

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 :

Etude génétique et épidémiologique du cancer du cavum

Présenté et soutenu par : BOUZNAD ROMAÏSSA

Le : 01/07/2015

BENAMIRA NARIMENE

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : SATT A D. Professeur, U. des Frères Mentouri Constantine

Rapporteur : DJEKKOUNE R. Maître de Conférences A, Université Constantine 3

Examinatrices : SEMMAME O. Maître assistante U. des Frères Mentouri Constantine

MEZIANE A. Maître assistante, Université Constantine 3

Année universitaire
2014 - 2015

Avant tout nous devons nos remerciements à notre DIEU le tout puissant de nous avoir donné la force, le courage et la patience pour terminer ce travail.

Remerciements

Nous tenons à exprimer notre reconnaissance à Mr DJEKKOUN R. professeur en oncologie au CHUC qui a permis de réaliser ce travail sous sa direction. Nous le remercions pour l'aide qu'il nous a apporté et le temps précieux qu'il nous a accordé tout au long du travail.

A Mme TOUATI SABRINA pour ses conseils, son aide et surtout pour sa gentillesse.

Nous remercions Mr le Pr ABADI N., pour nous avoir accueillies dans le laboratoire de Génétique et Biologie moléculaire.

Nous remercions également Pr BENLETRECHE pour nous avoir permises de manipuler au laboratoire de Biochimie.

Nous voudrions adresser un grand et spécial remerciement à Mme SATTI D., responsable de la filière « Génétique moléculaire » pour sa disponibilité, ces orientations, son écoute et son immense gentillesse durant ce travail et tout au long de notre cursus.

Nos remerciements s'adressent également à Mme SEMMAM O., et Mme MEZIANE A., pour l'honneur qu'elles nous font d'accepter d'évaluer notre travail

Nos sincères remerciements vont également :

A Tous nos professeurs de l'option Génétique Moléculaire qui ont contribué à notre formation. Veuillez trouver ici l'expression de notre profonde gratitude.

A Tout le personnel du laboratoire de biologie moléculaire CHUC.

A tout le personnel du service d'oncologie-radiothérapie CHUC.

Enfin nous tenons à remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'aboutissement de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce mémoire à ...

A la mémoire de mon frère Mohamed el Amine,

Que ce travail soit une prière pour le repos de son âme.

A mes très chers parents,

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma reconnaissance pour les sacrifices que vous n'avez cessés de me donner.

Que dieu puisse vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

A ma très chère sœur Yasmine,

Ta compréhension et ton soutien moral me resteront toujours en mémoire.

Je te souhaite tout le succès et le bonheur du monde.

A mon frère Rafik

Pour toute l'aide que vous m'avez apportée durant la préparation de ce mémoire

Veillez Trouver ici l'expression de ma profonde gratitude.

A mon binôme

Romaissa *qui a partagé avec moi les moments difficiles de ce travail.*

A toutes mes copines

Votre affection et votre soutien m'ont toujours été d'un grand secours. Je ne vous remercierai jamais assez pour votre amabilité, votre générosité et votre aide précieuse.

A tous ceux qui ont souffert et qui souffrent de cette maladie.

A tous ceux que J'ai omis de citer, je vous dédie ce travail en guise d'estime.

Narimene.

Je dédie ce mémoire...

Pour tes prières,

Ton soutien

Et tes encouragements,

*À toi **maman**, ma lumière dans les sentiers ténébreux, je dédie ce travail en gage de mon amour sans bornes.*

*À toi **papa**, la source à laquelle j'ai toujours puisé patience et courage.*

Vos conseils, Vos directives, étaient la lumière qui éclairait mon chemin.

*À ma chère petite sœur **NORHANE***

*À mes chers frères **OUSSAMA**,*

*Et **FAHDEDDINE**.*

*Pour tes efforts **SOULEIMANE**,*

*À ma petite nièce **ASSYL**.*

À ma chère grand-mère maternelle, mon grand-père et grand-mère paternels.

À mes oncles et tantes, cousins et cousines.

À mes chères amies d'enfance

INES et MERZAKA

*À mes chères amies: **SOUHEILA, IMEN et YAMINA***

*À ma chère **NARIMENE**, mon amie, mon binôme, avec qui je partageais les bons et les mauvais moments au cours de la réalisation de notre mémoire.*

À tous les étudiants de ma promotion

À tous ceux qui me sont chers et dont j'ai omis de citer le nom.

À tous ceux qui ont collaboré de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Romaissa.

Sommaire

Liste des figures

Liste des abréviations

INTRODUCTION..... 1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1: Le cavum

1. Généralités sur les VADS 2

2. Anatomie du cavum 3

2.1 Rappel anatomique et physiologique 3

2.2 Parois du cavum 4

2.3 Vascularisation et innervation du cavum 6

3. Histologie du cavum..... 6

3.1 Un fascia externe 6

3.2 Des muscles constricteurs 6

3.3 Un fascia interne..... 6

3.4 Une muqueuse 6

CHAPITRE 2: Cancer du cavum

1. Epidémiologie et étiologie 8

1.1 Origine ethnique 8

1.2 Incidence 8

1.3 Sex-ratio 9

1.4 Âge 9

1.5 Facteurs de risque..... 9

2. Anatomie pathologique 11

2.1 Microscopie 11

2.2 Macroscopie 11

3. Diagnostic..... 11

3.1 Signes cliniques..... 11

3.2 Examen Clinique 12

3.3 Examens complémentaires 12

4. Traitement	13
5. Pronostic.....	13

CHAPITRE 3: Génétique du cancer du cavum

1. Gènes de prédisposition	14
1.1 Le complexe majeur d'histocompatibilité humain classe (HLA1)	14
1.2 Gènes d'oxydation et de détoxification	15
1.3 MTHFR	16
2. Les oncogènes	17
3. Gènes suppresseurs de tumeur	18
4. Le virus Epstein-Barr.....	20
4.1 Rappel sur le virus EBV	20
4.2 NPC et EBV.....	21

PARTIE PRATIQUE

Matériels et méthodes

I. Partie épidémiologique	22
II. Partie génétique	22
III. Partie moléculaire	23
1. Prélèvements sanguins	23
2. Extraction de l'ADN	23
3. Génotypage de la MTHFR	24

Résultats et discussion

I. Partie épidémiologique	28
1. Répartition selon le sexe.....	28
2. Répartition selon l'âge	28
3. Répartition selon la wilaya d'origine	29
4. Répartition par rapport aux autres cancers des VADS	29
5. Répartition selon les antécédents personnels	30

6. Répartition selon les antécédents familiaux	31
7. Répartition selon le facteur de risque alcoolo-tabagique.....	31
8. Répartition selon le type histologique.....	32
II. Arbre Généalogique	33
III. Partie moléculaire	34
CONCLUSION	35
Références bibliographiques	36
Annexes	
Résumés	

Liste des figures

Figure 1: Coupe sagittale médiane tête et cou	2
Figure 2 : Les trois parties du pharynx	4
Figure 3: Coupe sagittale médiane du cavum.....	5
Figure 4 : Coupe axiale passant par le cavum	5
Figure 5: Nasopharynx : Epithélium cylindrique	7
Figure 6 : Répartition mondiale du cancer du cavum.....	8
Figure 7: Répartition des cas de cancer du cavum selon le sexe.....	28
Figure 8 : Répartition des cas de cancer du cavum selon la Wilaya d'origine.....	29
Figure 9 : Répartition des cas par rapport aux autres cancers des VADS.....	30
Figure 10 : Répartition des cas de cancer du cavum selon les antécédents personnels.....	30
Figure 11: Répartition des cas de cancer du cavum selon les antécédents familiaux	31
Figure 12: Répartition des cas de cancer du cavum selon le facteur alcoolo-tabagique	32
Figure 13: Répartition des cas de cancer du cavum selon le type histologique	32
Figure 14 : Arbre généalogique d'une famille présentant deux cas de CNP.....	33

Liste des abréviations

ADPs: Adénopathies

BBP: Bailey-Borwein-Plouffe

Bcl-2: B-cell CLL/lymphoma 2

BET: Bromure d'éthidium

BLU: Polycomb ring finger oncogene

Bmi-1: Insertion region 1 homolog

BRD7: Bromodomain containing 7

CNP: Cancer du nasopharynx

CCND1: La Cycline D1

CDDP: Cisplatine

CIRC: Centre international de recherche sur le cancer

CYP: Désoxyadénosine triphosphate

EA: EarlyAntigen

EBV: Virus d'Epstein Barr

EDTA: Ethylenediaminetetraacetic acidouacideéthylène

ECG: Electrocardiogramme

EGFR: Epidermal Growth Factor

EBNA: Epstein-Barr Nuclear Antign

FU: Fluorouracil

FOXO3: Forkhead box O3

HIF-1: Hypoxia-inducible factor 1-alpha

FHIT: Fragile histidine triad protein

GST: Glutathione s- transférase

IRM: Imagerie par résonance magnétique

LB: Lymphome de Burkitt

Let-7: Lethal-7

LMNH: Lymphome malin non hodgkinien

LMP1: Membrane de la protéine Latente 1

LT β R: Récepteur Lymphotoxin- β

MALT: Tissu lymphoïde associé aux muqueuses

MgCl₂:Chlorure de magnésium

miARN: Micro- acide ribonucléique

MTHFR: L'enzyme 5,10-méthylènetétrahydrofolate réductase

NaCl: Chlorure de sodium

NB: Nanobactéries

NF κ B: Nuclear factor-kappa B

NH₄: Ion ammonium

nm23: Nonmetastatic gene 23

NTP: *Network Time Protocol*

OMS: Organisation mondiale de la santé

ORL: Oto-rhino-laryngologie ou otorhinolaryngologie

PCR: Polymerasechainreaction ou Réaction en chaîne parpolymérase

PET-scan: Positron emissiontomography-scan

PIK3CA:Phosphatidylinositol 3-kinase A

Pr: Proline

RASSF1A:Ras association domainfamily 1 isoform A

SPLUNC: Short palate lung and nasal epithelial clone 1

SDS: Sodium dodecyl sulfate

TBL1XR1: Transduction (beta)-like 1 X-linked receptor 1

TDM: Le scanner ou tomодensitométrie

TM4SF: Transmembrane 4 superfamily

TNFR: les récepteurs du facteur de nécrose tumorale

UCNT: Carcinome épidermoïde indifférencié du nasopharynx

UICC: Union Internationale de Classification des Cancers

VADS: Voies aéro-digestives supérieures

VCA: Viral Capside Antigen

Wip1: Wild-type p53-induced phosphatase *gene1*

XRCC1: X-ray repair cross-complementing protein 1

INTRODUCTION

Le cancer du cavum (ou du nasopharynx) constitue une entité clinique, biologique et histologique qui se singularise des autres carcinomes de la tête et du cou par sa relation avec le virus Epstein Barr (EBV), sa répartition géographique, sa radiocurabilité et sa chimio-sensibilité (1).

Il représente un des cancers les plus importants dans notre pays, avec une incidence moyenne de 8 à 12 cas/100 000 habitants par an (2) constituant ainsi le premier cancer ORL.

Bien que l'étiologie de ce cancer ne soit toujours pas bien élucidée, il est devenu de plus en plus clair qu'il s'agit d'une maladie multifactorielle résultant des effets conjugués de virus d'Epstein-Barr (EBV), des expositions environnementales et de la susceptibilité génétique (3) Servant ainsi comme un modèle fascinant pour comprendre l'interaction complexe entre les facteurs environnementaux, viraux, et génétiques dans la tumorigénèse humaine (4).

Récemment, plusieurs modifications génétiques et épigénétiques ont été identifiées comme étant associées à la tumorigénèse du cavum. Cependant, les informations concernant la nature des gènes impliqués ainsi que le mécanisme moléculaire de cette maladie restent limitées.

Notre travail avait comme objectifs :

- D'étudier l'aspect épidémiologique du cancer du cavum à partir des dossiers de patients traités au service d'oncologie-radiothérapie du CHU Constantine entre janvier 2013 et décembre 2014.

- D'enquêter la présence de cas familiaux de cancer du nasopharynx au sein du CHUC.

- D'investiguer l'implication du polymorphisme C677T de la *MTHFR* dans la tumorigénèse du cavum à travers une analyse moléculaire sur du sang prélevé de patients atteints de ce cancer.

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE. I

LE CAVUM

1. Généralités sur les VADS :

Les voies aéro-digestives supérieures (VADS) comportent les cavités nasales et sinusiennes, la cavité buccale, le pharynx (divisé en trois parties : le rhino-pharynx, l'oropharynx et l'hypopharynx), et le larynx (divisé en trois parties : la glotte comprenant les cordes vocales, la sus-glotte et la sous-glotte) (5).

Les cancers des voies aéro-digestives supérieures (VADS) sont les sixièmes cancers les plus fréquents dans le monde (6). Ils forment un groupe hétérogène de tumeurs développées surtout à partir des muqueuses aériennes ou digestives, ce qui explique que le type majoritaire soit le carcinome épidermoïde (7).

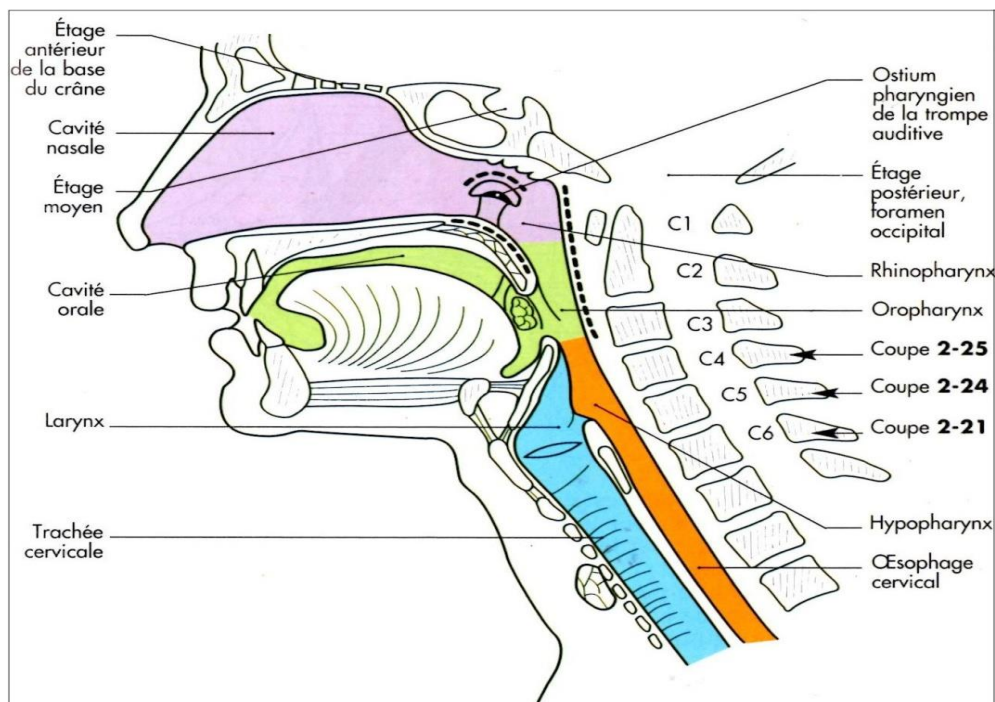


Figure 1: Coupe sagittale médiane tête et cou (8).

