



**Université Constantine 1**  
**Faculté des Science 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 : Biologie Animale**  
**Spécialité : Génétique Moléculaire**

## **Thème**

**Etude rétrospective de l'association entre le polymorphisme  
C677T de la Méthylènetétrahydrofolate réductase (MTHFR) et  
le risque de développer un cancer broncho-pulmonaire dans  
l'est Algérien**

**Présentée et soutenu par : NOUAR MOHAMED ADIB  
ET KRID MOHAMED LARBI**

**le : 24/06/2014**

**Jury d'évaluation:**

**Président du jury : REZGOUNE ML**

**Encadreur : BOUDOKHANE IBTISSEM**

**Examineurs : Melle BENLATRECHE M**

**Année universitaire  
2013/2014**

## **Remerciements**

*On tient tout d'abord à remercier le bon dieu*

*On tient à remercier chaleureusement notre professeur et encadreur **Mme BOUDOKAHNE IBTISSEM** pour toute l'aide et le soutien qu'elle nous a apporté en suivant notre travail de près, avec sérieux et intérêt.*

*On remercie par la même occasion les membres du jury, principalement monsieur **REZGOUNE ML.** qui nous a suivi durant tout le parcours de notre spécialité et notre examinatrice **Mlle BENLATRECHE M.**, ainsi que madame **SATTA D.** qui a veillé sur nous et sur le bon déroulement de notre formation.*

*Ce mémoire portera des traces indélébiles d'une équipe qui a été exemplaire.*

**Dédicaces**

*A ma très chère mère **Faiza**.*

*A mon père **Farid**.*

*A mon frères et ma sœurs **Imam et Malak**.*

*A ma future femme **Laggoun Malak**.*

*A ma famille entière.*

*A mes meilleurs amis.*

*A tous ceux qui ont contribués de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*Je dédie ce mémoire.*

**ADIB.**

**Dédicaces**

*A ma très chère mère **Leila**.*

*A mon défunt père **Mesaoud**.*

*A mes frères et sœurs **Zouaoui, Kamel et Amina**.*

*A ma famille entière.*

*A mes meilleurs amis.*

*A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*Je dédie ce mémoire.*

***Med LARBI.***

# TABLE DES MATIERES

Liste Des Abréviations

Liste Des Figures

Liste Des Tableaux

INTRODUCTION.....1

## CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Anatomie physiologie.....	2
1. Anatomie.....	2
2. Physiologie.....	3
2. Le cancer du poumon.....	3
Définition.....	3
Classification des tumeurs broncho-pulmonaires.....	3
1. les carcinomes épidermoïdes.....	4
2. Les adénocarcinomes.....	4
3. Les carcinomes à petites cellules.....	4
4. carcinomes à grandes cellules.....	4
3. Epidémiologie.....	4
1. Epidémiologie descriptive.....	4
3.1.1. Statistiques mondiales : (OMS 2008) .....	4
3.1.2. Statistiques nationales.....	5
2. Epidémiologie analytique.....	5
➤ Facteurs de risque.....	5
1. Le tabagisme.....	5
2. Les expositions professionnelles.....	6
a. L'amiante.....	6
b. Produits chimiques.....	6
3. Pollution atmosphérique.....	6

4. susceptibilité génétique face au cancer bronchique.....	6
a. Cytochrome p450.....	7
b. Glutathione-S-transferases.....	7
c. NAT1 et NAT2.....	7
d. Gènes de réparation de l'ADN.....	8
5. MTHFR et cancer bronchique.....	8

## CHAPITRE II : PATIENTS ET METHODES

1. Patients et méthodes.....	10
2. Méthodes utilisées.....	10
2.1. Pour l'étude Moléculaire.....	10
2.1.1. Questionnaire.....	10
2.1.2. Consentement.....	10
2.1.3. Prélèvement sanguin.....	10
2.1.4. Etiquetage.....	10
2.1.5. L'extraction de l'ADN.....	10
2.1.6. La réaction de polymérisation en chaine (PCR) .....	13
2.1.7 Digestion par l'enzyme de restriction <i>HinfI</i> .....	15
2.2. Pour l'étude Statistique.....	15

## CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

1. Résultats et discussion.....	16
1.1. Enquête statistique.....	16
2. Etude moléculaire.....	22
3. DISCUSSION.....	24
CONCLUSION.....	27

