédictifs de réponse aux traitements des cancers du sein 97 :1297-1304 (2010).
- 3- **Chou YC, Wu MH, Yu JC, Lee MS, Yang T, Shih HL, Wu TY, Sun CA.** Granduante institute of Medical Sciences, Carcinogenesis ; 27(11):2295-300, Epub(Nov 2006).
- 4- **Frank-H. Netter-MD.**2009. Atlas d'anatomie humaine.elsevier- masson ;paris ISBN:978-2-294-09473-6.
- 5- **Whaeter,P.R, Burkit, H.J, Daniels,V.G.(1979).** Histologie fonctionnelle Manuel et Atlas 2éme edition Medsi/Mc Graw-hill.
- 6- **Wainsten Jean-Pierre,** Le Larousse Médical , 5eme édition,Larousse , Paris, PP.865-867 ,ISBN 978-2-03-582292-5(2009).
- 7- **D Hammouda,N Ait Hamadouche,M Afiane,A BouhadeF,** Enquête nationale sur l'incidence et la prévalence des cancers INSP 2002).
- 8- **Puddu et Tafforeau,(2005)** Anatomie et physiologie humaine ,Adaptation de la 8éme édition américaine,Nouveaux horizons,paris,pp.1215-1217,ISBN :978-2-35745-080-6.
- 9- **N.Daly-Schevetizer.**2008,Cancérologie Clinique .Collection Abrégé de Médecine ,456P .40-43 .
- 10- **François Eisinger, Valérie Guagliardo, Claire Julian-Reynier,Jean-Paul Moatti,**2000 ,Dépistage du cancer du sein ,Baromètre santé, **24**,n° :1167-1168.
- 11- **Lillian sholtis Brunner, Suzanne C .Smeltzer,Brenda Bare.**2006.Soins infirmiers en médecine et en chirurgie ,Canada.P242 ,ISBN. :2-8041-5207-3.
- 12- **1PERRY N M,**2004 ,Breast cancer screening :The European experience,international journal of fertility and women 's medecin,49,n° 5,45.
- 13- **Brettes,Pr Bergerat,**2005 ,Diagnostiquer une tumeur de sein, Cancérologie clinique Oncohématologie ,23,n°4 ,238-243.
- 14- **Maurisse CASSIER, Jean Paul GAUDIMMIER,**2000 ,La génétique du cancer du sein , science sociale et santé,**18** n°4 ,29 .
- 15- **Broeders M ,Codd M, Nystrom L , Ascunce N,Riza E.** (2000). Epidemiological guidelines for quality assurance in breast cancer screening.protocol II-A Quality assurance in the epidemiology of Breast Cancer Screening , 15-66.
- 16- **Singletary S. E,Allred C, Ashley P ,et al ,** (2002).Revision of the American Joint Committee on Cancer stagingsystem for breast cancer,J Clin Oncol, 20(17) :3628-36.

Référence Bibliographique

- 17- J.Saglier, P.Beuzebouc, A.Pommeurol, A.Toledano** (2002). Cancer du sein Questions et réponses au quotidien 3eme édition. Paris,204p ;180-182.
- 18- F.A. Tavassoli, P. Devilee, 2003.**Pathology and Genetics of Tumors of the Breast and Female Genital Organs, WHO Classification of Tumors, IARC Press.
- 19- Espié M, Gorins A; 2007.** Le sein, du normal au pathologique : état de l'art. 3 éd. Paris : Eska.
- 20- Boutet G.** 2012.Le sein inflammatoire : examen clinique, orientations étiologiques. Journal de radiologie diagnostique et interventionnelle ; 93 : 85-92
- 21- John P. A. Ioannidis,**Is Molecular Profiling Ready for Use in Clinical Decision Making?,John P. A. Ioannidis, The Oncologist, Vol. 12, No. 3, 301-311, March 2007.
- 22- Bouvard V,Baan R,Staif K,Grosse Y,Secretan B,Ghissassi FE,**2009, Areview of human carcinogens-Part B :biological agents.Lancet oncol.**10**(4) :321-2.
- 23- Cabarrot E.**2000. Histoire naturelle des cancers du sein. Encyclopédie Médico-Chirurgical. Editions scientifiques et médicules Elsevier SAS,Paris.**Gynécologie**,865-A-10.
- 24- Peter T Simpson ;Jorge S Reis-Filho ;Theodora Gale ;R Lakhani,** 2005,Molecular evolution of breast cancer, the Journal of pathology, 205,n°2,248-254.
- 25- Wooster R, Weber BL,**2003,Breast and ovarian cancer. N Engl J Med, 348:2339-47.
- 26- BUYRU Nur, TIGLI Nur,DALAY Nejat,** 2003.p53 codon 72 polymorphism in breast cancer,oncology report,10,n°3.711-714.
- 27- BUYRU Nur, TIGLI Nur,DALAY Nejat,** 2003.p53 codon 72 polymorphism in breast cancer,oncology report,10,n°3.711-714.
- 28- HENERIQUE-HERNANDEZ L, MURIAS ROZALES,** (2009),Gene polymorphisms in TYMS,MTHFR,P53 and MDR1 as risque factors for breast cancer : Acase-control study, ocology report,22,n°6,1425-1433.
- 29- Hedau S, Jain N, Husain SA, et al** (2004) Novel germline mutations in breast cancer susceptibility genes BRCA1, BRCA2 and p53 gene in breast cancer patients from India. Breast Cancer Res Treat 88(2):177–186
- 30- Soussi T, Legros Y, Lubin R, et al** (1994) Multifactorial analysis of p53 alteration in human cancer. Int J Cancer 57:1–9
- 31- Saio M, Teicher M, Campbell G, et al** (2004) Immunocytochemical demonstration of down regulation of HLA class-I molecule expression in human metastatic breast carcinoma. Clin Exp Metastasis 21:243–249