2. Anatomie du cavum

2.1- Rappel anatomique et physiologique

Le cavum (nasopharynx ou rhinopharynx) est la partie supérieure du pharynx, exclusivement aérienne et non digestive qui communique en avant, par les choanes, avec les cavités nasales (**BonfilsP et ChevalierJ., 2005**).C'est une cavité de forme grossièrement cubique avec six faces, mesurant environ 3 cm sur l'axe vertical, 2 cm sur l'axe antéro-postérieure et de 4 à 4,5cm sur l'axe transversal, avec une capacité d'environ 14cm³(**9**).

Il est limité :

- en haut par la base du crâne ;
- en arrière par le rachis cervical ;
- en avant par les choanes (orifice postérieur des fosses nasales) ;
- en bas par l'oropharynx.

Il communique également avec les cavités de l'oreille moyenne par l'intermédiaire de la trompe d'eustache qui s'ouvre dans sa paroi latérale (**7**).

Le cavum est un lieu de passage, notamment pour l'air, entre les fosses nasales et le pharynx. Il sert aussi de cavité de résonance pour la voix parlée ou chantée (**10**). Bien que ses dimensions puissent changer, il ne peut se fermer complètement. Par opposition du voile du palais contre la paroi postérieure du pharynx, le rhinopharynx peut être isolé complètement de l'oropharynx. Ce mouvement s'effectue lors de la déglutition, car normalement aucune substance alimentaire ne doit entrer dans le rhinopharynx (**11**).

Sa muqueuse est de type malpighien digestif dans les 2/3 postérieurs et de type cylindrique respiratoire dans 1/3 antérieur. Ceci du moins chez l'enfant puisque, en fait, elle métaplasie sous l'effet des infections répétées et presque totalement de type épidermoïde chez l'adulte (**5**).

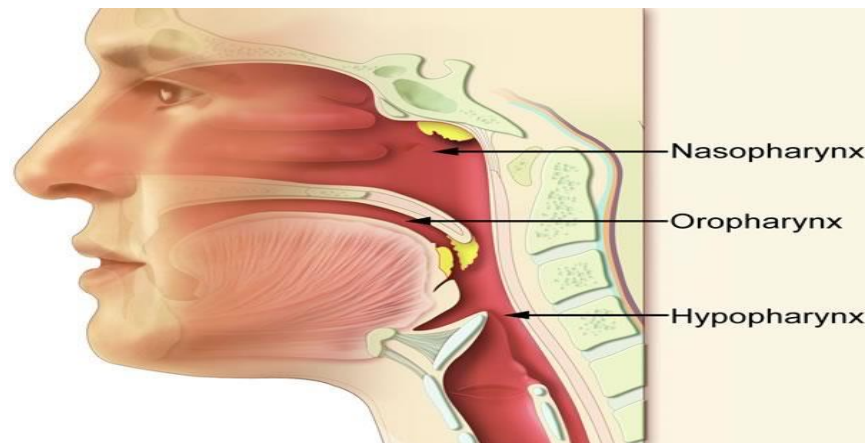


Figure 2 : Les trois parties du pharynx (1i).

2.2- Parois du cavum

- **Paroi supérieure**

La paroi supérieure du rhinopharynx a la forme d'une voûte inclinée en bas et en arrière et se poursuivant en pente douce par la paroi postérieure. Cette voûte est osseuse et correspond aux deux tiers postérieurs de la face inférieure du sphénoïde et de la partie basilaire de l'os occipital. Son rapport essentiel est le sinus sphénoïdal.

- **Paroi postérieure**

La paroi postérieure prolonge en arrière la paroi supérieure. Elle est constituée en haut de la partie basilaire de l'os occipital et en bas de la membrane atlanto-occipitale qui relie la partie basilaire de l'os occipital à l'atlas.

Cette membrane est recouverte latéralement par les muscles longs du cou et longs de la tête. La tonsille pharyngienne peut déborder sur la paroi postérieure du rhinopharynx. Le rapport essentiel de cette paroi est la région rétropharyngée puis la fosse cérébrale postérieure.

- **Paroi antérieure**

La paroi antérieure du rhinopharynx correspond aux deux orifices postérieurs de la cavité nasale dénommés choanes, séparés sur la ligne médiane par le bord dorsal du vomer constituant la partie postérieure du septum nasal (8).

- **Paroi inférieure**

La paroi inférieure du rhinopharynx est formée par la face supérieure du voile du palais et n'existe qu'au moment de la déglutition, lors du redressement de la cloison musculo-aponévrotique.

- **Parois latérales**

Ce sont des parois musculo-aponévrotiques, caractérisées en avant par la présence de l'ostium pharyngien de la trompe auditive qui forme une saillie évasée en forme de pavillon et en arrière par la présence du récessus pharyngien ou fossette de Rosenmüller (9).

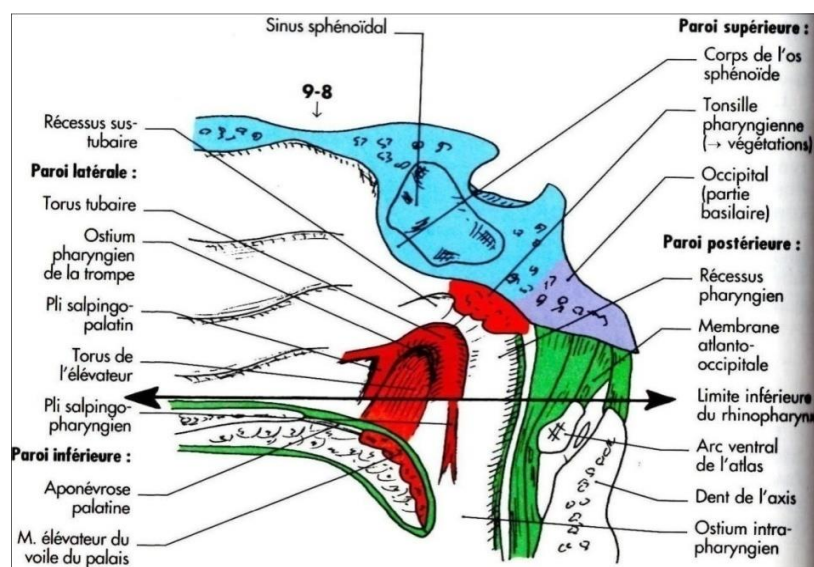


Figure 3: Coupe sagittale médiane du cavum(8).

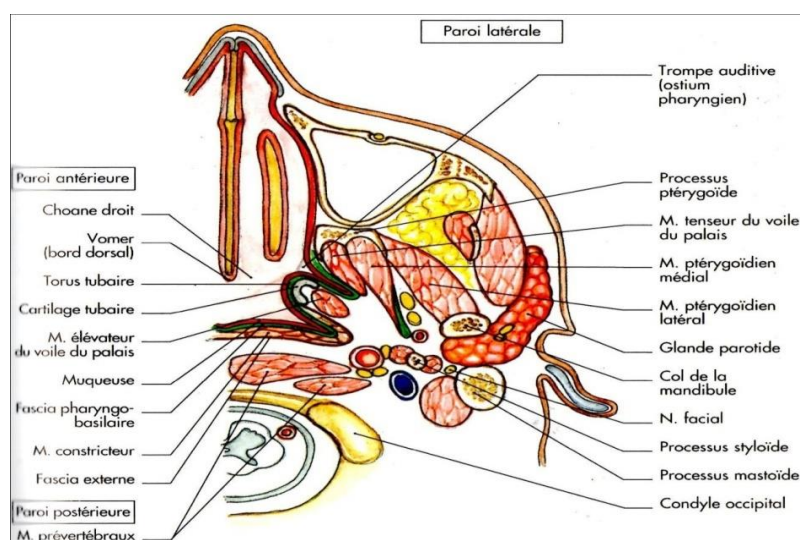


Figure 4 : Coupe axiale passant par le cavum(8).

2.3- Vascularisation et innervation du cavum

La vascularisation du rhinopharynx est assurée par des branches de l'artère carotide externe : l'artère pharyngienne ascendante, palatine ascendante ou des branches de l'artère maxillaire. Le drainage lymphatique se fait par l'intermédiaire des nœuds rétropharyngés et des nœuds jugulo-digastriques (8).

3. Histologie du cavum

La paroi du nasopharynx est constituée de dehors en dedans par :

- 3.1- **Un fascia externe** séparant l'axe musculaire des espaces profonds de la face. C'est une mince lame de tissu conjonctif.
- 3.2- **Des muscles constricteurs** supérieur et moyen du pharynx qui forment une gouttière recouverte par deux fascias. L'espace situé entre ces deux fascias est un espace de glissement permettant la mobilité du pharynx lors de la déglutition. Les différents muscles constricteurs s'imbriquent comme les tuiles d'un toit.
- 3.3- **Un fascia interne** séparant la muqueuse du plan musculaire, dénommé fascia pharyngo-basilaire. C'est une couche conjonctive épaisse et résistante.
- 3.4- **Une muqueuse** comprenant un épithélium et un chorion (8).
 - **L'épithélium** tapissant le rhinopharynx est soit cylindrique pseudo-stratifié, cilié, soit pavimenteux stratifié, ce dernier existant dans les régions où la surface est sujette aux frottements, par exemple : sur le bord postérieure du pharynx, là où les deux surfaces viennent au contact durant le mouvement de déglutition. Ailleurs, on trouve un épithélium du type voies respiratoires avec quelques cellules caliciformes.

- **Le chorion** de la muqueuse nasopharyngée contient beaucoup de tissu élastique, spécialement à l'extérieur, là où il est en contact avec les muscles striés constricteurs du pharynx. Une sous muqueuse lâche n'existe que dans les parties latérales du rhinopharynx. On trouve des glandes dans le chorion, principalement muqueuses mais parfois aussi séreuses et mixtes (11).

Le tissu lymphoïde associé aux muqueuses (MALT) est abondant dans le chorion du nasopharynx, il constitue l'un des éléments de l'anneau de Waldeyer. Ce tissu lymphoïde prélève du matériel antigénique dans l'air inspiré et prépare la réponse immunitaire envers ces antigènes (12).

Des follicules lymphoïdes vrais existent dans la partie postérieure du rhinopharynx (végétations ou amygdales pharyngées), de chaque côté de la jonction

de la cavité buccale et de l'oropharynx (amygdales palatines) et dans la racine de la langue (amygdales linguales). Les amas de tissu lymphoïde, situés latéralement dans le rhinopharynx autour des ouvertures des trompes d'Eustache sont quelquefois de taille suffisante pour mériter le nom « d'amygdales tubaires »(11).

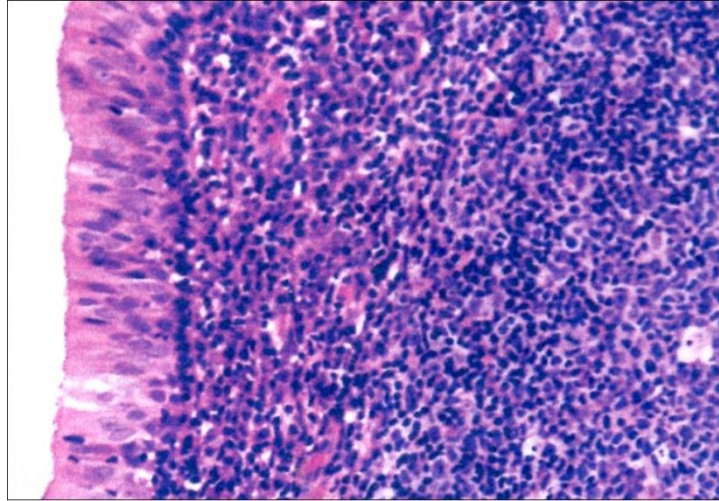


Figure 5:Nasopharynx : Epithélium cylindrique cilié haut, chorion riche en tissu lymphoïde (12).

CHAPITRE. II
CANCER DU CAVUM

1. Epidémiologie et étiologie

1.1 Origine ethnique

La répartition géographique du cancer du cavum est caractéristique et permet de définir:

- **Des zones à haut risque:** Représentées par la Chine du Sud, le Sud-est Asiatique (Philippine, Indonésie, Malaisie, Singapour), le Groenland et l'Alaska.
- **Des zones à risque intermédiaire :** Représentées par les pays du Nord de l'Afrique particulièrement les pays de Maghreb et le pourtour méditerranéen.
- **Des zones à faible risque :** Représentées par le reste du globe (13).