Références

Annexes

Résumé

## LISTE DES ABREVIATION

- ADN : Acide Désoxyribonucléique
- BER : Base Excision Repair
- BET: Bromure d'Ethidium
- BSA : Bovine Serum Albumine
- CBP : Cancer Broncho-Pulmonaire
- CNPC: Cancer Bronchique Non à Petites Cellules
- CPC : Cancer Bronchique à Petites Cellules
- CYP1A1: Cytochrome P450 1A1
- dNTP: Désoxyribonucléosides triphosphates
- DO: Densité Optique
- DSBR: Double Strand Break Repair
- EDTA Ethylène acide Di-amino Tétracétate
- GSTM1: Glutathione-S-Transferase M1
- GSTP1: Glutathione-S-Transferase P1
- GSTT1: Glutathione-S-Transferase T1
- HAP: Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques
- Hinf I: *Haemophilus Influenzae*
- Kb: Kilobases
- MTHFR: méthylentetrahydrofolate réductase
- NAT: N-Acetyltransferase
- NER: Nucleotide Excision Repair
- Oligo F: Forward primer
- Oligo R : Reverse primer
- Pb : paires de bases
- PCR : Polymerase Chain Reaction
- PK : protéinase K
- SDS : Sodium Dodécyle Sulfate
- TBE: Tris, Borate, EDTA
- TE : Tris EDTA

## LISTE DES FIGURES

Figure 1 : les poumons.....	1
Figure 2 : Grossissement d'une grappe d'alvéoles à l'extrémité périphérique des voies aériennes.....	1
Figure 3 : incidence et mortalité chez les hommes en 2008.....	4
Figure 4 : incidence et mortalité chez les femmes en 2008.....	5
Figure 5 : Tranches d'âge des malades.....	16
Figure 6 : Répartition des malades selon le sexe.....	17
Figure 7 : Répartition selon les habitudes tabagiques.....	18
Figure 8 : Répartition selon les habitudes alcoolique.....	19
Figure 9 : Répartition selon les antécédents familiaux.....	19
Figure 10 : Répartition selon le type histologique.....	20
Figure 11 : Profil d'ADN du contrôle PCR.....	22
Figure 12 : profil de digestion par l'enzyme <i>Hinf I</i> .....	22
Figure 13: Fréquences génotypiques chez les malades et les témoins.....	23
Figure 14: Fréquences alléliques chez les patients et les témoins.....	24



## LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Milieu réactionnel de la PCR.....	13
Tableau II : Déroulement des cycles de la PCR dans le thermocycleur.....	14
Tableau III : Milieu de digestion par l'enzyme Hinf I .....	14
Tableau IV : Répartition des patients selon l'âge.....	16
Tableau V : Répartition des malades selon le sexe.....	17
Tableau VI : Répartition selon les habitudes tabagiques.....	17
Tableau VII : Répartition selon les habitudes alcoolique.....	18
Tableau VIII : Répartition selon les antécédents familiaux.....	19
Tableau X : Répartition selon le type histologique.....	20
Tableau XI : nombre de patients et de témoins pour chaque génotype.....	22
Tableau XII: Fréquences génotypiques des maladies et des témoins.....	23
Tableau XIII : Fréquences alléliques des malades et des témoins.....	23
Tableau XIV : Calcul des Odds-Ratio (OR) des génotypes TT, CT par rapport au génotype CC.....	24

---

# *Introduction*

---

## **INTRODUCTION :**

Le cancer broncho-pulmonaire était une maladie exceptionnelle au début du XXème siècle. Ce n'est que vers la seconde moitié du siècle qu'il a connu un développement pandémique devenant, ainsi, le premier cancer dans le monde, que ce soit en termes d'incidence, ou de mortalité et cette première place s'est consolidée depuis.

Le facteur étiologique le plus incriminé dans la survenue de cette maladie est sans aucun doute le tabagisme, néanmoins l'existence d'une composante génétique n'est pas à négliger, dans la mesure où seulement 10 à 15% des fumeurs développent un cancer broncho-pulmonaire, et où celui-ci peut s'observer chez les non-fumeurs, et de là il est fort probable qu'il existe des variations dans la susceptibilité individuelle aux produits carcinogènes.

Beaucoup d'études se sont intéressées au métabolisme de l'acide folique, et plus particulièrement à la méthylène-tétrahydrofolate reductase (MTHFR) ; enzyme clé de ce métabolisme, et indiquent que le polymorphisme C677T du gène MTHFR pourrait être un facteur de risque de CBP.