Référence Bibliographique

- 32- Miki Y, Swensen J, Schattuck-Eidens D, Futreal P, Harshman K, Tavtigian S et al.** A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science* 1994 ; 266 : 66.
- 33- Wooster R, Bignell G, Lancaster J, Swift S, Seal S, Mangion J et al.** Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. *Nature* 1995; 378 : 789-92.
- 34- Eisinger F, Bressac B, Castaigne D, Cottu PH, Lansac J, Lefranc JP et al.** Identification and management of hereditary predisposition to cancer of the breast and the ovary (update 2004). *Bull Cancer* 2004 ; 91 : 219-37.
- 35- Blackwood M, Weber B.** BRCA1 and BRCA2 : from molecular genetics to clinical medicine. *J Clin Oncol* 1998 ; 16 : 1969-77.
- 36- Antoniou AC, Easton DF.** Models of genetic susceptibility to breast cancer. *Oncogene* 2006; 25 : 5898-905.
- 37- Antoniou AC, Easton DF.** Models of genetic susceptibility to breast cancer. *Oncogene* 2006; 25 : 5898-905.
- 38- Holler PD, Kranz DM.**(2003) Quantitative analysis of the contribution of TCR/pepMHC affinity and CD8 to T cell activation. *Immunity* 18:255–264
- 39- Geipel JR, Rees RC, Rogers K, et al** (1991) Loss of monomorphic and polymorphic HLA antigens in metastatic breast and colon carcinoma. *Br J Cancer* 64:880–883
- 40- Moller P, Hammerling GJ** (1992) The role of surface HLA-A, -B, -C molecules in tumour immunity. *Cancer Surv* 13:101–127
- 41- SAFFROY R., LEMOINE A., DEBUIRE B.** (2005).MTHFR (5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase). *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol* .
- 42- GOYETTE P., PAI A., MILOS R., FROSST P., TRAN P., CHEN Z., CHAN M., ROZEN R.** (2004). Genestruure of human and mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). Springer New York.
- 43- HOMBERGER A., LINNEBANK M., WINTER C., WILLENBRING H. et al.** (2000). Genomic structure and transcript variants of the human methylenetetrahydrofolate reductase gene. *European Journal of Human Genetics*, **8**: 725–729.
- 44- LORENZO D., BOTTO D. , YANG Q.** 5, 10-Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) Gene Variants and Congenital Anomalies. *Epidemiol* (2000) May; 1;151(9):862-877.
- 45- ueland PM, Rozen R(eds).** MTHFR polymorphisms and disease. Georgetown :Landes Bioscience/EureKah .com ;210 p (2005).