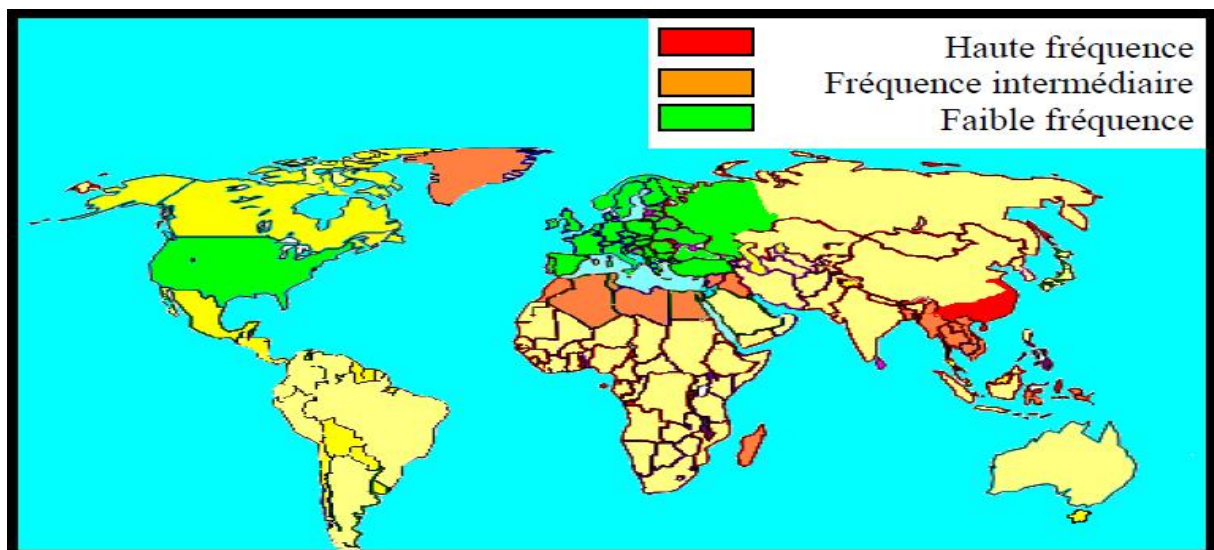


Figure 6 : Répartition mondiale du cancer du cavum. L'Algérie se situe dans la zone de fréquence intermédiaire (14).

1.2- Incidence

Selon les statistiques rapportées par le centre international de recherche sur le cancer (CIRC), plus de 84,000 nouveau cas de carcinome du nasopharynx (CNP) apparaissent chaque année, parmi lesquels 80 % sont localisés en Asie et 5% en Europe (15).

Le cancer du cavum représente un des cancers les plus importants dans notre pays, avec une incidence moyenne de 8 à 12 cas/100 000 habitants par an. Il représente en Algérie et en Tunisie le premier cancer des voies aérodigestives chez la femme et le deuxième après le cancer du larynx chez l'homme (2).

1.3- Sex-ratio

Plus fréquent chez l'homme, avec une sex-ratio de 2 à 3 **(13)**.

1.4- Âge

L'âge d'apparition est très variable, ce cancer pouvant toucher le sujet jeune (20ans), comme le sujet âgé (70ans). L'âge moyen est d'environ 40 ans **(16)**.

1.5- Facteurs de risque

1.51- Facteurs environnementaux

- **Le virus d'Epstein Barr**

La grande majorité des cas de ce cancer, en particulier les carcinomes épidermoïdes indifférenciés est 100% liée à l'infection par le virus d'Epstein Barr (EBV) **(17)**.

Il est donc associé à une élévation du taux d'anticorps Epstein Barr qui s'abaisse après un traitement radio-thérapeutique et réapparaît en cas de récurrence. Ce taux d'anti EBV constitue donc un excellent élément de diagnostic et de surveillance **(18)**.

- **Les Nanobactéries**

Les Nanobactéries (NB) une nouvelle classe de bactérie gram positif dont la coexistence avec EBV a été observée dans les tissus des CNP, Semble jouer un rôle important dans la tumorigenèse de ce dernier **(19)**.

- **L'exposition professionnelle**

Le formaldéhyde est un composé chimique utilisé dans les produits de bois pressé, la colle et les adhésifs, la pâte, le papier, la finition textile, etc. Dans les études épidémiologiques, la plupart des études cas-témoins ont signalé des risques élevés de CNP associés au formaldéhyde. En outre, des études de cohortes de travailleurs exposés au formaldéhyde ont trouvé une surmortalité significative par cancers du cavum.

Des excès de risque de CNP ont été observés pour plusieurs catégories de travailleurs, telles que les peintres et les agriculteurs, entre autres. Mais les substances spécifiques responsables de cette association n'ont pas été identifiées **(20)**.

1.5.2. Facteurs alimentaires

L'exposition, tôt dans la vie aux salaisons et aux fumaisons constitue une cause de CNP dans la population chinoise et maghrébine (El khlii = viande séchée). Ce sont les nitrosamines contenus dans ces derniers qui sont incriminés. Il existe également une relation entre les aliments épicés ou contenant de la harissa et le CNP (1).

L'association du beurre rance et de la graisse rance du mouton avec le cancer du cavum observée en Afrique du Nord, peut suggérer un autre composé cancérigène, l'acide butyrique. Ce dernier est connu par sa capacité d'activer le virus d'Epstein Barr (20).

1.5.3. Facteur Alcoolo-tabagique

Les résultats des études épidémiologiques sur le tabagisme et ce type de cancer restent incompatibles. La plupart ont signalé un risque accru entre la consommation du tabac et le risque de développer un NPC, tandis que d'autres ont trouvé aucune association (3).

En Algérie, les résultats de Bendjemana et al., confirment les constatations indiquant que le tabac est un facteur de risque important dans le cancer du nasopharynx (21). En ce qui concerne la consommation d'alcool, la plupart, mais pas toutes les études ont rapporté aucune association (20).

2.5.4 .Facteurs génétiques

L'observation de cas familiaux de CNP suggère une prédisposition génétique au cancer du cavum (1).

En effet, plusieurs études chromosomiques ont été faites et ayant retrouvé des susceptibilités génétiques mais il faut cependant souligner que ces susceptibilités génétiques sont d'avantage basées sur l'étude de groupes familiaux que sur l'étude de populations à large échelle (22).

Le CNP est également caractérisé par un ensemble d'anomalies chromosomiques durant son développement et sa progression, en particulier les gains et les pertes du matériel génétique qui proposent l'implication des oncogènes et des gènes suppresseurs de tumeur (20).

2. Anatomie pathologique

2.1. Microscopie

Plusieurs tumeurs peuvent se développer au niveau du cavum, Le plus fréquent est le carcinome (70%), puis le lymphome malin (20%), les 10 % qui restent représentent des cancers rares (adénocarcinome, carcinome adénocystique, haemangiopericytome, ostéosarcome, chondrosarcome, méningiome, mélanome malin, sarcome, plasmocytome, chordome, métastases d'autres tumeurs primaires) (23).

- **Classification histologique**

Les tumeurs épithéliales du cavum ont fait l'objet de plusieurs classifications mais actuellement la plupart des auteurs utilisent la classification de l'organisation mondiale de la santé (OMS) qui est basée sur le degré de différenciation :

- **Type 1 : Carcinome épidermoïde kératinisé**, tout a fait comparable a ceux retrouvés dans les autres localisations des VADS. Ce type histologique rend compte de 30 à 40% des CNP survenant dans les régions présentant une faible incidence de la maladie, tandis que son incidence est extrêmement réduite dans les zones d'endémie. En effet dans une série de 5037 patients en chine du sud-est, seulement 0, 3% d'entre eux présentait un type 1 de l'OMS.
- **Type 2 : Carcinome épidermoïde non kératinisant** (15 à 20% des cas).
- **Type 3 : Carcinome épidermoïde indifférencié UCNT** qui représente la grande majorité des cas dans la zone d'endémie. L'origine épidermoïde de ces carcinomes de type 3 a été démontrée par microscopie électronique et par immunohistochimie. L'immunohistochimie peut également être utile pour établir le diagnostic différentiel avec certains lymphomes et autres tumeurs rares pouvant survenir au niveau du nasopharynx (22).

2.2- Macroscopie

Les tumeurs du nasopharynx présentent trois aspects assez distincts : formes ulcérautes, infiltrantes, exophytiques et mixtes (7).

3. Diagnostic

3.1. Signes cliniques

Le diagnostic est souvent tardif devant la latence clinique de cette localisation tumorale. Les signes cliniques révélateurs les plus fréquents sont :

- **Les adénopathies cervicales**

Le signe le plus fréquent, en particulier dans la zone d' « endémie », est l'existence d'adénopathies cervicales en règle hautes et postérieures, souvent très volumineuses et bilatérales (23). Motif de consultation dans environ 40% des cas (16).

- **Les signes otologiques**

Signe une pathologie de la trompe auditive (8). On cite : hypoacousie, acouphènes, épisodes d'otites moyennes aiguës, et parfois des vertiges (16).

- **Les signes Rhinologiques**

Traduit la continuité entre le rhinopharynx et la cavité nasale (8). On cite : obstruction nasale uni ou bilatérale, rhinorrhée purulente chronique, épistaxis à répétition et rhinolalie (15).

- **Les signes neurologiques et ophtalmologiques**

Ces signes sont dus à l'atteinte des paires crâniennes voisines et en particulier des nerfs oculomoteurs (VI° paire surtout) situés à proximité immédiate du cavum dans le sinus sphénoïdal (23) et sont : Névralgie du V, paralysie du VI, ophtalmoplégie, céphalées, dysphonie/dysphagie et trismus (7).

3.2. Examen clinique

- Un examen ORL complet, rhino- et otologique en particulier, avec exploration de toutes les aires ganglionnaires cervicales.
- Un examen neuro-ophtalmologique
- La rhinoscopie postérieure
- L'examen endoscopique.
- Le toucher du cavum (18).

3.3- Examens complémentaires

3.3.1- Locorégional

Biopsie tumorale : indispensable et systémique pour l'examen anatomopathologique qui confirme le diagnostic de cancer du cavum et précise le type histologique.

TDM: Le Scanner cervico-facial centré sur le cavum et la base du crâne est systématique car indispensable pour apprécier le volume tumoral et préciser les rapports de la tumeur avec l'os, notamment la base du crâne. Il précise la présence d'adénopathies.

IRM : L'Imagerie par résonance magnétique du cavum et de la base du crâne est systématique car elle définit les limites tumorales et donne avec précision les rapports de la tumeur avec les méninges et les éléments vasculo-nerveux parapharyngés.

3.3.2 Recherche des métastases à distance:

Par scanner thoracique, bilan hépatique, bilan biologique, échographie et scintigraphie osseuse (70% des métastases sont osseuses) **(16)**.

4. Traitement

Le traitement sera décidé au terme du bilan clinique et complémentaire et tiendra compte du stade TNM de la tumeur, de l'état général et de l'âge du patient **(16)**.

Les tumeurs sont généralement radio- et chimiosensibles. Vu que la localisation anatomique complexe ne permet pas la résection, la radiothérapie est le premier choix, cependant, les patients avec les tumeurs localement avancées semblent tirer bénéfice d'un traitement concomitant radio-chimiothérapique. La thérapie génique est à l'étape expérimentale **(25)**.

5. Pronostic

La survie à 5 ans est de l'ordre de 50% allant de 60-70 % pour les T1-T2 N0 à 10-20% pour les T3-T4 N3. L'existence des ganglions palpables fait passer la survie à 5 ans en dessous des 50% dans la mesure où le risque métastatique viscéral devient alors élevé.

Chez l'enfant ou l'adolescent, la surveillance post-thérapeutique de la fonction visuelle et des stimulines hypophysaire doit être attentive **(24)**.

CHAPITRE. III

GÉNÉTIQUE DU CANCER DU

CAVUM

Bien que le processus du CNP soit complexe et multifactoriel, et que ses causes ne soient toujours pas bien élucidées, il n'y a aucun doute sur le fait que les facteurs génétiques jouent un rôle important dans son développement (26).

Le CNP est caractérisé par un ensemble d'anomalies chromosomiques durant son développement et sa progression, en particulier les gains et les pertes du matériel génétique qui proposent l'implication des oncogènes et des gènes suppresseurs de tumeur (20), tels que les pertes au niveau des chromosomes 1p, 3p, 9p, 9q, 11q, 13q, 14q et 16q et les gains sur les chromosomes 1q, 3q, 8q, 12p et 12q fréquemment observés dans ce cancer (4).

D'un autre côté, des cas familiaux de CNP ont été rapportés dans les régions à haut et à faible risque. L'exemple typique est celui de la famille Ye-Liang de Guangdong, dans laquelle 15 de 109 membres avaient un CNP à travers quatre générations.

Plusieurs études confirment que l'incidence du CNP est significativement plus élevée chez les membres de la même famille que dans la population générale et que les individus ayant un parent du premier degré atteint de CNP avaient quatre à dix fois plus de risque de développer ce type de cancer (3). Cette incidence est supérieure dans les régions à haut risque (>5%) par rapport à celles à risque faible ou intermédiaire (27).

Le CNP survient donc sous les deux formes héréditaires et sporadiques, cependant il n'y a pas eu assez de précision qui permet la distinction entre les gènes impliqués dans les formes héréditaires et ceux impliqués dans les formes sporadiques. Ce chapitre va alors présenter d'une façon globale les gènes dont l'association avec le CNP a été le plus fréquemment rapportée.

1. Gènes de prédisposition

1.1. Le complexe majeur d'histocompatibilité humain classe I (HLA1)

Il ya des rapports consistant en ce qui concerne l'association entre les gènes HLA et le risque de développer un CNP pour les deux cas sporadiques et familiaux (20).

Les différents groupes ethniques montrent des différences significatives en ce qui concerne la fréquence des allèles HLA au sein d'une famille sérologique, avec différentes

capacités de lier et présenter les épitopes qui peuvent être pertinents pour la défense immunitaire contre EBV ou d'autres antigènes associés au CNP (28).

Toutes les études de population à haut risque ont des résultats concordants concernant la susceptibilité des antigènes HLA-A2 et HLA-B46 et l'effet protecteur des antigènes HLA-A11 et HLA-B13.

L'augmentation des fréquences de HLA-A3, HLA-B5 et B15 en plus d'une association négative avec le HLA-A33 ont été observés chez les Algériens.

Les mécanismes de cette association NPC/HLA ne sont pas encore élucidés, cependant, le gène HLA serait un marqueur pour un autre gène qui est responsable de se développement. (29).

1.2. Gènes d'oxydation et de détoxification

La plupart des agents cancérigènes subissent une activation par des enzymes d'oxydation de phase I, et une désintoxication par des enzymes de phase II. Il a été montré que les polymorphismes des gènes codants pour les enzymes xénobiotiques qui métabolisent les composés cancérigènes sont à l'origine des variations individuelles du risque de cancer (30).

1.2.1. Cytochrome P450 2E1 (CYP2E)

Le cytochrome P450 2E1 (CYP2E) est un membre de la famille CYP2E, un groupe d'enzymes impliqués dans la Phase I d'oxydation des cancérogènes, ayant un rôle dans l'activation chimique de plusieurs carcinogènes, procarcinogènes, et substances toxiques.

Les cellules exprimant le CYP2E1 sont très sensibles à la cytotoxicité et aux dommages de l'ADN. Le fait que le nasopharynx exprime le CYP2E1 suggère que ce dernier pourrait jouer un rôle important dans le processus de CNP par des nitrosamines indirectement carcinogènes (31).