Notre travail vise à analyser les fréquences alléliques et génotypiques pour ce polymorphisme, afin de vérifier s'il y a une éventuelle association entre la mutation C677T du gène codant pour cette enzyme, et le risque de développer un CBP.

---

*Chapitre 1*

*Revue*

*Bibliographique*

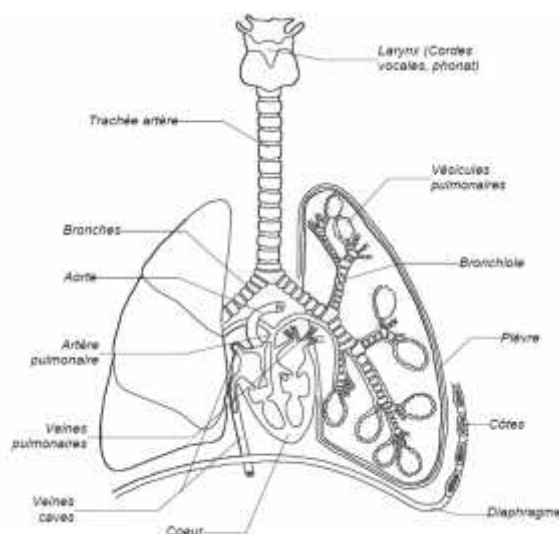
---

## 1. Anatomie physiologie :

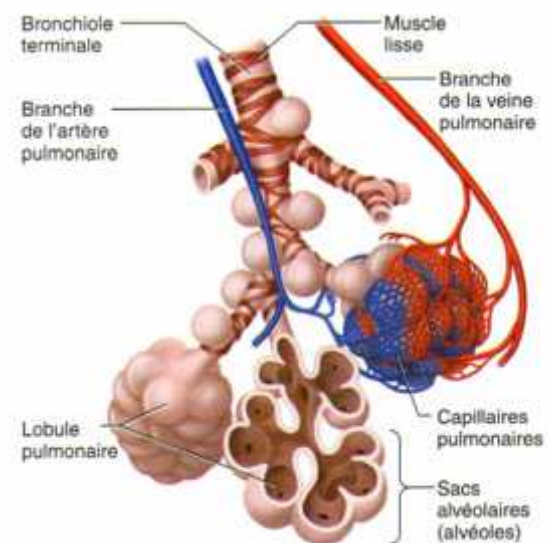
### 1.1. Anatomie :

Les poumons, entourés de la plèvre, sont les deux organes parenchymateux où se produisent les échanges gazeux entre l'atmosphère et la circulation pulmonaire. La plèvre est un sac fermé constitué d'un feuillet double, elle enveloppe chaque poumon et le sépare de la paroi thoracique et des autres structures situées autour de lui (1).

Dans les poumons, la trachée se ramifie en bronches, bronchioles et finalement en alvéoles pulmonaires. Les principaux conduits du système respiratoire sont : la cavité nasale, le pharynx, le larynx, et la trachée. La zone de conduction du système respiratoire comprend les cavités et les structures qui assurent le transport des gaz jusqu'aux alvéoles pulmonaires et des gaz en provenance des alvéoles (1).



**Figure 1** : les poumons (93)



**Figure 2** : Grossissement d'une grappe d'alvéoles à l'extrémité périphérique des voies aériennes (2)

## **1.2. Physiologie :**

Le rôle essentiel de la respiration est de procurer l'O<sub>2</sub> utilisé par les cellules de l'organisme et d'éliminer le CO<sub>2</sub> qu'elles produisent (3).

L'appareil respiratoire comprend les voies aériennes extra pulmonaires, le tissu pulmonaire proprement dit, et les composants de la cage thoracique responsables de l'entrée d'air dans les poumons et de sa sortie hors d'eux. Les voies aériennes sont des canalisations menant l'air de l'atmosphère jusqu'aux alvéoles qui sont le siège exclusif des échanges de gaz entre l'air et le sang. Ce sont les plus petites cavités aériennes, ils sont disposés en grappes à l'extrémité des bronchioles (3).

## **2. Le cancer du poumon :**

### **Définition**

Le CBP est une tumeur maligne qui peut se développer à la jonction entre les bronches principales, dans une des bronches ou à la périphérie, dans les alvéoles pulmonaires. Les cellules cancéreuses peuvent migrer dans les ganglions lymphatiques (dissémination lymphatique). En empruntant les vaisseaux sanguins (dissémination hémotogène) les cellules cancéreuses peuvent atteindre différents organes conduisant à des métastases (99).