Référence Bibliographique

- 46- Daniel Leclerc, Rima Rozen** Génétique moléculaire de MTHFR Les polymorphismes ne sont pas tous bénins médecine/science,23 :297-302(2007).
- 47- CASSANDRA L. , KNIFFIN A.** 5,10-méthylentetrahydrofolate reductase; mthfr. omin (2002).
- 48- ROBIEN K. , CORNELIA M. , ULRICH C.** 5, 10-Méthylentetrahydrofolate Reductase Polymorphisms and Leukemia Risk. Epidemiol (2003) 157 (7) :571-82.
- 49- I Weisberg,P Tran,B Christensen,S Sibani,A** Second Genetic Polymorphism in Methylene tetrahydrofolate Reductase (MTHFR) Associated with Decreased Enzyme Activity,Molecular Genetics and Metabolism ,64,169-172(2003).
- 50- GOYETTE P., SUMNER J., MILOS R., DUNCAN A., ROSENBLATT D., MATTHEWS R., ROZEN R.** Human méthylentetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA, mapping and mutation identification. Nature Genet (1994) 7: 195-200.
- 51- KLUIJTMANS L., WENDEL U., STEVENS E., VAN DEN HEUVEL L., TRIJBELS F., BLOM H.** Identification of four novel mutations in severe méthylentetrahydrofolate reductase deficiency. Europ. J. Hum. Genet (1998) 6: 257-265.
- 52- TONETTI C., BURTSCHER A., BORIES D., TULLIEZ M., ZITTOUN J.** Méthylentetrahydrofolate reductase deficiency in four siblings: a clinical, biochemical, and molecular study of the family. Am. J. Med. Genet (2000) 91: 363-367
- 53- El Saghir NS,Khalil MK,Eid T et al.** Trends in epidemiology and management of breast cancer in developing arab countries : a literature and registry analysis. Int J Surg ; 5 :225-33 (2007) .
- 54- Najjar H, Easson A.** Age at diagnosis of breast cancer in arab nations .Int Jn Surg [Epubahead of print]
- 55- Key ,T,J ,Vercasalo,P.k,BanKs,E.(2001).** Epidemiology of breast cancer. Lancet Oncol ;2 :133-40.
- 56- Wooster R, Weber BL.** Breast and ovarian cancer . N Engl JMed ; 348 :2339-47 cours de cancérologie générale du Pr J.F . HERON (2003).
- 57- M.S. Diallo ; T.S. Diallo , S.B. Diallo , N.D. Camara, G.B. Diallo ,A. Dieng, Y. Dialoo , S.T. Diaw.** Les tumeurs de sein : epidimiologie ,clinique, anatomie pathologique et pronostic. 43(5) (1996).
- 58- perkins CL, Hotes J, Kohler BA, Howe HL,** Association between breast cancer laterality and tumor location, United States, 100P, (1994-1998).

Référence Bibliographique

- 59- Tulinius H, Sigvaldason H, Olafsdottir G,** Left and right sided breast cancer. *Pathol Ros pact* ;186(1) :92-4, Feb(1990).
- 60- Gillian K Reeves, Valerie Beral, Jane Green, Toral Gathani, Diana Bulla,** Hormonal therapy for menopause and breast-cancer risk by histological type : a cohort study and méta-analysis, *the lance oncology*, 7(11) :910-918, (2006).
- 61- Ahmadou Dem, Traoré, MM Dieng, PS Diop, T Ouajdi, MT Lalami, M Diop, JM Dangou, P Touré, Institut du cancer, Université Cheik Anta Diop (Ucad) , Dakar Sénégal,** Laboratoire d'anatomie pathologique, Université Cheik anta Diop, Dakar Sénégal Gynaecological and breast cancers at the dakar cancer Institute, *Cahiers d'études et de recherches francophones-Santé*, 18(1) :25-9, (2008).
- 62- Christina Justenhoven, Ute Hamann, Christina B .Pierl, Sylvia Rabstein, Beate Pesch, Volker Harthe, Christinan Baisch, Caren Vollmert, Thomas Illig, Thomas Bru'nin, Yonko, and hilturd Brauch.** One-Carbon Metabolism and Breast Cancer Risk : No Association of MTHFR, MTR, and TYMS polymorphisms in the GENICA Study from Germany. *14(12)*(2005).
- 63- Wei-Yu Lin , Tu-Ching Chou , Mei-Hsuan Wn , Han-Bin Hung , Cho-Chish Wu, Cheng-Pungya , Jyh-Cherng Yu , Yi-Lin Jeng, Tang-Yuan Chu, Chien-Jen Chen and Chien-Ansun San-Lin You .** The MTHFR C677T Polymorphism, Estrogen Exposure and Breast Cancer Risk : A Nested Case-control Study in Taiwan. *24* :3863-3868 (2004).
- 64- Martha J. Shrubsole, Yu-Tang Gao, Qiuyin Cai , Xiao Ou Shu, Qidiai, James R. He'bert, Fan Jin, and Wei Zheng.** MTHFR Polymorphisms, Dietary Folate intake, and Breast Cancer Risk : Results from the Shanghai Breast Cancer Study. *13* :190-196 (2004)
- 65- McGlynn, K.A. Wangl. Patrick-Acevedo, N.Y. Strachan, S.D, and Kruger , W.D.** Methylene tetrahydrofolate reductase, methionines, folate , alcohol and breast cancer. *92* :11-5 (2000).
- 66- Xinran Xu , Marilie D. Gammon , Heping Zhang, Manlong Rao, Susan L. Teitelbaum, James G. Wetmur, Alfred I. Neugut, Regina M. Santella Julie A. Britton and J ia Chen.** Polymorphisms of one-carbon-metabolizing genes and risk of breast cancer in a population-based study. *28* :1504-1509 , (2007).