1.2.2. Glutathione s- transférase (GST)

Les Glutathione S-Transferases (GST) sont un groupe d'enzymes impliqués dans la phase II de détoxification des carcinogènes.

Ces enzymes désactivent les produits de la phase I, produisant des métabolites hydrophiles et susceptibles d'excrétion suite à leur conjugaison avec des substrats endogènes glutathion, sulfate, glucose, acétate (21).

Parmi la superfamille des GST, les mutations de GSTM1 et GSTT1 sont les plus couramment étudiées en ce qui concerne la susceptibilité génétique aux cancers (32).

Les délétions homozygotes de ces gènes, dénommées GSTM1 nul et GSTT1 nul respectivement, entraînent un manque d'activité enzymatique et sont donc été liées à l'augmentation du risque de certains cancers (21).

Les individus porteurs du génotype GSTT1 nul manquent d'activité de GSTT1 et sont incapable d'éliminer efficacement les substances cancérigènes électrophiles et les espèces réactives de l'oxygène (26).

L'association entre les polymorphismes GSTM1 / GSTT1 et le risque de CNP a été intensivement étudiée dans différentes ethnies. Cependant, les résultats ont été contradictoires. Certains indiquent que chacun des polymorphismes de GSTM1 et GSTT1 joue un rôle crucial dans le développement de NPC, particulièrement chez les populations asiatiques. D'autres suggèrent le polymorphisme de GSTM1 et non pas celui GSTT1 comme un facteur de risque pour le NPC.

Les antécédents génétiques et les expositions environnementales peuvent être des facteurs essentiels pour ces résultats contradictoires (32).

1.3. MTHFR

La Methylene tetra hydro folate reductase (MTHFR) joue un rôle central dans la conversion du folate en un composé qui sert comme donneur de méthyl pour la méthylation de l'ADN, aussi. Il est intéressant de penser que toute mutation dans le gène MTHFR entraîne une modification dans l'environnement de l'épigénétique par modification de la méthylation de l'ADN pouvant stimuler la cancérogénèse (33).

Le métabolisme du folate joue un rôle important dans le métabolisme cellulaire. Ces réactions sont associées avec la synthèse des purines- pyrimidines : ADN, ARN et la méthylation des protéines.

Le gène codant pour enzyme est situé sur le chromosome 1p36.3. C677T et A1298C sont les polymorphismes de MTHFR les plus étudiés qui se traduisent par une diminution dans l'activité enzymatique de MTHFR (34).

2. Les oncogènes

• EGFR

Le récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR) est un membre de la famille des récepteurs tyrosine kinase jouant un rôle important dans la voie de transduction de signal qui régule des fonctions cellulaires principales dans la malignité épithéliale (35).

Malgré que le rôle et le mécanisme de EGFR dans CNP n'est pas complètement élucidé, des études suggèrent que EGFR joue un rôle crucial dans le développement et la progression de CNP (36). En effet, approximativement 80–90% des cas ont été rapporté comme EGFR positif (35).

• CCND1

La Cycline D1 (CCND1) dont le gène est situé sur le chromosome 11q13 (4) est une protéine régulatrice importante, jouant un rôle crucial dans la transition G1- S durant la division cellulaire (37).

L'inactivation de CCND1 dans des lignées cellulaires de CNP a montré une diminution spectaculaire de la prolifération cellulaire. Cette constatation a soutenu le rôle critique de CCND1 dans la croissance des cellules CNP (4)

• LT β R

Le récepteur Lymphotoxin- β (LT β R) situé sur le chromosome 12p12-1 est un membre des récepteurs du facteur de nécrose tumorale (TNFR) qui active de multiples voies de signalisation y compris NF κ B et kinase c-Jun N-terminal. LT β R a été surexprimée dans 76% des tumeurs primaires de CNP (4).

• PIK3CA

Le gène PIK3CA situé sur le chromosome 3q26.3 est un oncogène qui code pour la sous-unité catalytique p110 de PI3K. (phosphatidylinositol 3-kinase).

Le gène est important dans la régulation de la croissance et la survie cellulaire, l'amplification et sur-expression a été fréquemment détecté dans CNP (38).

D'autres oncogènes semblent jouer un rôle dans la cancérogénèse du cavum, nous citerons : HIF-1, Bmi-1 et Le c-Met.

1. Gènes suppresseurs de tumeur

- **P53**

Le gène de P53 se trouve sur le chromosome 17p13. Il joue un rôle critique dans le maintien de la stabilité du génome et la régulation du cycle cellulaire.

Le codon 72 de P53, avec un substitut de base de C à G (Arg et Pro), est une des mutations les plus largement étudiées dans ce gène suppresseur de tumeur. Le polymorphisme combiné de MDM2 et P53 codon 72 a été trouvé impliqué dans le risque de CNP chez l'adulte, suggérant une interaction gène-gène dans la pathogenèse de CNP (39).

- **RASSF1A**

RASSF1A (famille Ras de domaine de liaison une isoforme A) situé sur le chromosome 3p21.3 (4) est un gène impliqué dans l'arrêt du cycle cellulaire, l'inhibition, la prolifération cellulaire et induction de l'apoptose.

L'expression de RASSF1A a été considérablement réduite ou complètement perdue dans le carcinome nasopharyngé primaire par rapport à l'épithélium du rhinopharynx normale, et a été corrélée à une hyperméthylation du promoteur du gène de RASSF1A (40).

- **BLU**

Le gène BLU, situé à 3p21.3 (41). Bien que la fonction biologique de BLU ne soit toujours pas connue, il est probable que la transcription BLU règle plusieurs gènes cibles importants impliqués dans le développement du cancer. Ce gène a été fréquemment inactivé dans les CNP par la méthylation du promoteur et la désacétylation des histones (4).

- **nm23**

Le gène nm23a été connu comme le premier gène suppresseur découvert pour la régulation de la métastase dans divers types de cancers humains.

Il a été signalé que la sous-expression de nm23 peut contribuer à la métastase des CNP. L'expression du nm23 dans CNP était positivement corrélée avec le pronostic du patient, et les patients avec une plus faible expression de nm23 eu plus court temps de survie (42).

- **Wip1**

Wip1 est une protéine phosphatase sérine / thréonine dont le gène situé sur le chromosome 17q22 / q24. est impliqué dans un certain nombre de processus biologiques, y compris la prolifération cellulaire, l'apoptose, et l'invasion de la cellule de CNP.

Les taux de protéine Wip1 étaient significativement plus élevés dans les tissus du cancer du nasopharynx que dans le tissu normal. Il a également été montré que les niveaux de protéines Wip1 étaient corrélées avec les stades T, métastases ganglionnaires, stade clinique et de la différenciation pathologique (43).

- **KAI1 / CD82**

Le gène / de CD82 KAI1 qui appartient à la superfamille transmembranaire 4 (TM4SF), est situé sur le chromosome 11p11.2 et présente une fonction inhibitrice à l'égard de la métastase de la tumeur.

Le taux d'expression positive de KAI1 / CD82 dans CNP était plus faible que dans les tissus normaux du nasopharynx, indiquant que ce gène peut être impliqué dans l'apparition et le développement de l'CNP.

Dans le CNP, la sous-expression de la protéine KAI1 / CD82 a été trouvée en corrélation avec les métastases ganglionnaires (44).

FOXO3a a été faiblement exprimé dans les tissus de carcinome du nasopharynx, par rapport à des tissus normaux du nasopharynx (45).

D'autres gènes suppresseurs de tumeur semblent être impliqués dans la tumorigenèse du cavum, tel que : P16, SPLUNC1, P1N1, XRCC1, KIAA1173, TBL1XR1, NAG7, FHIT. FOXO3a et BRD7.

- ❖ **Les Micro RNA**

Les micros ARN (miARN) sont une famille d'ARN non codants de petite taille (environ 20-30 nucléotides), impliqué dans la régulation négative des gènes au niveau post-transcriptionnel, y compris les gènes ayant un rôle dans le développement, la différenciation, la prolifération, et l'apoptose (46).

Un nombre croissant de preuves indique que les micro ARN jouent un rôle important dans le développement et la progression de CNP, où ils peuvent fonctionner comme oncogènes ou gènes suppresseurs de tumeur (15).

En effet, l'expression de plusieurs miARN oncogéniques, y compris miR-155, miR-106a, et le groupe miR-17-92, a été trouvée significativement élevée chez les CNP (46) et celle des suppresseurs de tumeurs tels que la famille des miR-9, miR-26, miR-29, miR-200 et Let-7 y était diminuée, en particulier miR-9 qui semble être un des facteurs les plus importants dans la pathogenèse de CNP.

En plus de son rôle dans l'inhibition de la croissance, la migration et l'invasion, miR-9 peut moduler l'expression des gènes induits par l'interféron ainsi que les molécules d'HLA1 (15).

4. Le virus Epstein-Barr

4.1. Rappel sur le virus EBV

Le virus Epstein-Barr (EBV) est un membre de la famille des herpès virus, groupe Gamma. C'est un virus très fréquent qui infecte la majorité de la population humaine (>90%) partout dans le monde. C'est aussi le premier virus associé aux tumeurs humaines qui a été identifié (47).

Dans la grande majorité des cas, le virus établit une infection latente à vie sans autres complications. Cependant dans certaines circonstances, le virus peut avoir un pouvoir oncogénique.

En effet, EBV est lié à un large spectre de tumeurs malignes et bénignes, y compris les tumeurs qui ont comme origine les cellules lymphoïdes B, tel que le lymphome de Burkitt (LB) et le lymphome hodgkinien ainsi que les tumeurs dont l'origine est épithéliale tel que le carcinome nasopharyngé (NPC) et les cancers gastriques (48).

Le virus peut soit se multiplier de façon complète et entraîner alors un cycle lytique, soit persister dans la cellule entraînant un cycle latent en ne transcrivant que quelques-uns de ses gènes (14).

La persistance du génome virale est généralement associée avec les carcinomes non kératinisant ou indifférenciés (49).

4.2. NPC et EBV

Des changements génétiques et épigénétiques ultérieures peuvent conduire à l'expansion clonale des cellules pré malignes infectées par EBV et leur transformation en cellules cancéreuses (47).

- LMP1 et BARP1

LMP1 et BARP1 sont des gènes codés par le génome d'EBV dans les cellules de NPC. Ayant tous les deux une activité tumorigène au niveau de l'épithélium, ils sont considérées comme étant les seules oncogènes viraux du EBV. **BARP1** serait plus cruciale comme oncogène dans la tumorigénèse de CNP que la protéine LMP (17).

Par ailleurs, le gène Bcl-2 a été trouvé étroitement associé à la présence de l'EBV. La membrane de la protéine Latente 1 (LMP1) semble coopérer avec Bcl-2 pour induire la transformation des cellules épithéliales.

Ceci suggère que l'expression de LMP1 avec la surexpression de Bcl-2 peut jouer un rôle important dans les premières étapes de la tumorigénèse de CNP (4).

PARTIE PRATIQUE

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Notre étude réalisée au niveau du service d'oncologie-radiothérapie du Centre Hospitalo-Universitaire de Constantine (CHUC) comporte trois parties :

- Une partie épidémiologique rétrospective qui consiste en une étude sur dossiers de malades atteints de cancer du cavum et traités au niveau du service.
- Une partie portant sur la généalogie des familles ayant des cas vivants de CNP.
- Une analyse moléculaire du polymorphisme du gène de la MTHFR à partir du sang périphérique de patients atteints du cancer du cavum et rencontrés au même service.

I. Partie épidémiologique

Nous avons consulté 170 dossiers médicaux de patients atteints de cancers de la sphère ORL traités au niveau du service d'oncologie-radiothérapie du CHUC pendant la période allant de Janvier 2013 à Décembre 2014. A partir de ces dossiers nous avons relevé les paramètres suivant dans un fichier Excel : Le numéro de dossier, le nom et le prénom du malade, l'âge, le sexe, la Wilaya d'origine, la profession, les antécédents personnels et familiaux, les facteurs alcoolo-tabagiques, l'évolution, la localisation, les signes cliniques révélateurs, la taille de la tumeur, le bilan radiologique, l'histologie, le stade, la chimiothérapie, la radiothérapie,

Cependant, les variables auxquelles nous nous sommes intéressés sont : le sexe, l'âge, la wilaya d'origine, la profession, les antécédents personnels et familiaux, le facteur de risque alcoolo-tabagique, la localisation et le type histologique.

I. Arbre Généalogique

Pour cette partie nous nous sommes intéressés qu'aux patients atteints de cancer du cavum, traités au niveau du service d'oncologie-radiothérapie du CHUC et ayant des antécédents familiaux du même cancer. Cependant, en raison de la courte période de notre stage dans le service nous n'avons pas pu avoir un grand nombre de patients. Seulement deux patients apparentés au troisième degré ont pu être inclus dans cette étude par un questionnaire (annexe 3) et un consentement éclairé et ce après avoir été informé de nos objectifs.

Des données généalogiques ont été recueillies concernant tous les parents du 1^{er}, du 2^{ème} et du 3^{ème} degré des deux patients pour permettre la réalisation d'un arbre généalogique.

II. Partie moléculaire

Notre étude moléculaire n'a concerné que ces deux patients pour les mêmes raisons mentionnées dans la partie précédente. Elle comprend les étapes suivantes :

1. Prélèvements sanguins:

Les prélèvements sanguins sont réalisés en conditions stériles dans des tubes vacutainer contenant de l'EDTA (Ethylene Diamine Tetracetic Acid). L'anticoagulant L'EDTA est un chélateur de cations bivalents (Mg^{++} , Ca^{++}) nécessaires au fonctionnement des enzymes DNase (nucléases). Il est donc utilisé comme inhibiteur indirect des nucléases.

2. Extraction de l'ADN à partir du sang total

❖ Principe

Les leucocytes sont séparés du sang total par lyse hypotonique et traité ensuite par un détergent (SDS) et une protéinase K. L'ADN nucléaire est libéré dans le milieu et les protéines qui lui sont associés sont digérées et éliminées par précipitation au NaCl. La pelote d'ADN est formée dans le surnageant par précipitation avec l'éthanol. L'ADN est solubilisé en phase aqueuse, ensuite la pureté est déterminée par le rapport de la DO à 260nm sur la DO à 280 nm qui doit être compris entre 1,5 à 2.

a. Préparation des leucocytes

- Dans un tube Falcon de 50 ml, le sang est mis avec 25 ml avec du tampon TE 20 :5.
- Laisser 10 min dans un bain de glace.
- Centrifuger 10 min à 3900g (3800 rpm)
- Verser le surnageant.
- Ajouter 25 ml de TE au culot et agiter en retournant le tube.
- Laisser 10 min dans le bain de glace.
- Centrifuger dans les mêmes conditions que la première fois.
- Verser le surnageant: Obtention d'un culot des leucocytes.

b. Extraction de l'ADN

- Transvaser le culot de leucocytes dans un tube Falcon de 15 ml.
- Ajouter 3ml de tampon de lyse (NaCl 400 mM, EDTA 2mM, Tris 10 mM, pH 8,2)
- Ajouter 200 μ l de SDS à 10%.
- Ajouter 100 μ l de protéinase K à 10 mg/ml.
- Agiter le tube sur une roue à 37°C une nuit.