### **Classification des tumeurs broncho-pulmonaires**

L'intérêt d'une telle classification repose sur la nécessité de délivrer un diagnostic qui permet l'inclusion des patients dans des protocoles thérapeutiques et sert de base aux études épidémiologiques et biologiques (4). Le diagnostic doit reposer sur des critères histologiques simples et reproductibles.

Les cancers bronchiques primitifs se subdivisent en deux grandes classes clinico-pathologiques : les carcinomes bronchiques non à petites cellules (CNPC) (incluant les carcinomes malpighiens, les adénocarcinomes et les carcinomes à grandes cellules) et les carcinomes à petites cellules (CPC) (5), (6).

## 2.1. les carcinomes épidermoïdes :

Ce sont des carcinomes non à petites cellules qui se localisent préférentiellement dans une bronche lobaire ou segmentaire (7).

## 2.2. Les adénocarcinomes :

Les adénocarcinomes sont subdivisés en 4 sous-groupes histologiques acinaire, papillaire, bronchiolo-alvéolaire et carcinome solide avec la production de mucine. Ils se localisent en périphérie dans les régions sous pleurales (8).

## 2.3. Les carcinomes à petites cellules :

Ces tumeurs présentent un pouvoir métastatique élevé et sont les plus agressifs. Ils se développent généralement dans les bronches principales (9).

## 2.4. carcinomes à grandes cellules

Ce sont des tumeurs qui n'ont pas l'aspect d'un cancer bronchique à petites cellules et qui n'ont ni différenciation épidermoïde ni différenciation glandulaire, c'est essentiellement un diagnostic d'exclusion (10).

## 3. Epidémiologie :

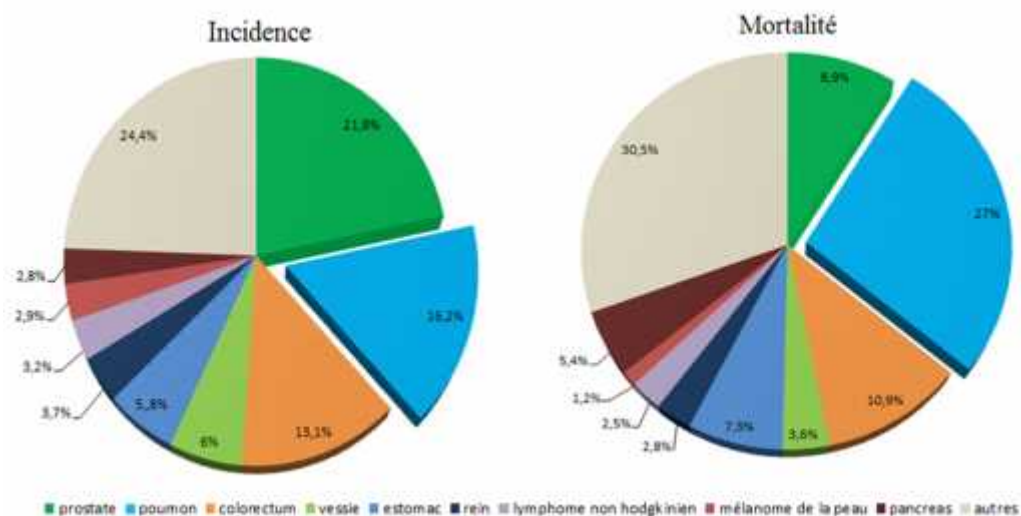
### 3.1. Epidémiologie descriptive :

#### 3.1.1. Statistiques mondiales : (OMS 2008) :

Le cancer est une cause majeure de décès, c'est la 3ème cause de mortalité dans le monde. 7,6 millions de décès en 2008, soit 13% de la mortalité mondiale (11).