Référence Bibliographique

- 67- Ian G Campbell, Simon W Baxter, Diana M Eccles and David YH Choong .**
Methylenetetrahydrofolate reductase polymorfism and susceptibility to breast cancer
6 :1-4(2002).

Annexe

Annexe 1 : Classification histologique des cancers mammaires

Tableau 1 : Classification histologique des cancers mammaires préconisée par l'Organisation Mondiale de la Santé (Tavassoli, 2003)

Tumeurs épithéliales malignes
Carcinomes non infiltrants
<ul style="list-style-type: none">• Carcinome canalaire in situ (intracanaire) (CCIS)• Carcinome lobulaire in situ (CLIS)
Carcinome canalaire infiltrant de type non spécifique (canaire TNS) (40 à 75%)
<ul style="list-style-type: none">• Carcinome de type mixte• Carcinome pléomorphe• Carcinome avec cellules géantes ostéoclastiques• Carcinome avec aspects choriocarcinomateux• Carcinome avec aspects mélanocytaires
Carcinome lobulaire infiltrant (5 à 15%)
Carcinome tubuleux (2 à 7%)
Carcinome cribriforme infiltrant (0,8 à 3,5%)
Carcinome médullaire (1 à 7%)
Carcinome produisant de la mucine
<ul style="list-style-type: none">• Carcinome mucineux (2%)• Cystadénocarcinome et carcinome à cellules cylindriques sécrétantes• Carcinome à cellules en bague à chaton
Tumeurs neuroendocrines du sein (5 à 10%)
<ul style="list-style-type: none">• Carcinome neuroendocrine de type solide• Carcinoïde atypique• Carcinome à petites cellules• Carcinome neuroendocrine à grandes cellules
Carcinome papillaire infiltrant (<1 à 2%)
Carcinome micropapillaire infiltrant (<2%)
Carcinome apocrine
Carcinome métaplasique (<5%)
<ul style="list-style-type: none">• Carcinome métaplasique de type épithélial pur<ul style="list-style-type: none">• Carcinome épidermoïde• Adénocarcinome avec métaplasie à cellules fusiformes• Carcinome adénosquameux• Carcinome mucoépidermoïde• Carcinome métaplasique mixte à composante épithéliale et conjonctive
Carcinome à cellules riches en lipides (<1 à 6%)
Carcinome sécrétant (<0,15%)
Carcinome oncocytaire
Carcinome adénoïde kystique (0,5%)

Annexe

Carcinome à cellules acineuses
Carcinome à cellules claires (riches en glycogène)
Carcinome sébacé
Carcinome inflammatoire
Maladie de Paget du mamelon
Tumeurs myoépithéliales
Myoépithéliome malin
Tumeurs mésenchymateuses malignes
Hémangiopéricytome
Fibrosarcome
Schwannome malin
Angiosarcome
Liposarcome
Rhabdomyosarcome
Ostéosarcome
Léiomyosarcome
Tumeurs malignes mixtes épithéliales et conjonctives
Sarcome phyllode
Carcinosarcome
Lymphomes malins
Lymphome B diffus à grandes cellules
Lymphome de Burkitt
Lymphome du MALT de la zone marginale
Lymphome folliculaire
Métastases mammaires
Tumeurs du sein de l'homme
Carcinome in situ
Carcinome infiltrant

Annexe

Annexe 2 : syndromes cliniques de prédisposition héréditaire au cancer du sein

Syndrome (transmission)		Fréquence	Spectre tumoral	Manifestations autres	Gènes (localisation)
Prédisposition héréditaire (PH) au cancer	PH au cancer du sein et de l'ovaire (autosomique dominante)	1/500	Cancers du sein, ovaire, prostate, pancréas		BRCA1 (17q21) BRCA2 (13q12)
	Syndrome de Li-Fraumeni (autosomique dominante)	1/30 000	Cancers du sein préménopausique, sarcomes (osseux, tissus mous), tumeurs cérébrales, corticosurrénales Leucémies, cancers broncho-alvéolaires		TP53 (17p13)
	PH au cancer de l'estomac ou cancer gastrique diffus héréditaire (autosomique dominante)	?	Cancer diffus de l'estomac, cancer du sein de type lobulaire		CDH1 (16q22)
Syndrome héréditaire comportant un risque de cancer	Maladie de Cowden (autosomique dominante)	1/200 000	Cancer du sein, thyroïde Carcinome rénal à cellules claires, mélanome	Lésions cutanéomuqueuses (lésions papuleuses, papillomatose, trichilemmomes, kératose acrale), polypes hamartomateux gastro-intestinaux, goître multinodulaire, mastose fibrokystique	PTEN (10q23)
	Syndrome de Peutz-Jeghers (autosomique dominante)	1/100 000	Côlon, rectum, ovaire, testicule, sein	Polypes hamartomateux gastro-intestinaux Lentiginose buccale	STK11 (19p13)

Tableau : Principaux syndromes cliniques de prédisposition héréditaire au cancer du sein

Annexe 3 : Les mutations du gène MTHFR

❖ Le polymorphisme T1317C :

Le polymorphisme identifié au niveau de la paire de base 1317 est une substitution d'une thymine en cytosine, cette substitution n'altère pas la séquence des acides aminés.