- Le lendemain, refroidir dans la glace.
- Ajouter 1ml de NaCl 4 M et agiter vigoureusement à la main.
- Remettre 5min dans la glace (précipitation des protéines).
- Centrifuger 15min à 2500 rpm.
- Transvaser le surnageant dans un tube Falcon de 15ml, ajouter 2 fois son volume d'éthanol absolu préalablement refroidi (environ 8ml) et agiter en retournant le tube plusieurs fois : La pelote d'ADN se forme.
- Récupérer la pelote d'ADN avec une micro-pipette et la mettre d'un tube Eppendorf.
- Rincer deux fois à l'éthanol (environ 200 μ l).

c. Solubilisation

- Ajouter entre 300 et 1000 μ l d'eau distillée purifiée.
- Laisser une nuit sur agitateur rotateur à 37°C, puis à température ambiante jusqu'à dissolution complète (1 à 2 jours).

3. Géotypage de la MTHFR :

Le géotypage de la MTHFR consiste à amplifier une partie de l'ADN contenant ce gène, puis de différencier les géotypes par digestion à l'aide d'une enzyme de restriction spécifique HinfI.

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

- La PCR,
- Contrôle du produit de PCR sur gel d'agarose à 2 %,
- La digestion du produit de PCR par l'enzyme de restriction HinfI,
- La séparation des produits de digestion par migration électro-phorétique sur un gel d'agarose à 3 % et distinction des différents géotypes par trans-illumination sous UV.

3.1. La PCR :

Les amorces utilisées pour effectuer notre PCR afin d'étudier le gène de la MTHFR comprennent une région qui concerne un polymorphisme C677T. Chaque cycle de la PCR comporte trois étapes : dénaturation, hybridation et élongation.

a. Préparation du milieu réactionnel de la PCR

Le milieu réactionnel ou mix de PCR comprend tous les constituants nécessaires à la réalisation d'une PCR. Pour préparer 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 met uniquement le mix sans ADN (Annexe 4).

- **L'enzyme** : la Taq DNA Polymérase (Kit Bioline) est utilisée à une concentration de 5 $\mu\text{U}/\mu\text{l}$.
- **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 NH_4 Réaction Buffer est composé de : 160 mM $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 670 mM Tris- HCL (pH 8,8 à 25° C), 0,1 %,.
- **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 MgCl_2** : il s'agit d'un cofacteur pour la Taq polymérase. Il est utilisé à une concentration stock de 50 Mm et c'est l'élément clef de l'hybridation des amorces.
- À cela on ajoute ;
 - **Les Amorces** :
 - Sens : 5'-TGAAGGAGAAGGTGTCTGCCGGA-3'
 - Anti sens : 5'- AGGACGGTGCGGTGAGAGTG-3'
 - **L'ADN** : nous utilisons nos aliquotes d'ADN purifié

b. Déroulement des cycles de la PCR

Dans des tubes Eppendorf de 0,2 ml on met 49 μl du Mix et 1 μl d'ADN soluble, le mélange ainsi obtenu est mis dans un Thermocycleur (Techne) qui est programmé au préalable pour la réalisation de la PCR. Le Thermocycleur est programmé comme suit :

- Un premier cycle de 5 minutes et à une température de 94° C pour la dénaturation initiale.
- 30 cycles, chacun comprend trois étapes :
 - 30 secondes à une température de 94° C pour la dénaturation.
 - 30 secondes à une température de 65° C pour l'hybridation.
 - 40 secondes à une température de 72° C pour l'élongation
- Dernier cycle de 10 minutes à une température de 72° C (élongation finale).

3.2. Contrôle des produits de PCR

- Un gel d'agarose à 2 % a été préparé.
- Dans chaque puits du gel, on dépose : 10 µl du produit de PCR mélangé avec 3 µl BBP (Bleu de Bromo-Phénol) qui permet de suivre le front de migration.
- Dans l'avant dernier puits on met 10 µl du contenu du tube témoin mélangé avec 3 µl de BBP.
- Dans le dernier puits on met 10 µl de marqueur de taille.
- Les dépôts se font du côté cathode (-).
- Le système est soumis à une migration sous un courant de 100 volts pendant 30 min.

Cette analyse a pour but de confirmer l'amplification de notre ADN et de contrôler la taille du fragment amplifié et aussi de vérifier une éventuelle contamination de l'ADN au cours de la PCR grâce au puits contenant le blanc (témoin négatif : T).

- Après la migration, le gel est soumis au rayon UV. Les molécules de BET intercalées entre les bases nucléiques émettent une lumière visible et photographiable et permettent de visualiser les fragments amplifiés sous forme de bandes fluorescentes ayant toutes la même taille de 198 paires de bases.

3.3. Digestion des produits de PCR

L'enzyme de restriction HinfI reconnaît et clive la séquence G/ANTC. Elle est mise dans un milieu qui comprend tous les constituants nécessaires à la réalisation de cette digestion. La quantité de chaque composant est multipliée par le nombre de tubes voulu.

Les produits de PCR sont digérés comme suit :

- On prend 30 µl du produit de PCR et on ajoute 10 µl du milieu de digestion dans les tubes Eppendorf de 0,2 ml et on les met dans l'étuve à 37 °C pendant une nuit.
- Le lendemain et afin de concentrer notre quantité d'ADN digéré par l'enzyme HinfI, on ouvre les tubes et on augmente la température à 65° C jusqu'à ce que le volume contenu dans l'Eppendorf soit réduit de moitié.

3.4. Préparation du gel d'agarose pour la migration

La préparation du gel d'agarose utilisé pour la migration se fait de la même manière que celle décrite précédemment utilisée pour le contrôle des produits de PCR sauf que la concentration de celui-ci est 3 % au lieu de 2 % (on mélange 100 ml de tampon TBE 1X avec 3 g d'agarose).

3.5. Dépôts des échantillons

Après la polymérisation du gel, on plonge le moule dans la cuve horizontale contenant le TBE 1X. On dépose dans chaque puits du gel :

- 10 µl du produit digéré mélangé avec 3µl de BBP.
- La migration se fait en parallèle avec des fragments d'ADN appelés marqueurs de taille à un voltage de 100 volts.

Après environ une heure et demie le gel est soumis au rayon UV.

3.6. Profils RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) obtenus

La présence d'une mutation C677T crée un site de coupure pour l'enzyme de restriction HinfI. Les fragments d'ADN obtenu 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.

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

I. Partie épidémiologique

Notre étude épidémiologique rétrospective est réalisée sur les dossiers de malades atteints de cancer du cavum traités au service d'oncologie-radiothérapie entre janvier 2013 et décembre 2014, elle s'est portée sur l'analyse des paramètres suivants :

1. Répartition selon le sexe

La répartition des cas selon le sexe montre que le cancer du cavum est plus fréquent chez les hommes (73 cas représentant 70,19% des cancers du cavum) que chez les femmes (31 cas représentant 29,81% des cancers du cavum) avec un sexe-ratio de 2,35 ce qui converge avec les données d'Andrieu et al., où le *Sexe Ratio* varie entre 2 et 3 en faveur des hommes (13).

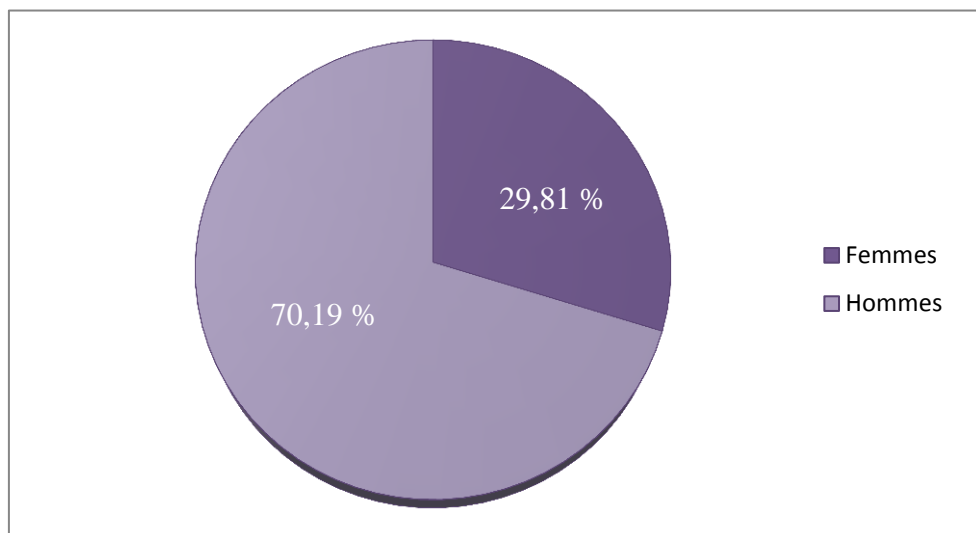


Figure 7: Répartition des cas de cancer du cavum selon le sexe.

2. Répartition selon l'âge

La tranche d'âge la plus touchée par le cancer du cavum est celle regroupant les individus âgés entre 46 et 55 ans (25,96 %). Cela est semblable aux résultats de Arfaoui où la tranche d'âge la plus touchée était comprise entre 40 et 55 ans (50) et diffère de ceux trouvés par Adhamet et al., qui montrent que ce cancer trouve son maximum de fréquence chez les patients âgés entre 40 et 60 ans (51).

Tableau 2 : Répartition des cas par tranche d'âge.

Tranche d'âge	Nombre des cas	Pourcentage
[16-25]	8	07,69 %
[26-35]	10	09,62 %
[36-45]	23	22,12 %
[46-55]	27	25,96 %
[56-65]	26	25,00 %
[66-75]	7	06,73 %
[76-85]	1	00,96 %
[86-95]	1	00,96 %
Non précisé	1	00,96 %
Total	104	100,00%

3. Répartition selon la wilaya d'origine

La répartition selon la wilaya d'origine montre que la majorité des cas est originaire de Constantine (32,69% des cas) suivie de Mila (18,27% des cas) et de Skikda (15,38% des cas). Ces résultats peuvent être expliqués par le fait que des centres anti cancer sont désormais opérationnels au niveau de Sétif, Batna et Annaba.

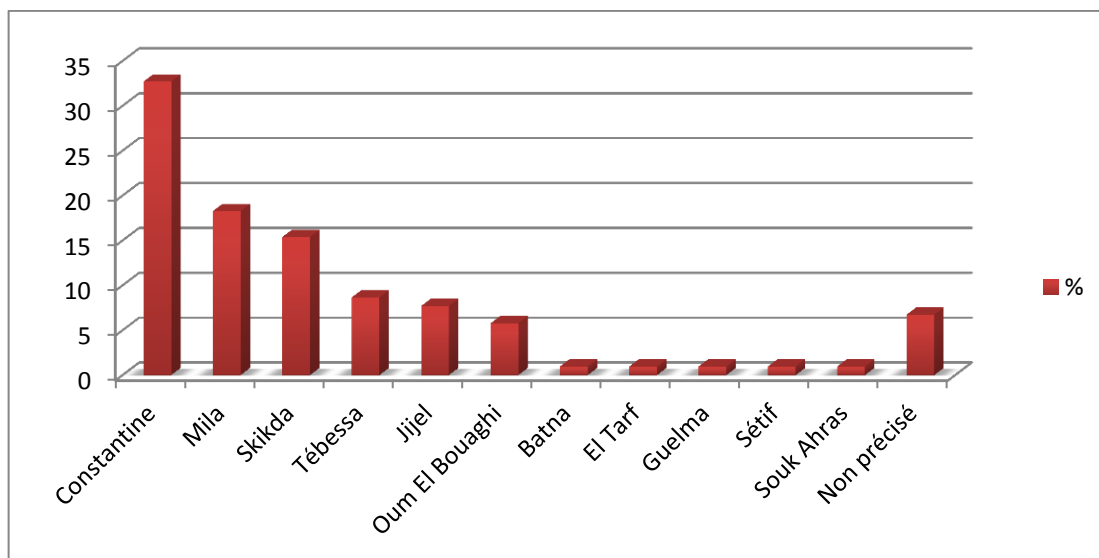


Figure 8 : Répartition des cas de cancer du cavum selon la Wilaya d'origine.

4. Répartition par rapport aux autres cancers des VADS

Parmi les 170 cas de cancers ORL étudiés, le cancer du cavum se place en première position avec 104 cas soit 61,18 % des cas de cancers ORL. Ces résultats sont différents de

ceux trouvés par Adham et al., dans leur étude réalisée en Indonésie entre 2000 et 2005 où l'incidence de CNP était d'environ 28.35% seulement parmi les cancers des VADS (51).

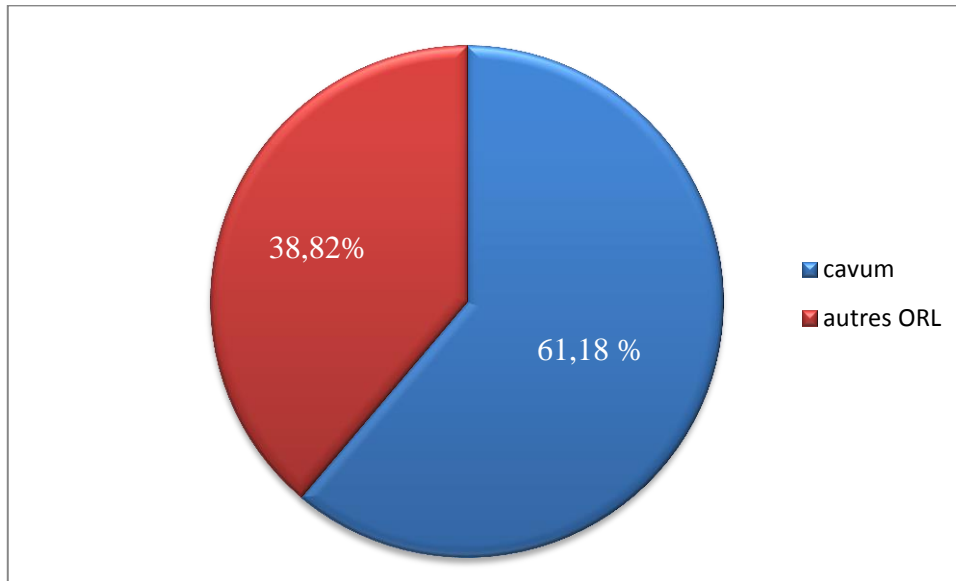


Figure 9: Répartition des cas de cancer du cavum par rapport aux autres cancers des VADS

5. Répartition selon les antécédents personnels

La majorité des cas (58,65 %) ne présentait aucun antécédent personnel d'autres maladies. Cependant 7,69 % des cas étaient soit traité ou sous traitement d'hypertension artérielle et 2,88 % des cas étaient diabétiques.