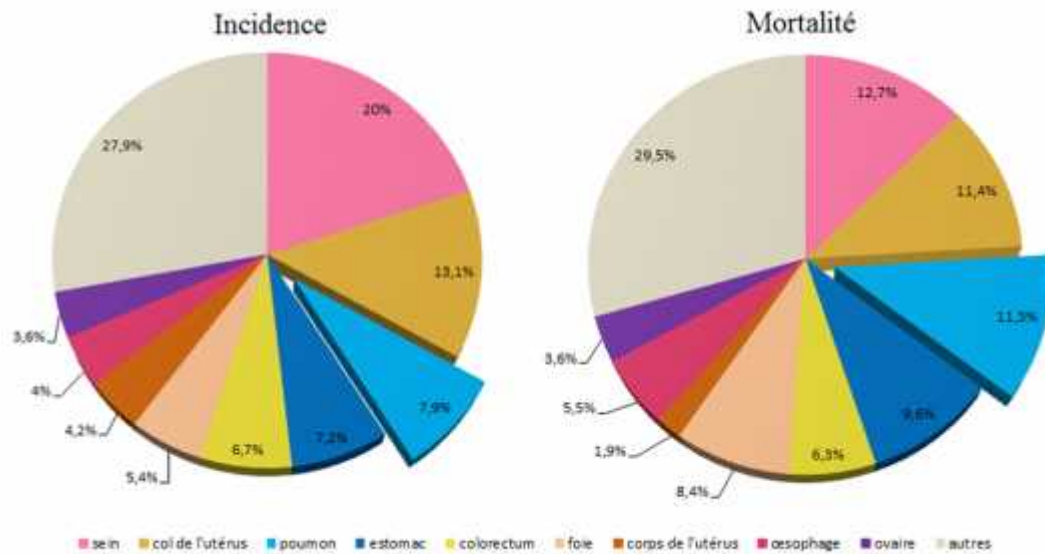
#### ➤ Incidence et mortalité par cancer dans les pays développés (OMS 2008) :

##### ○ Chez les hommes :



**Figure 3** : incidence et mortalité chez les hommes en 2008 (12)

- Chez les femmes :



**Figure 4** : incidence et mortalité chez les femmes en 2008 (12)

### 3.1.2. Statistiques nationales :

Le cancer du poumon demeure le cancer le plus fréquemment diagnostiqué chez les hommes Algériens : il se situe au premier rang du registre du cancer de Sétif. Il représente 18 % de l'ensemble des cancers incidents, il est plus fréquent chez l'homme que chez la femme. Trente pour cent des cas diagnostiqués de cancer pulmonaire ont moins de 50 ans. L'âge médian lors du diagnostic est de 67 ans. Le taux d'incidence atteint son maximum à l'âge de 80–85 ans (13).

## 3.2. Epidémiologie analytique :

### ➤ Facteurs de risque :

#### 1. Le tabagisme :

Le poumon est de par sa fonction exposé très intimement à l'air, donc aux multiples polluants éventuellement contenus dans l'atmosphère et notamment la fumée de tabac. 90% des décès par cancer broncho-pulmonaire chez l'homme peuvent être attribués à la consommation de cigarettes (14). Ainsi, le risque relatif d'un fumeur est de 4 à 30 fois celui du non-fumeur selon la quantité fumée (14). Cette quantité est exprimée en paquets années. Après arrêt du tabac, le risque relatif diminue exponentiellement pendant la première année pour revenir pratiquement à celui du non-fumeur (mais pas tout à fait) en 13 à 15 ans (14). De même le rôle du tabagisme passif dans le développement du cancer bronchique primitif n'est pas à négliger. Plusieurs carcinogènes



potentiels sont présents dans la fumée de cigarettes : les benzopyrènes et autres hydrocarbures aromatiques polycycliques, les nitrosamines, les phénols, le polonium-210 et l'arsenic (14).

## **2. Les expositions professionnelles :**

### **a. L'amiante :**

L'amiante est sans conteste la plus fréquente des expositions professionnelles associée au cancer bronchique. Un excès significatif de décès par cancer bronchique attribuable à une exposition professionnelle à l'amiante a ainsi été observé pour des secteurs industriels de transformations de l'amiante (amiante textile, amiante ciment, ...) ou dans des secteurs d'utilisation secondaire de ce produit tels que les chantiers navals, la production d'électricité, la maintenance industrielle, l'isolation, la métallurgie où l'exposition était considérée comme élevée (15), (16).

### **b. produits chimiques :**

Des composés chimiques, le plus souvent retrouvés à de faibles niveaux dans l'environnement général, ont été reconnus par l'agence internationale de recherche contre le cancer comme étant des agents cancérigènes pulmonaires pour l'Homme (17).

Ex : Le nickel, Le chrome, L'arsenic, Les chlorométhyl ethers, Le gaz moutarde, Les hydrocarbures provenant du charbon et du pétrole (18).