Dans un groupe de 38 femmes canadiennes, la fréquence du variant allélique T1317C est de 0.05 et elle est de 0.39 chez 9 femmes d'origine afro-américain .

❖ **Le polymorphisme G1793A :**

Récemment Rody et al ont démontrés une substitution d'une guanine en adénine au niveau de la paire de base 1793, résultant en une substitution d'une arginine en glutamine sur le codon 594.

Il a été trouvé que la fréquence de l'allèle A est de 0.01 chez des Juifs Ashkenazi (n=155), de 0.03 chez les afro-américain (n=97), 0.07 chez les caucasiens (n=159) et 0.06 chez les hispaniques (n=95) .

❖ **Le polymorphisme T1081C :**

Chez une famille de parents consanguin avec 4 enfants présentant une hyperhomocystéinémie, une hypométhionémie et spécifiquement une protéine MTHFR non détectable au niveau des globules rouges, Tonetti et al. ont détecté la mutation T1081C au niveau de l'exon 6. Il s'agit d'une conversion d'arginine en une cystéine.

❖ **Le polymorphisme A983G :**

Chez une femme d'origine grecque, Kluijmans et al. ont identifiés une mutation homozygote au niveau du nucléotide 983 du gène MTHFR avec une sérine au lieu d'une aspergine en position 324 (N324S) de la protéine MTHFR. Sibani et al. ont montré que cette mutation diminue l'activité enzymatique de la protéine MTHFR de 36% et que l'association de cette mutation avec le polymorphisme C677T diminue l'activité de la protéine de 50%.

❖ **Le polymorphisme G1027T :**

Chez un enfant d'origine Turque, Kluitjmans et al. (114) ont identifiés une transition homozygote de G en T en position 1027 sur le gène MTHFR. Cette mutation converti un tryptophane non conservé en une glycine (W339G). Ce patient présentait aussi la mutation homozygote C677T .

❖ **Le polymorphisme T1084C :**

Une transition homozygote en position 1084 de C en T a été identifiée au niveau

Annexe

du nucléotide 1084 sur le cDNA du gène MTHFR. Cette mutation résulte en CGA (Arg) convertis en TGA (codon stop) .

❖ Le polymorphisme T1711C :

Une mutation homozygote est détectée en position 1711 du gène MTHFR résultant en un codon stop (TGA) au lieu d'arginine (CGA) chez une patiente de parents consanguins et d'origine turque .

Annexe 4 : questionnaire

Fiche de prise en charge

Date du questionnaire

Service

OM

RT

Numéro du dossier

Initiales de la patiente :

Age

poids

taille

Profession

lieu de naissance

Adresse

Tel :

Situation familiale

M

C

D

Date de la consultation

ATCD personnel

HTA

DID

DNID

Autres

ATCD familiaux

Annexe

Activité génital	AG+ <input type="checkbox"/>	AG- <input type="checkbox"/>	
Age Ménarche	Age de mariage	Age 1ere grossesse	
Nbre d'enfants vivants	Nbre de gestes	Nbre ABRT	
Contraception	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>	Type
Tabac	Passif <input type="checkbox"/>	Actif <input type="checkbox"/>	
Statut socioéconomique	Haut <input type="checkbox"/>	Moyen <input type="checkbox"/>	Bas <input type="checkbox"/>
Evolution de la maladie	Mois		
CDD de la maladie			
Type du cancer			
Date du prélèvement d'ADN		<input type="text"/>	
Date dernière consultation		<input type="text"/>	
Etat dernière consultation	sans maladie <input type="checkbox"/>	avec maladie <input type="checkbox"/>	

Annexe 5 : Technique d'extraction d'ADN :

1- Préparation des leucocytes :

- Dans un tube falcon de 50 ml, mettre le sang et compléter à 25 ml avec du TE 20 :5
laisser 10 mn dans la glace
- Centrifuger 15 mn à 3900 rpm
- Aspirer le surnageant avec la trompe à vide
- Ajouter quelques ml de TE 20 :5 au culot et le remettre en suspension avec une pastette stérile
- Compléter à 25 ml avec du TE 20 :5 et laisser 10 mn dans la glace

Annexe

- Centrifuger dans les mêmes conditions que la première fois
- Aspirer le surnageant avec la trompe à vide : obtention d'un culot leucocytaire

2- Extraction de l'ADN :