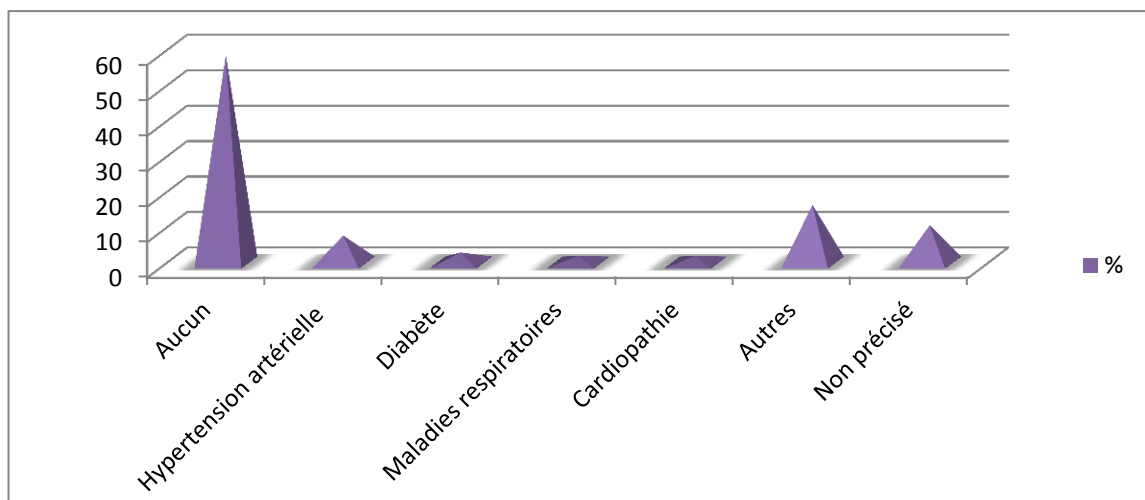


Figure 10 : Répartition des cas de cancer du cavum selon les antécédents personnels.

6. Répartition selon les antécédents familiaux

Parmi les 104 cas de cancers du cavum étudiés, un seulement avait un antécédent familial de ce même type de cancer. Par ailleurs, d'autres types étaient présents dans les familles de 15 cas.

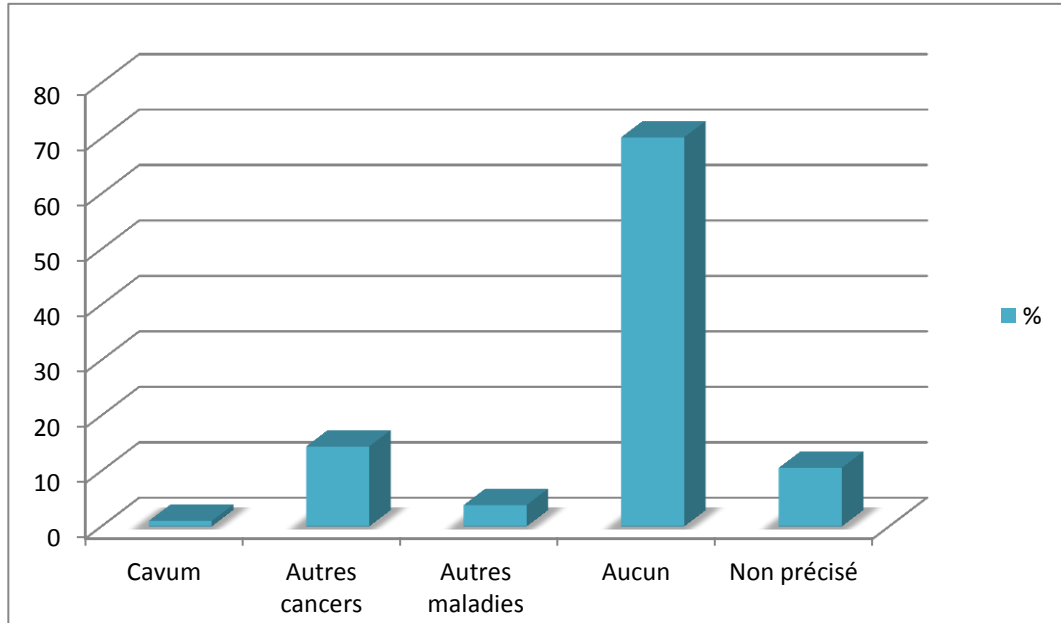


Figure 11: Répartition des cas de cancer du cavum selon les antécédents familiaux.

7. Répartition selon le facteur de risque alcoolo-tabagique

La majorité des cas de cancer du cavum n'avait aucune habitude alcoolo-tabagique. Cependant 17,31% étaient des fumeurs, 1,92 % consommaient de l'alcool et 4,81 % consommaient les deux. Ces résultats diffèrent de ceux trouvés par Bendjemana et al., dans leur étude réalisée au niveau des régions de Khenchela, Batna et leurs environs qui a montré que la consommation du tabac était présente chez 77,6 % des cas et celle de l'alcool chez 14,5% (21).

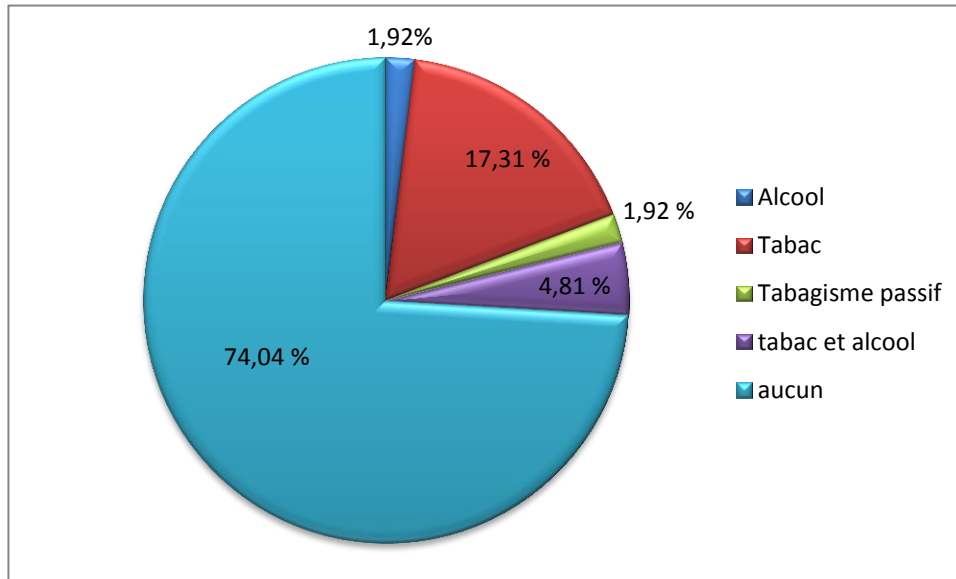


Figure 12: Répartition des cas de cancer du cavum selon le facteur alcoolo-tabagique.

8. Répartition selon le type histologique

Histologiquement, le carcinome indifférencié de type nasopharyngé était nettement prédominant avec 90,38 %. Ces résultats sont en accord avec ceux de Adham et al ., où environ 85.0% des cas étaient des UCNT (51).

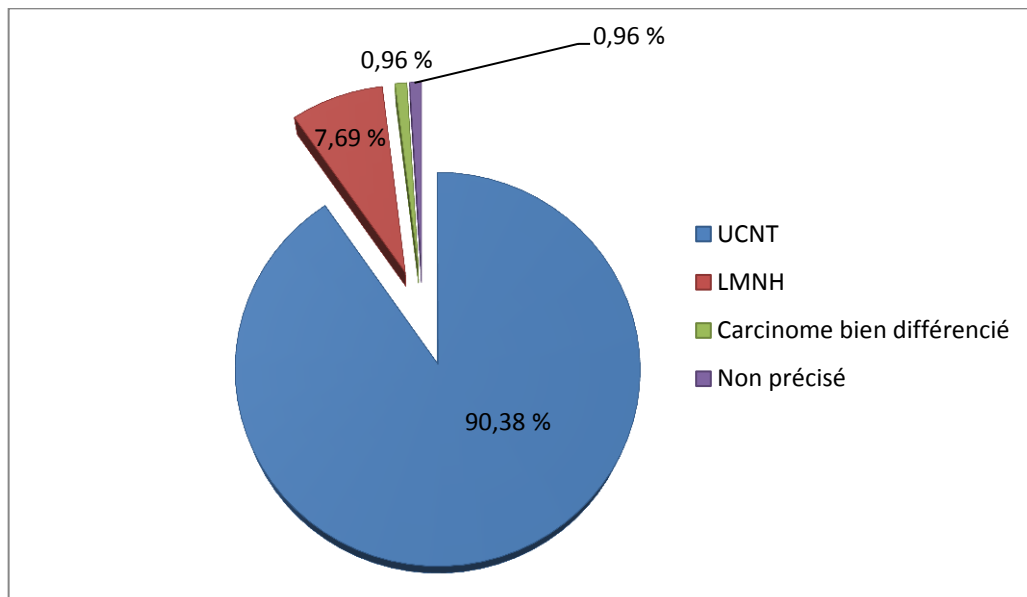


Figure 13: Répartition des cas de cancer du cavum selon le type histologique.

II. Cas familiaux

Durant la période de notre stage nous avons pu rencontrer deux patients qui étaient apparentés au troisième degré ce qui nous a permis de réaliser un arbre généalogique à partir de l'évaluation du questionnaire.

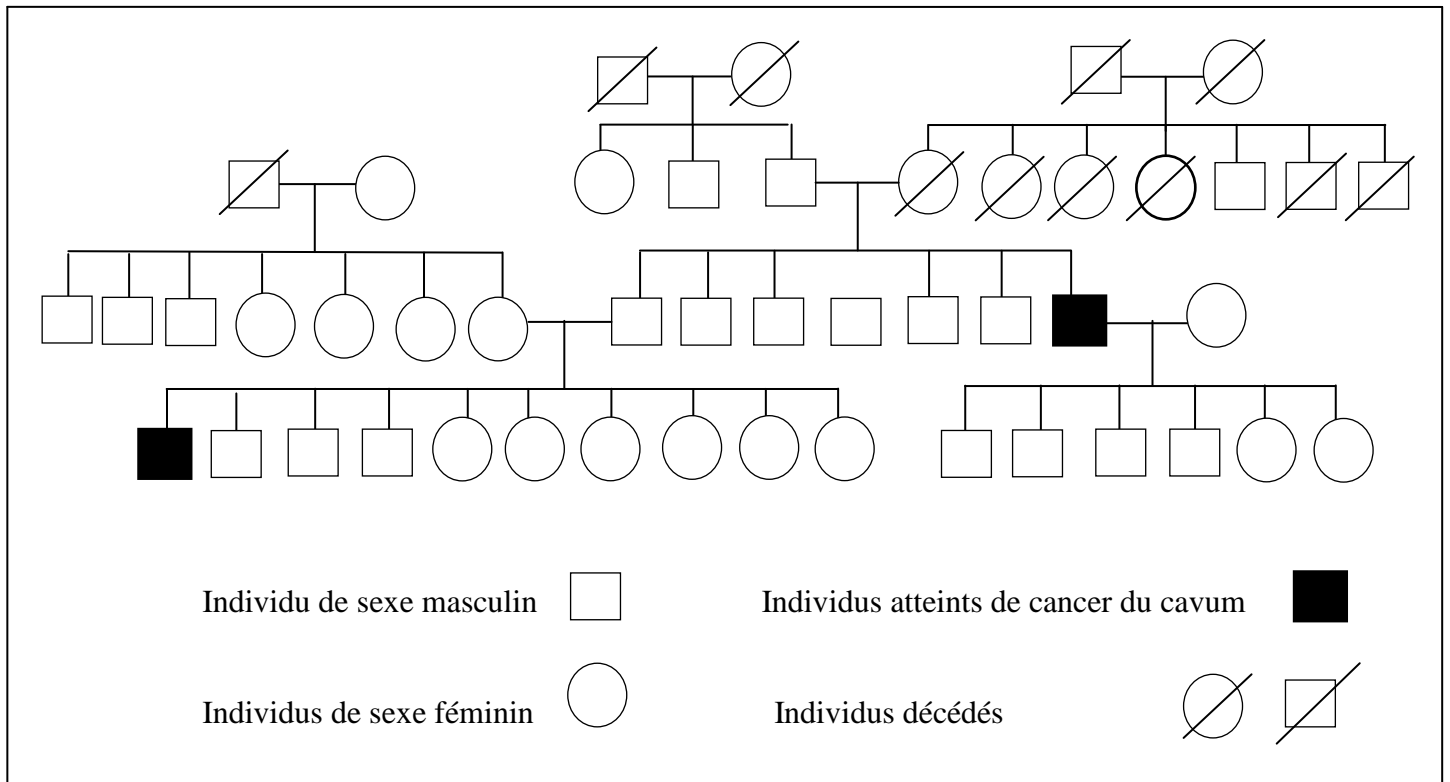


Figure 14: Arbre généalogique d'une famille présentant deux cas vivants de CNP

Les deux patients atteints de ce cancer étaient de sexe masculin, âgés de 50 et 28 ans, sans aucun antécédents personnels et ne présentaient aucun facteurs de risque alimentaire ou toxique.

Le reste des individus représentés dans cet arbre est en bon état de santé et ne présente aucun cancer, comme il est intéressant de noter que l'âge moyen de décès dans cette famille est supérieur à 80 ans.