## **3. Pollution atmosphérique :**

Le risque de cancer du poumon augmente en fonction de l'exposition à la pollution atmosphérique (19). Les polluants présents dans l'air varient d'un endroit à l'autre selon les sources d'émissions locales. Ce sont entre autres les gaz d'échappement des moteurs au diesel, le benzène, la matière particulaire et certains hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) (19).

## **4. susceptibilité génétique face au cancer bronchique :**

Il est actuellement admis que l'exposition chronique aux carcinogènes de la fumée de cigarette induit l'accumulation d'altérations génétiques et épigénétiques au niveau de gènes clés de la tumorigénèse, conduisant à l'émergence de lésions bronchiques néoplasiques. Cependant, si le tabac est responsable de la survenue de 80 à 90% des cancers du poumon, seul un faible pourcentage des fumeurs à long terme (10 à 15%) développe ces cancers (20).

Il existe en effet des gènes de prédisposition à la transformation maligne (21).

Les premiers travaux dans le domaine de la génétique du cancer du poumon ont porté sur l'utilisation de gènes candidats pour l'identification des mutations qui ont conféré un risque accru de cancer du poumon (22). Exemple de ces variantes génétiques particulières, qui ont montré un certain rôle dans le risque génétique de cancer du poumon :

**a. Cytochrome p450 :**

- ***CYP1A1*** : Diverses enzymes métaboliques sont impliquées dans la bioactivation et la détoxification des substances carcinogènes (22). *CYP1A1* est un gène de la phase I qui est impliqué dans le métabolisme des hydrocarbures polycycliques aromatiques (23). *CYP1A1* est fortement exprimé dans le tissu pulmonaire normal des fumeurs, mais pas des non-fumeurs, et l'expression diminue au fil du temps chez les anciens fumeurs (22). Plusieurs polymorphismes peuvent moduler l'activité enzymatique et influencer le risque de cancer du poumon (24), (25), (26).

**b. Glutathione-S-transferases :**

- ***GSTMI*** : est une enzyme de phase II qui permet la conjugaison de substances électrophiles susceptibles de former des adduits à l'ADN avec des molécules de glutathion pour créer des composés hydrophiles moins réactifs pouvant être excrétés dans les urines (98). La mutation nulle (délétion homozygote) dans *GSTMI* conduit à un manque d'expression de la protéine *GSTMI* et a été associée à une augmentation des adduits d'ADN dans les tissus pulmonaires (27), (28).
- ***GSTP1*** : est un membre de la famille des glutathion-S-transférases. C'est également une enzyme de la phase II, dont l'expression dans le poumon est forte. Deux polymorphismes ont été identifiés sur le gène *GSTP1* qui confèrent une perte d'activité enzymatique (29).
- ***GSTT1*** : est un autre membre de la famille des glutathion-S-transférases, impliqué dans le métabolisme des petites molécules (par exemple les molécules de monohalométhane et d'oxyde d'éthylène du tabac) (30).

- c. NAT1 et NAT2 :** Ces enzymes catalysent la biotransformation des amines aromatiques pour solubiliser des groupes chimiques en cytochrome P450 produits métabolique de la phase I, produisant ainsi des composés facilement excrétés (31). Les variations de *NAT* conduisent à la fois à une capacité d'acétylation lente et rapide (32). Les génotypes d'acétylation lente de *NAT* sont associés à l'augmentation d'adduits d'ADN au niveau des poumons, ce qui a démontré l'association avec un risque accru de cancer du poumon (33).

#### **d. Gènes de réparation de l'ADN:**

Une diminution de la capacité individuelle à réparer l'ADN peut constituer un facteur de risque de cancer (34). Puisque des anomalies de presque toutes les voies de réparation conduisent à des prédispositions importantes à développer des cancers, on peut imaginer qu'une diminution de la capacité individuelle à réparer l'ADN puisse aussi constituer un facteur de risque de cancer. Des études ont mis en évidence une corrélation entre la capacité de réparation et certains polymorphismes de gènes de la réparation (35) et les effets de polymorphismes de gènes impliqués dans divers systèmes de réparation (BER, NER et DSBR en particulier) sur le risque de cancer du poumon ont été évalués (35).