- Transvaser le culot des leucocytes dans un tube falcon de 15 ml
- Ajouter 3 ml de tompon de lyse en dilacérant le culot avec une pastette stérile
- Ajouter 200 µl de SDS à 10%
- Ajouter 100µl de protéinase K à 10 mg/ml
- Agiter le tube sur une roue à 27 °C une nuit
- Le lendemain, refroidir dans la glace
- Ajouter 1 ml de NaCl 4M et agiter vigoureusement à la main
- remettre 5 mn dans la glace (précipitation des protéines)
- Centrifuger 15 mn à 2500 rpm
- Transvaser le surnageant dans un tube falcon de 50ml, ajouter deux fois son volume d'éthanol absolu préalablement refroidi (environ 8 ml) et agiter en retournant le tube plusieurs fois : la pelote d'ADN se forme
- Laisser éventuellement 30 mn à -20°C si la pelote ne se forme pas
- Récupérer la pelote d'ADN avec une pipette pasteur et la rincer deux fois dans l'éthanol à 70 %
- Mettre la pelote dans un tube nunc

3- Solubilisation :

- Ajouter 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 (1 à 2 jour).

Annexe 6 : Réactif

- **TE 20 :5** : (Tris 20 mM, EDTA 5 mM, pH 7.5) auto clavé

Tris : 2.422 g/l

EDTA : 1.86 g/l

Annexe

Ajuster le pH avec HCL 1 N

- TE 10 :1 : (Tris 10 mM, EDTA 1mM, pH 7.4) autoclavé

Tris : 0.606 g

EDTA : 0.1869 g pour 500 ml

Ajuster le pH avec de l'HCL 1 N

- Tompon de lyse : NaCl 400mM

EDTA 2mM

Tris 10mM

pH 8.2

- SDS 10%

- Protéinase K : Protéinase K : 10 mg/ml H₂O

Conservation aliquote de 1 ml à -20°C, tube entamés à +4°C

- NaCl 4M

- Ethanol absolu

- Ethanol 70%

- Bleu de Bromophénol (BBP) : BBP 20mg

Tris 0.5M : 2ml

Glycerol : 5ml

PH 7.5

Qsp 10 ml H₂O

TBE 10X: Tris 108g

Acide borique 55g

Ajuster le PH à 8.3 avec l'acide acétique glacial

EDTA 9.3g

QSP 1L H₂O

Dilutions des solutions mères utilisées pour la PCR :

- dNTP solution mère (25 mM)

dNTP solution fille 2.5 mM : 10 ml de dNTP solution mère + 90 ml H₂O

(Dilution au 1/10 ième)

- MgCl₂ solution mère 50mM

MgCl₂ solution fille 25mM : 1 volume MgCl₂ + 1 volume H₂O (dilution 1/2).

Annexe

Annexe 7:

Tableau : Préparation du milieu réactionnel de la PCR

constituants	Volume
Tampon (10X)	5 μ L
DNTP (2mM)	5 μ L
MgCl ₂ (25mM)	3 μ L
Amorce F (100 μ M)	0.2 μ L
Amorce R (100 μ M)	0.2 μ L
Taq polymérase (5U/ μ L)	0.4 μ L
Eau distillée stérile	5.2 μ L

Annexe 8 :

Tableau : Préparation du gel d'agarose 2%

Composition du gel d'agarose 2%	Quantité
Agarose	2g
TBE (X1)	QSP 100
BET (Bromure d'ethidium)	10 μ l

Annexe 9 :

Tableau : préparation du milieu de digestion par l'enzyme HinfI

Milieu de digestion	Quantité en ml
Tampon	4
HinfI	1
H ₂ O	5
BSA	0.2
Volume total	10
Produit de PCR	30

Annexe

Résumé

Plusieurs études épidémiologiques ont montré que la déficience en folates peut provoquer des lésions de l'ADN conduisant à une instabilité génétique et l'augmentation du risque de plusieurs cancers, notamment le cancer du sein. La MTHFR est une enzyme clé dans le métabolisme des folates. Le statut cellulaire en folates dépend non seulement de l'apport alimentaire en folates mais aussi de déterminants génotypiques. Le polymorphisme du gène C677T de la MTHFR peut conduire à une activité réduite et être un facteur de risque. L'objectif de notre travail était d'explorer l'association possible entre la variante du gène de la MTHFR C677T, et la survenue du cancer du sein chez les patientes admises au service d'Oncologie médicale du Centre Anticancéreux de Constantine.

Patientes et méthodes

L'ADN génomique a été extrait à partir du sang total périphérique de 50 sujets, 25 patientes atteintes d'un cancer du sein admise au service d'oncologie médicale du CHUC et 25 femmes présumées saines, sur des tubes acide éthylène diamine tétraacétique (EDTA), suivant la technique au NaCl

La Détection du polymorphisme de la MTHFR a été réalisée par PCR- RFLP ou (Polymérase Chaîne Réaction - restriction fragment length polymorphism), utilisant l'enzyme de restriction Hinf I .