Cet arbre pourrait être un bon exemple de forme familiale de CNP, tenant en compte que les formes familiales de ce cancer peuvent être dues soit à une prédisposition génétique, soit à des facteurs d'environnement communs soit tout simplement au hasard.

III. Partie moléculaire

L'extraction d'ADN a été faite, de même la PCR, mais en raison de problèmes techniques, nous n'avons pas pu observer de résultats. Cependant, les résultats de Yun Cao and al., fournissent la première preuve épidémiologique et moléculaire que les polymorphismes de la *MTHFR* sont associés au risque de CNP, une association qui est particulièrement remarquable chez les gros fumeurs (52). Dans des résultats contradictoires, Yu-Ming Niu et al., montrent que le polymorphisme de la *MTHFR* ne constitue un facteur pour aucun cancer des VADS (53).

CONCLUSION
ET
PERSPECTIVES

Jusqu'à présent, l'étiologie complexe du carcinome du nasopharynx est loin d'être complètement comprise. Cela nécessite la collaboration de plusieurs domaines de recherche pour apporter de multiples solutions à ce problème.

Notre but était d'étudier l'aspect épidémiologique du cancer du cavum à partir des dossiers de patients traités au service d'oncologie-radiothérapie du CHU Constantine entre janvier 2013 et décembre 2014, d'enquêter la présence de cas familiaux de cancer du nasopharynx au sein du CHUC et de réaliser une analyse moléculaire du polymorphisme de la MTHFR chez des patients atteints de CNP.

Les résultats de notre étude épidémiologique indiquaient que :

- Le cancer du cavum se place en première position parmi les cancers ORL (61,18 %).
- Il est plus fréquent chez les hommes que chez les femmes (70,19%) avec un sexe ratio de 2,35.
- La tranche d'âge la plus touchée est celle regroupant les individus âgés entre 46 et 55 ans.
- L'UCNT était nettement prédominant (90,38 %).

En raison de notre courte durée de stage, nous n'avons pas pu avoir un large échantillon afin de réaliser une étude génétique. Cependant, nous avons trouvé un cas index avec une histoire familiale dans laquelle deux apparentés au troisième degré présentait un CNP.

Concernant l'investigation de l'implication du polymorphisme de MTHFR dans le développement du CNP, nous n'avons pas pu atteindre notre objectif en raison de problèmes techniques rencontrés lors de la réalisation de la PCR.

Nous proposons comme perspectives:

- De continuer l'analyse moléculaire sur nos échantillons d'ADN qui sont conservés ainsi que les produits PCR.
- D'élargir notre échantillon pour poursuivre les deux études : épidémiologique et génétique.

**RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

- (1) : **Kerboua. E., Bouzid.K.**, Oncologie Médicale - CPMC - 2003, séminaire national Alger.
- (2) : **Bendjemana K. and al.**, Étude du profil épidémiologique et des facteurs de risque alimentaires du cancer du nasopharynx dans le Nord-Est algérien, *Journal Africain du Cancer*, 2011, volume 3, issue 1, p59-62.
- (3) : **Shao-HuaXie and al.**, Tobacco smoking, family history, and the risk of nasopharyngeal carcinoma: a case–referent study in Hong Kong Chinese, *Cancer Causes & Control*, 2015, Volume 26, Issue 6, pp 913-921.
- (4) : **Kwok-Wai Lo, Grace Tin-Yun Chung and Ka-Fai To.**, Acquired genetic and epigenetic alterations in nasopharyngeal carcinoma, in Pierre Busson (eds), *Nasopharyngeal Carcinoma Keys for Translational Medicine and Biology*, Bioscience, 2013, pp 61- 81 , Online ISBN 978-1-4614-5947-7.
- (5) : **Haguenoer.J., et al**, Les cancers professionnels, 1982, Paris (France), Lavoisier (technique et documentation), 608p.
- (6) : Yu-Ming Niu and al, MTHFR C677T Gene Polymorphism and Head and Neck Cancer Risk A Meta-Analysis Based on 23 Publications, *DiseaseMarkers*, Volume 2015 , Article ID 681313, 11 pages
- (7) : Scotté.F., Colonna.P., Andrieu.J-M., *Cancérologie*, 2002, Paris (France) Ellipses, 336p
- (8) : **Bonfils.P., Chevalier.J.**, Anatomie ORL, 2005, Paris (France) ; Flammarion, 482p, (2° édition).
- (9) : **Legent F., Perlemuter L ., Vandembrouck C.**, Cahiers d’anatomie ORL, 1986, Paris (France), Masson, p , (4° édition)
- (10) : **Berezin.A.**, Manuel pratique d’ORL à l’usage des étudiants et des médecins généralistes, 1985, Paris (France), Ellipses, 128p
- (11) : **Leeson.T.S., Leeson.C.R.**, Histologie, 1980, Paris (France), Masson, 531p, (2° édition).
- (12) : **Stevens.A., Lowe.J.**, Histologie humaine, 2006, Paris (France), Elsevier, 459p, (3° édition).
- (13) : **Andrieu J.M**, Biologie des cancers, 1991, Paris (France), Ellipses, 432 p
- (14) : **Rakotoarisoa. AHN and al.**, Aspects épidémiologiques du cancer du cavum observés au centre hospitalier universitaire d’Antananarivo.
- (15) : **Gongjun Tan, Xiaowei Tang, Faqing Tang**, The role of microRNAs in nasopharyngeal carcinoma , *Tumor Biology* , 2015, Volume 36, Issue 1, pp 69-79.

- (16) : **Albert.S., Bozec.H.**, ORL et chirurgie cervico-faciale, 2007, Paris (France), Ellipses, 299p
- (17) : **HutajuluS.H and al.**, Conserved mutation of Epstein-Barr virus encoded BamHI-A Rightward Frame-1 (BARF1) gene in Indonesian nasopharyngeal carcinoma, *Infectious Agents and Cancer*, 2010, volume 5, issue 1, p16.
- (18) : **Legent F. and al.**, Manuel pratique d'ORL, 1990, Paris (France), Masson, 359p (3^e édition).
- (19) : **ZhaoYang**, Nasopharyngeal carcinoma: Advances in genomics and molecular genetics, *Science China Life Sciences*, 2011, Volume 54, Issue 10, pp 966-975, October 2011.
- (20) : **Bing-JianFeng**, Descriptive, environmental and genetic epidemiology of nasopharyngeal carcinoma, in Pierre Busson (eds), *Nasopharyngeal Carcinoma Keys for Translational Medicine and Biology*, Bioscience and Springer Science+Business, 2013, pp 23-60, Online ISBN 978-1-4614-5947-7.
- (21) : **Bendjemana K.**, GSTM1 and GSTT1 polymorphisms, tobacco use as risk factors for nasopharyngeal carcinoma in maghreb population - A case-control study, *Journal Africain du Cancer*, 2014, volume 6, p11-16.
- (22) : **Bourhis.J, Schwaab.G.**, Cancer du nasopharynx (cavum), 1999, Encyclopédie médicale chirurgicale (Elsevier, Paris) Oto-rhino-laryngologie, 20-590-A-10, pp 1-14.
- (23) : **Anniko.M and al.**, Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, 2010, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 738p, eBook ISBN 978-3-540-68940-9.
- (24) : **Daly-Schweitzer.N and al.**, Cancérologie Clinique, 2003, Paris (France), Masson, 370p (2^e édition)
- (25) : **Hans.H and al.**, Nasal Pharyngeal Carcinoma, *Encyclopedia of Molecular Mechanisms of Disease*, 2009, Springer Berlin Heidelberg, p 1433-1434. eBook ISBN 978-3-540-29676-8
- (26) : **Bin Jin and al.**, Meta-analysis of the association between GSTT1 null genotype and risk of nasopharyngeal carcinoma in Chinese, *Tumor Biology*, 2014, Volume 35, Issue 1, pp 345-349.
- (27) : **Su-Mei Cao1 and al.**, Familial nasopharyngeal carcinomas possess distinguished clinical characteristics in southern China, *Chinese Journal of Cancer Research*, 2014, volume 26, issue 5, p 543-549.

- (28) : **Xin Li**, Associations between HLA Class I alleles and the prevalence of nasopharyngeal carcinoma (NPC) among Tunisians, *Journal of Translational Medicine*, 2007, volume 1, volume 22, issue5.
- (29) : **Elham H and al** ,The human leukocyte antigen class I genes in NPC risk, *Molecular Biology Reports*, 2010, Volume 37, Issue 1, pp 119-126
- (30) : **XiuchanGuo and al.**, Genetic Polymorphisms of CYP2E1, GSTP1, NQO1 and MPO and the Risk of Nasopharyngeal Carcinoma in a Han Chinese Population of Southern China, *BMC Research Notes*, 2010, volume 3, p 212.
- (31) : **De-Fu Hou and al.**, Expression of CYP2E1 in human nasopharynx and its metabolic effect in vitro, *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2007, Volume 298, Issue 2, pp 93-100.
- (32) : **Yumei Wei and al.**, Significant associations between GSTM1/GSTT1 polymorphisms and nasopharyngeal cancer risk, *Tumor Biology*, 2013, Volume 34, Issue 2, pp 887-894.
- (33) : **Yun Cao and al**, Polymorphisms of methylenetetrahydrofolatereductase are associated with a high risk of nasopharyngeal carcinoma in a smoking population from southern China, *Molecular Carcinogenesis*, 2010, Volume 49, Issue 11, pp 928–934.
- (34) : **Muzeyyen Izmirli**, A literature review of MTHFR (C677T and A1298C polymorphisms) and cancer risk, *Molecular Biology Reports*, 2013, Volume 40, Issue 1, pp 625-637.
- (35) : **Michalis V and al.**, Update on the Role of EGFR Inhibitors in Cancer Therapeutics,Cancer Metastasis And The Lymphovascular System Basis For Rational Therapy,Cancer Treatment and Research, 2007, Volume 135, p257.
- (36) : **Lin Ruan and al.**, Analysis of EGFR signaling pathway in nasopharyngeal carcinoma cells by quantitative phosphoproteomics, *ProteomeScience*, 2011, volume 9, issue 35.
- (37) : **Chunbo Tang et al.**, CCND1 G870A polymorphism and risk for head and neck cancer: a meta-analysis, *Med Oncol*, 2011, volume 28, pp 1319–1324,
- (38) : **Yvonne Yan-Yan and al.**, PIK3CA mutations in nasopharyngeal carcinoma, *International Journal of Cancer*, 2006,volume 118, issue 4, pp 1065-1067.
- (39) : **KeminCai and al.**, Association between the P53 codon 72 polymorphism and nasopharyngeal cancer risk, *Tumor Biology*, 2014,Volume 35, Issue 3, pp 1891-1897

- (40) : **Shu-Peng Chen and al.**, Transducin β -like 1 X-linked receptor 1 suppresses cisplatin sensitivity in Nasopharyngeal Carcinoma via activation of NF- κ B pathway, *Molecular Cancer*, 2014, volume 13, p195.
- (41) : **Xiao-Qiong LIU and al.**, Alterations of BLU, a candidate tumor suppressor gene on chromosome 3p21.3, in human nasopharyngeal carcinoma, *Int. J. Cancer*, 2003, volume 106, pp 60–65.
- (42) : **Xiu Juan Cao and al.**, Prognostic value of expression of EGFR and nm23 for locoregionally advanced nasopharyngeal carcinoma, *Medical Oncology*, 2012, Volume 29, Issue 1, pp 263-271.
- (43) : **Sun G.G and al.**, Overexpression of Wild-Type p53-Induced Phosphatase 1 Confers Poor Prognosis of Patients with Nasopharyngeal Carcinoma ,*Pathology& Oncology Research*, 2015, Volume 21, Issue 2, pp 283-291.
- (44) : **Gengmingwang and al.**, Clinical significance of KAI1/CD82 protein expression in nasopharyngeal carcinoma, *ONCOLOGY LETTERS*, 2015, volume 9, pp 1681-1686.
- (45) : **Zhu Shou and al.** Expression and prognosis of FOXO3a and HIF-1a in nasopharyngeal carcinoma, ,*Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 2012, Volume 138, Issue 4, pp 585-593.
- (46) : **H-C Chen**, MicroRNA deregulation and pathway alterations in nasopharyngeal carcinoma, *British Journal of Cancer*, 2009, volume 100, pp 1002 -1011.
- (47) : **Chi Man Tsang and SaiWahTsao**, The role of Epstein-Barr virus infection in the pathogenesis of nasopharyngeal carcinoma, *Virologica Sinica*, 2015, Volume 30, Issue 2, pp 107-121.
- (48) : **Zeng ZhaoYang .and al.**, Regulation network and expression profiles of Epstein-Barr virus-encoded microRNAs and their potential target host genes in nasopharyngeal carcinomas, *Science China Life Sciences*, 2014. Volume 57, Issue 3, pp315-326.
- (49) : **Virote S. and al.**, Global Gene Expression Profile of Nasopharyngeal Carcinoma by Laser Capture Microdissection and Complementary DNA Microarrays, *Clinical Cancer Research*, 2004, Volume 10, pp 4944 - 4958.
- (50) : **Arfaoui A., et al.**, le cancer du cavum au Maroc. Etude épidémiologique sur l'échantillon: Centre d'oncologie AL AZHAR de Rabat, *Antropo*, 2007, volume 14, pp 75-82.

- (51) : **Adham M., and al.**, Nasopharyngeal carcinoma in Indonesia epidemiology, incidence, signs and symptoms at presentation, Chin J Cancer, 2012, volume 31, issue 4, pp 185-196.
- (52) : **Yun Cao and al**, Polymorphisms of methylenetetrahydrofolatereductase are associated with a high risk of nasopharyngeal carcinoma in a smoking population from southern China, Molecular Carcinogenesis, 2010, Volume 49, Issue 11, pages 928–934.
- (53) : **Yu-Ming Niu and al**, MTHFR C677T Gene Polymorphism and Head and Neck Cancer Risk A Meta-Analysis Based on 23 Publications, Disease Markers, 2015, volume 1, 11 pages, article ID 681313.

Webographie

- (1i): Recherchekrebs (pharynxkarzinom) : www.aotheken-umschau.de Consulté le 10/05/2015.

Annexes

Annexe 1 : Classification TNM-UICC 2009 (7^{ème} édition).