#### **5. MTHFR et cancer bronchique :**

Certaines études épidémiologiques ont montré que la consommation élevée de fruits et légumes réduit le risque de cancer du poumon (36). En tant que l'un des constituants des fruits et légumes, l'apport alimentaire en folate fournit la protection la plus forte et la plus constante contre le cancer du poumon (37).

La méthylentetrahydrofolate réductase (*MTHFR*) est l'une des enzymes impliquées dans le métabolisme du folate (38). *MTHFR* joue un rôle central dans la fourniture de groupes méthyle par réduction de 5,10-méthylène-tétrahydrofolate en 5-méthyl-tétrahydrofolate, la forme circulante dominante du folate qui sert de substrat pour la reméthylation de l'homocystéine en méthionine avec production subséquente de S -adénylméthionine, le donneur universel du groupe méthyle, nécessaire pour la méthylation d'ADN (39).

La Méthylation de l'ADN est l'un des mécanismes moléculaires par lesquels l'expression génique est régulée. Par exemple, l'hypométhylation est associée à l'activation d'oncogènes, et l'hyperméthylation du promoteur est associée à une perte de fonction de gènes suppresseurs de tumeurs (40).

Le gène de l'enzyme *MTHFR* est situé à l'extrémité du bras court du chromosome 1 (1p36.3) (41). La séquence d'ADN de ce gène est d'environ 2,2 kilobases (kb), est comprend 11 exons (42). Le gène de la *MTHFR* se compose de deux polymorphismes décrits ainsi : C677T et A1298C. D'autres polymorphismes rapportés sont T1317C et G1793A (43), (44). Le polymorphisme le plus commun est C677T, c'est la transition de C en T au niveau du nucléotide

677, située au niveau de l'exon 4 et aboutit à une conversion de l'alanine en valine au niveau du codon 222, ceci se traduit par une enzyme thermo-labile avec diminution de l'activité (43), (44).

Le fragment de 198 pb pour le polymorphisme C677T de *MTHFR* contenant la substitution de paires de bases C> T au niveau du nucléotide 677 crée un site de restriction *Hinf I* (45), (46). Les personnes porteuses du génotype *MTHFR* 677TT ont une activité enzymatique d'environ 30% *in vitro* par rapport aux personnes porteuses du type sauvage 677CC, et les porteurs hétérozygotes ont une activité de 60% (47).

Jusqu'à 15% de la population Américaine est homozygote pour le variant 677TT, qui est associée à des taux plasmatiques d'homocystéine plus élevés et de folate réduite (48).

À ce jour, plusieurs études ont démontré que le polymorphisme du *MTHFR* C677T est associée soit à une augmentation (50) ou une diminution (51) du risque de cancer du poumon, alors que d'autres n'ont observé aucune association entre le génotype *MTHFR* C677T et la prédisposition génétique au cancer du poumon (52).

---

# *Chapitre 2*

## *Patients et Méthodes*

---

## **1. Patients et méthodes :**

Notre étude est une étude rétrospective, concernant 13 patients ayant un CBP confirmé, recrutés au sein du service de pneumo-physiologie du CHU de Constantine. Les patients étaient comparés à une population de 16 témoins sains, non apparentés et appariés aux malades selon l'âge et le sexe.

## **2. Méthodes utilisées :**

### **2.1. Etude Moléculaire :**

#### **2.1.1. Questionnaire :**

Un interrogatoire a été effectué pour chaque patient afin de recueillir les données essentielles à notre étude.

#### **2.1.2. Consentement :**

Afin de réaliser les prélèvements de sang des malades, chaque patient doit tout d'abord formuler son consentement.

#### **2.1.3. Prélèvement sanguin :**

Une quantité de 6 à 10ml est recueillie stérilement dans des tubes EDTA (Ethylène acide Diamino Tétra Acétate) (agent anticoagulant et chélateur des ions divalents tels  $Mg^{2+}$  nécessaires au fonctionnement des nucléases).

#### **2.1.4. Etiquetage :**

Tous les prélèvements sont étiquetés, portant le nom et le prénom des patients, type histologique et date du prélèvement.

#### **2.1.5. L'extraction de l'ADN :**

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

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

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

phase aqueuse (Tris EDTA 10 :1). Sa pureté ainsi que sa concentration sont estimées par spectrophotométrie à UV.

➤ **Le protocole d'extraction d'ADN :**

**1. Préparation des leucocytes**

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

**2. Extraction de l'ADN**

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

- Récupérer la pelote d'ADN par une pipette pasteur et la rincer 2 fois dans l'éthanol à 70% dans un tube nunc (eppendorf) stérile.