Résultats

Malheureusement nous avons pas obtenu des résultats concernant l'étude du polymorphisme du gène C677T de la MTHFR parce que nous avons rencontré un problème technique. Nous avons procédé à l'analyse des résultats qui ont été réalisés auparavant au niveau du laboratoire de biologie et génétique moléculaire.

La distribution des génotypes CC, CT et TT correspondait respectivement aux proportions 40%, 55% et 5%. L'odds-ratio pour le génotype CC était 1,42 (95%IC= 0,42- 4,85) L'odds-ratio pour les génotypes TT et CT était respectivement et 1,26 (95% IC=0,07-21,49) et 0,69 (95% IC 0,21- 2,29). La prévalence de l'allel (677T) (CT+TT) dans cette population était de 0,71(95% IC 0,21-2,42). Nous avons retrouvé une plus grande incidence 1,26 fois de génotype TT et 0,69 fois de génotype CT chez les patients par rapport au sujets sains. Nous avons également objectivé une modeste augmentation du risque de cancer du sein chez les individus avec le génotype TT comparé à la population générale (OR=1,26 ; 95% IC=0,07- 21,49).

Abstract

Several epidemiological studies have shown that folate deficiency may cause DNA damage leading to a genetic instability and increased risk of several cancers, including breast cancer. MTHFR is a key enzyme in folate metabolism . , The cell folate status depends not only on the dietary intake of folate but also genotypic determinants. The discomfort C677T MTHFR polymorphism may lead to reduced activity and be a risk factor. The aim of our study was to explore the possible association between the gene variant of MTHFR C677T , and breast cancer occurred among patients admitted to the Medical Oncology Service Anticancer Center Constantine.

Patients and methods

Genomic DNA was extracted from whole peripheral blood of 50 subjects , 25 patients with breast cancer admitted to the Medical Oncology Service CHUC and 25 healthy women alleged , on ethylene diamine tetraacetic acid tubes (EDTA) following the technique NaCl.

Detection of MTHFR polymorphism was performed by PCR- RFLP (polymerase chain reaction - restriction fragment length polymorphism) , using the Hinf I restriction enzyme.

results

Unfortunately we have not achieved results concerning the study of gene C677T MTHFR polymorphism because we have a technical problem . We analyzed the results that have been achieved previously at the biology and molecular genetics laboratory.

The distribution of genotypes CC , CT and TT respectively correspond to the proportions 40 % , 55% and 5%. The odds ratio for the CC genotype was 1.42 (95% CI = 0,42- 4,85) The odds ratio for CT and TT genotypes was respectively 1.26 (95 % CI = 0, 07 to 21.49) and 0.69 (95 % CI 0,21- 2,29) . The prevalence of allele (677T) (CT + TT) in this population was 0.71 (95 % CI 0.21 to 2.42) . We found a greater incidence of TT genotype 1.26 times and 0.69 times CT genotype in patients compared to healthy subjects. We also objectified a modest increase in risk of breast cancer in individuals with the TT genotype compared with the general population (OR = 1.26 ; 95% CI = 0.07 to 21.49) .

ملخص

قد أظهرت العديد من الدراسات الوبائية أن نقص حمض الفوليك قد يسبب التلف في الحمض النووي مما يؤدي إلى عدم الاستقرار الجيني وزيادة خطر الإصابة بعدة أنواع من السرطان بما فيها سرطان الثدي . MTHFR هو الأنزيم الرئيسي في استقلاب حمض الفوليك . وضع حمض فوليك الخلية لا يتوقف فقط على المدخول الغذائي من حمض الفوليك ولكن أيضا على المحددات الوراثية . فقد يؤدي تعدد الأشكال الجين C677T من MTHFR إلى انخفاض النشاط و يكون عامل خطر .

وكان الهدف من دراستنا اكتشاف الارتباط المحتمل بين التنوع C677T من الجين MTHF، و سرطان الثدي بين المرضى الذين تم إدخالهم إلى قسم علم الأورام الطبية المضادة للسرطان بالمستشفى الجامعي بقسنطينة.

المرضى و الطرق

تم استخراج عينات DNA من الدم المحيطي ل 50 شخصا، 25 مريضا يعانون من سرطان الثدي على مستوى مركز الاورام والامراض السرطانية بالمستشفى الجامعي قسنطينة و 25 امرأة سليمة ، في أنابيب حمض الإثيلين ديامين EDTA بتقنية كلوريد الصوديوم

تم إجراء الكشف عن تعدد الأشكال MTHFR بواسطة تقنية PCR- RFLP ، وذلك باستخدام انزيم القص

Hinf I

النتائج

لسوء الحظ لم نحقق النتائج المتعلقة بدراسة تعدد أشكال الجينات C677T من MTHFR بسبب مشكلة تقنية. قمنا بتحليل النتائج التي تم تحقيقها سابقا في مختبر البيولوجيا و علم الوراثة الجزيئي.