Tx	La tumeur primitive ne peut être évaluée
T0	Pas de tumeur décelable
Tis	Carcinome <i>in situ</i>
T1	Tumeur limitée au nasopharynx ou étendue aux tissus de l'oropharynx et/ou à la fosse nasale
T2	Tumeur avec extension parapharyngée*
T3	Invasion tumorale des structures osseuses de la base du crâne et/ou des sinus maxillaires
T4	Tumeur avec extension intracrânienne et/ou atteinte des nerfs crâniens, de l'hypopharynx, de l'orbite ou avec extension à la fosse sous-temporale/espace masticateur
	* L'extension parapharyngée consiste en une infiltration tumorale postéro-latérale à travers le fascia basilo-pharyngé
Nx	Les adénopathies régionales ne peuvent être évaluées
N0	Pas d'adénopathie régionale métastatique
N1	Atteinte unilatérale d'un ou plusieurs ganglions lymphatiques cervicaux, et/ou atteinte unilatérale ou bilatérale de ganglions lymphatiques rétropharyngiens, ≤ 6 cm dans leur plus grande dimension, au-dessus du creux sus-claviculaire
N2	Atteinte bilatérale d'un ou plusieurs ganglions lymphatiques cervicaux, et/ou atteinte unilatérale ou bilatérale de ganglions lymphatiques ≤ 6 cm dans leur plus grande dimension, au-dessus du creux sus-claviculaire
N3	Adénopathie(s) métastatique(s) :
	N3a >6 cm
	N3b au niveau du creux sus-claviculaire
Mx	Renseignements insuffisants pour classer des métastases à distance
M0	Pas de métastase à distance
M1	Présence de métastase(s) à distance

Annexe 2 : Quelques Gènes impliqués dans la carcinogénèse du CNP.

	Location	Function	Abnormalities in NPC
Oncogenes			
<i>PIK3CA</i>	3q26.1	Lipid kinase	Gene amplification
<i>Cyclin D1</i>	11q13	Cell cycle progression	Gene amplification, overexpression
<i>Bmi-1</i>	10p11.23	Polycomb protein	Overexpression
<i>Bcl2</i>	18q21.3	Anti-apoptosis	Overexpression
Tumour suppressor genes			
<i>RASSF1A</i>	3p21.3	Cell cycle arrest, signal transduction, cell adhesion, microtubule stability	Promoter methylation, mutation
<i>BLU/ZMYD10</i>	3p21.3	Stress responsive gene	Promoter hypermethylation
<i>DLEC1</i>	3p21.3	Unknown	Promoter hypermethylation, histone deacetylation
<i>p16</i>	9p21.3	Cell cycle, G1 control	Homozygous deletion, promoter methylation
<i>ARF</i>	9p21.3	Stabilizer of p53 by sequestering MDM2	Homozygous deletion, promoter methylation
<i>TSLC1</i>	11q22-23	Immunoglobulin superfamily cell adhesion molecule, cell-cell interaction	Deletion, methylation
<i>THY1</i>	11q22-23	Cellular adhesion, proliferation, survival, and cytokine/growth factor responses	Deletion, down-regulation
Others			
<i>RIZ1/RDM2</i>	1p36.2	Histone methyltransferase	Promoter hypermethylation
<i>CRBP4</i>	1p36.2	Retinoid signaling pathway	Promoter hypermethylation
<i>RARB2</i>	3p24	Retinoid signaling pathway	Promoter hypermethylation
<i>CRBP1</i>	3q23	Retinoid signaling pathway	Promoter hypermethylation
<i>TIG1</i>	3q25.32-q25.33	Retinoid signaling pathway	Promoter hypermethylation
<i>UCHL1</i>	4p14	p53 stabilization	Promoter hypermethylation
<i>PCDH10</i>	4q28.3	Cell-cell connection	Promoter hypermethylation
<i>DAB2</i>	5p13	RAS GTPase pathway	Promoter hypermethylation
<i>HIN-1/SCGB3A1</i>	5q35-qter	AKT signaling pathway	Promoter hypermethylation
<i>GADD45G</i>	9q22.1-q22.2	DNA-damage response	Promoter hypermethylation
<i>DAPK1</i>	9q34.1	Mediator of gamma-interferon induced programmed cell death	Promoter hypermethylation
<i>WIF1</i>	12q14.3	Wnt signaling pathway	Promoter hypermethylation
<i>RASAL1</i>	12q23-24	RAS GTPase pathway	Promoter hypermethylation
<i>CHFR</i>	12q24.3	Mitotic checkpoint control	Promoter hypermethylation
<i>ENDRB</i>	13q22	G protein-coupled receptor, Endothelin-1 signaling	Promoter hypermethylation
<i>CDH1</i>	16q22.1	Calcium dependent cell-cell adhesion glycoprotein	Promoter hypermethylation

Annexe 3 :**Questionnaire****1. Indiquez votre :**

- Sexe : homme femme
- Age ans.
- Wilaya d'origine
- Profession.....

2. Quelle est votre situation familiale ?

- Célibataire
- Marié
Nombre d'enfants

3. Quels étaient les signes qui vous ont poussé à consulter ?

.....

A quand remontent-ils ?.....

4. Avez-vous été traité ? Oui Non

Quel était votre traitement ?

Habitudes alimentaires et toxiques

5. Consommez-vous du tabac ou de l'alcool ? Oui Non

Depuis quand ?.....

5. Consommez-vous trop de viande salée/séchée ou l'Harissa ? Oui Non

6. Antécédents personnels

Souffrez-vous d'une maladie ou d'un problème de santé ?

.....

7. Avez-vous déjà été opéré ? : Oui Non

8. Antécédent familiaux

- Nombre de frères et de sœurs ?.....

- Nombre de tantes et oncles paternels ?.....
- Nombre de tantes et oncles maternels ?.....
- Y a-t-il des membres de votre famille atteints du cancer du cavum ?
Le (s) quel (s) ?

Arbre généalogique :

Consentement du Patient

Je déclare avoir été informé, oralement et par écrit, des objectifs et du déroulement de l'étude sur le cancer du cavum.

jour mois année

Le: |__| |__| |__| |__| |__| |__| |__|

La signature du patient

.....

Les informations médicales que vous communiquez sont couvertes par le secret professionnel.

Annexe 4 : Préparation du gel d'agarose à 2%.

Un gel d'agarose à 2 % a été préparé. Comme suit :

- Mélanger 100 ml de tampon TBE (Tris Borate EDTA) 1X avec 2 g d'agarose.
- Faire fondre l'agarose au four à micro-ondes pendant 4 à 6 minutes jusqu'à ce qu'il devient homogène et en surveillant pour éviter les projections,
- Ajouter 10 µl de BET (Bromure d'Éthidium), un agent intercalant qui se fixe entre les bases nucléiques à l'intérieur de la double hélice et qui rendra les ADN fluorescents par exposition aux UV,
- Le gel est ensuite coulé lentement pour ne pas faire des bulles dans le moule de la cuve horizontale,
- Laisser refroidir, enlever le peigne. Le gel sera prêt ainsi pour le dépôt des échantillons.

Annexe 5 : Quantités des composants du milieu réactionnel de PCR.

<i>PCR</i>	<i>MIX</i>		<i>Quantité</i>
H2O	30,5µl	X 3	105,6µl
Tampon 10 x sans MgCl ₂	5µl		15µl
dNTP 2mM	5µl		15µl
MgCl ₂ 25 mM (1,5 mM)	3µl		9µl
Oligo R (100pmol/p1)	0,2µl		0,6µl
Oligo F (100 pmol/ pi)	0,2 µl		0,6µl
Taq polymérase	0,4µl		1,2µl

Résumé

Le carcinome du nasopharynx (CNP) constitue le premier cancer ORL en Algérie. Les composantes génétiques et virales sont essentielles dans l'étiopathogénie de cette tumeur par la fréquence de cas familiaux et sa liaison constante avec le virus d'Epstein-Barr.

L'objectif de notre étude était d'étudier l'aspect épidémiologique du cancer du cavum à partir des dossiers de patients traités au service d'oncologie-radiothérapie du CHU Constantine entre janvier 2013 et décembre 2014, d'enquêter la présence de cas familiaux de cancer du nasopharynx au sein du CHUC et de réaliser une analyse moléculaire du polymorphisme de la *MTHFR* chez des patients atteints de CNP.

Les résultats de notre étude épidémiologique indiquaient que :

- Le cancer du cavum se place en première position parmi les cancers ORL (61,18 %).
- Il est plus fréquent chez les hommes que chez les femmes (70,19%) avec un sexe ratio de 2,35.
- La tranche d'âge la plus touchée est celle regroupant les individus âgés entre 46 et 55 ans.
- L'UCNT était nettement prédominant (90,38 %).

Dans la partie génétique nous avons trouvé un cas index avec une histoire familiale dans laquelle deux apparentés au troisième degré présentait un CNP.

Nous n'avons pas pu atteindre notre objectif concernant l'étude de l'implication du polymorphisme de *MTHFR* dans le développement du CNP. Des études ultérieures nécessitent donc d'être réalisés dans le but d'une meilleure exploitation de ce type de cancer.

Mots clés : Cancer, Cavum, Nasopharynx, Epidémiologie, Génétique, *MTHFR*.

ملخص

يعتبر سرطان البلعوم الأنفي أكثر سرطانات الرأس و العنق المنتشرة في الجزائر. المكونات الجينية و الفيروسية ضرورية لتشكيل الورم نظرا للحالات العائلية المتكررة و علاقته بفيروس "أبشتن بار".

كان هدفنا الرئيسي من هذه العمل اجراء دراسة ابيديميولوجية على ضوء ملفات المرضى المتعالجين في مصلحة العلاج بالأشعة بمستشفى ابن باديس بقسنطينة ما بين شهر جانفي 2013 و شهر ديسمبر 2014, التحقيق في وجود حالات عائلية لسرطان البلعوم الأنفي في نفس المستشفى و دراسة جزئية تخص متعدد البوليمورفيزمات للمورثة MTHFR عند المصابين بسرطان البلعوم الأنفي.

تشير نتائج دراستنا الابيديميولوجية الى أن سرطان البلعوم الأنفي:

- يحتل المرتبة الأولى من بين سرطانات الرأس و العنق بنسبة (61,18%).
 - هو أكثر شيوعا عند الرجال أكثر منه عند النساء بنسبة (70,19%) مع نسبة الجنس التي تقدر ب 2,35.
 - الفئة العمرية الأكثر تضررا تضم الأفراد الذين تتراوح أعمارهم بين 46 و 55 عاما.
 - يعتبر UCNT الأكثر انتشارا و يحتل الصدارة بنسبة (90,38%).
- ضمن دراستنا الوراثية وجدنا حالة مؤشرة مع تاريخ عائلي يخص فردين مصابين بسرطان البلعوم الأنفي صلة القرابة بينهما من الدرجة الثالثة.

لم تتمكن من الوصول الى هدفنا المرجو و الذي يخص علاقة متعدد البوليمورفيزمات للمورثة MTHFR بتطور سرطان البلعوم الأنفي. لذا نحتاج وبضرورة الى دراسات لاحقة يتعين القيام بها من أجل الاستغلال الأمثل لهذا النوع من السرطان بالخصوص.

الكلمات المفتاحية : سرطان, البلعوم الأنفي, ابيديميولوجيا , الوراثة. MTHFR

Summary

Nasopharyngeal carcinoma (NPC) is the first head and neck cancer in Algeria. Genetic and viral components are essential in the pathogenesis of the tumor by the constant frequency of familial cases and its association with the Epstein-Barr virus.

The aim of our study was to perform an epidemiological study from records of patients treated in the oncology-radiotherapy service between January 2013 and December 2014, to investigate the presence of familial cases of nasopharyngeal cancer in the CHUC and to perform molecular analysis of *MTHFR* polymorphism in NPC patients.

The results of our epidemiological study indicated that:

- The nasopharyngeal cancer ranks first among head and neck cancers (61.18%).
- It is more common in men than in women (70.19%) with a sex ratio of 2.35.
- The most affected age group is the one involving individuals aged between 46 and 55 years.
- The UCNT was clearly predominant (90.38%).

In our genetic study we found an index case with a family history in which two related in the third degree had a NPC.

We did not reach our aim concerning the study of the involvement of the *MTHFR* polymorphism in NPC. Therefore, Subsequent studies need to be performed for a better exploitation of this type of cancer.

Key words: Nasopharyngeal Carcioma, Epidemiology, Genetics, *MTHFR*.

Année universitaire : 2014- 2015	Présenté par : BENAMIRA NARIMENE BOUZNAD ROMAÏSSA
Etude génétique et épidémiologique du cancer du cavum	
Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Génétique Moléculaire	
<p>Résumé</p> <p>Le carcinome du nasopharynx (CNP) constitue le premier cancer ORL en Algérie. Les composantes génétiques et virales sont essentielles dans l'étiopathogénie de cette tumeur par la fréquence de cas familiaux et sa liaison constante avec le virus d'Epstein-Barr.</p> <p>L'objectif de notre étude était d'étudier l'aspect épidémiologique du cancer du cavum à partir des dossiers de patients traités au service d'oncologie-radiothérapie du CHU Constantine entre janvier 2013 et décembre 2014, d'enquêter la présence de cas familiaux de cancer du nasopharynx au sein du CHUC et de réaliser une analyse moléculaire du polymorphisme de la MTHFR chez des patients atteints de CNP.</p> <p>Les résultats de notre étude épidémiologique indiquaient que :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Le cancer du cavum se place en première position parmi les cancers ORL (61,18 %). - Il est plus fréquent chez les hommes que chez les femmes (70,19%) avec un sexe ratio de 2,35. - La tranche d'âge la plus touchée est celle regroupant les individus âgés entre 46 et 55 ans. - L'UCNT était nettement prédominant (90,38 %). <p>Dans la partie génétique nous avons trouvé un cas index avec une histoire familiale dans laquelle deux apparentés au troisième degré présentait un CNP.</p> <p>Nous n'avons pas pu atteindre notre objectif concernant l'étude de l'implication du polymorphisme de <i>MTHFR</i> dans le développement du CNP. Des études ultérieures nécessitent donc d'être réalisés dans le but d'une meilleure exploitation de ce type de cancer.</p> <p>Mots clés : Cancer, Cavum, Nasopharynx, Epidémiologie, Génétique, <i>MTHFR</i>.</p>	
Mots clés : Cancer, Cavum, Nasopharynx, Epidémiologie, Génétique, <i>MTHFR</i> .	
Laboratoire de recherche : Laboratoire de Biologie et génétique Moléculaire du CHUC.	
<i>Date de soutenance : 01/07/2015</i>	