توزيع المورثات CC، CT و TT تتوافق على التوالي إلى النسب 40% و 55% و 5%. وكانت نسبة الأرجحية للنمط الجيني CC 1.42 (IC=0.42-4.85) 95% وكانت نسبة الأرجحية لمورثات CT و TT على التوالي 1.26 (CI = 0 95% ، 07-21، 49) و 0.69 (CI 0 95% ، 21-29، 21). و كان انتشار الاليل (CT+TT) (677T) 0.71 (95% IC 0,21-2,42) . في هذه الفئة من العينات وجدنا تزايد في النمط الجيني TT 0.69 مرة و 1.26 مرة CT بالنسبة للمرضى مقارنة مع الأشخاص الاصحاء. ومنه موضوعيا نلاحظ زيادة متواضعة في مخاطر الإصابة بسرطان الثدي في الأشخاص الذين يعانون من النمط الجيني TT مقارنة مع كل العينات (OR = 1.26 ، CI = 0 95% ، 07، 49 حتي 21، 49).

Année Universitaire : 2014-2015	Présentée par :CHELGOUM Dounia Zed CHELGOUM Amina
Polymorphisme C677T du gène de la MTHFR et risque de cancer du sein	
mémoire pour l'obtention du diplôme de Master 2 en Génétique moléculaire	
<p>Plusieurs études épidémiologiques ont montré que la déficience en folates peut provoquer des lésions de l'ADN conduisant à une instabilité génétique et l'augmentation du risque de plusieurs cancers, notamment le cancer du sein. La MTHFR est une enzyme clé dans le métabolisme des folates. Le statut cellulaire dépend non seulement de l'apport alimentaire en folates mais aussi de déterminants génotypiques. Le polymorphisme C677T du gène de la MTHFR peut conduire à une activité réduite et être un facteur de risque.</p> <p>L'objectif de notre travail était d'explorer l'association possible entre la variante du gène de la MTHFR C677T, et la survenue du cancer du sein chez les patientes admises au service d'Oncologie médicale du Centre Anticancéreux de Constantine.</p> <p>Patientes et méthodes</p> <p>L'ADN génomique a été extrait à partir du sang total périphérique de 50 sujets, 25 patientes atteintes d'un cancer du sein admise au service d'oncologie médicale du CHUC et 25 femmes présumées saines, sur des tubes acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA), suivant la technique au NaCl. La Détection du polymorphisme de la MTHFR a été réalisée par PCR- RFLP ou (Polymérase Chaîne Réaction - restriction fragment length polymorphism), utilisant l'enzyme de restriction Hinf I .</p> <p>Résultats</p> <p>Malheureusement, un problème technique est survenu et nous n'avons pas pu analyser les résultats concernant l'étude de polymorphisme du gène C677T de la MTHFR. Par conséquence nous avons procédé à l'analyse des résultats qui ont été réalisés auparavant au niveau du laboratoire de biologie et génétique moléculaire.</p> <p>La distribution des génotypes CC, CT et TT correspondait respectivement aux proportions 40%, 55% et 5%. L'odds-ratio pour le génotype CC était 1,42 (95%IC= 0,42- 4,85) L'odds-ratio pour les génotypes TT et CT était respectivement 1,26 (95% IC=0,07-21,49) et 0,69 (95% IC 0,21- 2,29). La prévalence de l'allel (677T) (CT+TT) dans cette population était de 0,71(95% IC 0,21-2,42). Nous avons retrouvé une plus grande incidence 1,26 fois de génotype TT et 0,69 fois de génotype CT chez les patientes par rapport au sujets sains. Nous avons également objectivé une modeste augmentation du risque de cancer du sein chez les individus avec le génotype TT comparé à la population générale (OR=1,26 ; 95% IC=0,07-21,49).</p>	
Mots clés : cancer du sein, MTHFR, polymorphisme, mutation C677T	
Laboratoire de recherche : Laboratoire de biologie et génétique moléculaire (FMUC3)	
<p>Jury d'évaluation :</p> <p>Président du jury : SATTÀ Dalila (Professeur- Université Constantine 1)</p> <p>Rapporteur : BOUDAOUED Khadija (MCA H.U Faculté de médecine UC3).</p> <p>Co encadreur : BOUCENNA Amira (Doctorante Université Constantine1).</p> <p>Examineurs : TALEB SELOUA (MA H.U Faculté de Médecine UC3)</p>	
Soutenu publiquement le mercredi 01-07-2015	