### 3. Solubilisation de l'ADN :

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

#### ➤ Estimation de la concentration de l'ADN et contrôle de sa qualité :

##### 1. Contrôle de la qualité d'ADN :

- **Principe :**

- l'ADN absorbe à 260 nm alors que les protéines (témoins de contamination) absorbent à 280 nm.
- l'échantillon est dilué au 1/100 dans l'eau distillée (10  $\mu\text{l}$  de l'ADN solubilisé dans 990  $\mu\text{l}$  de l'eau stérile).
- Les DO (densité optique) sont relevées à 260 et 280 nm dans le même type de cuve que celle ayant servi à faire le zéro (eau stérile).
- Par le moyen du rapport de DO 260 nm/ DO 280 nm, la pureté de l'ADN est déterminée en indiquant la contamination de l'ADN par les protéines.

On considère que l'ADN est suffisamment pur lorsque le rapport  $R = \text{DO}_{260} / \text{DO}_{280}$  est compris entre 1,6 et 2 ( $1,6 < R \leq 2$ ). nous avons obtenu une moyenne de 1.82 sur l'ensemble de nos échantillons.

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

##### 2. Estimation de la concentration de l'ADN :

- **Principe**



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

**1 unité de DO<sub>260</sub> nm = 50 µg/ml d'ADN double brin.**

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

### **2.1.6. La réaction de polymérisation en chaîne (PCR) :**

La PCR est basée sur le mécanisme de la réplication de l'ADN *in vivo* (49), elle permet d'amplifier *in vitro* une séquence d'ADN spécifique un nombre considérable de fois(49). Elle est réalisée dans un mélange réactionnel qui comprend l'extrait d'ADN (ADN matriciel), la Taq-polymérase, les amorces et les quatre désoxyribonucléosides triphosphates (dNTP) dans une solution tampon(49).

#### **1. préparation du milieu réactionnel de la PCR pour MTHFR**

**Tableau I : Milieu réactionnel de la PCR**

PCR	MIX	X Nombre D'ADN	quantité
H2O	35,2µl		
Tampon 10 X sans mg cl2	5µl		
DNTP 2mM	5µl		
MgCl2 25 mM (1,5 mM)	3µl		
Oligo F (100 pmol/ µl)	0,2µl		
Oligo R (100pmol/µl)	0,2µl		
Taq polymérase	0,4µl		

- Mettre dans chaque tube de PCR 2 µl d'ADN + 49 µl du mix.
- passer au thermocycleur et appliquer le programme MTHFR.

#### ➤ **Amorces utilisés :**

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

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

#### ➤ **Dilutions des solutions mères utilisées :**

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

Oligo F solution fille : 37,28 µl de Oligo F solution mère + 62,72 µl H<sub>2</sub>O distillé.

- Oligo R solution mère 333µl

Oligo R solution fille : 30 µl de Oligo R solution mère + 69,97 µl H<sub>2</sub>O distillé

- dNTP solution mère

dNTP solution fille : 10 µl de dNTP solution mère + 90 µl H<sub>2</sub>O

- MgCl<sub>2</sub> solution mère :

50µl MgCl<sub>2</sub> + 50µl H<sub>2</sub>O distillé

**Tableau II : déroulement des cycles de la PCR dans le thermocycleur**

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

## 2. Préparation des gels d'agarose :

Pour le contrôle PCR : 1,5 g d'agarose + 100 ml TBE 1X + 10 µl BET (Bromure d'Ethidium)

Pour la digestion : 3 g d'agarose + 100 ml TBE 1X + 10 µl BET

On prépare un gel d'agarose à 3 % (3g d'agarose dans 100 ml de TBE 1 X), on y ajoute quelques gouttes de BET, on mélange et on coule immédiatement le contenu de bûcher dans le support en verre en ayant soin de ne pas faire de bulles. On place les peignes afin de former des puits et on laisse polymériser à température ambiante.

## 3. Préparation du milieu de digestion par l'enzyme Hinf I :

**Tableau III : Milieu de digestion par l'enzyme Hinf I**

Milieu de digestion	Quantité en µl
Tampon de Hinf I	5 µl
Hinf I	1 µl
H <sub>2</sub> O	4 µl
BSA (Bovine sérum)	0,2 µl

albumine)	
-----------	--

X (nombre de produit de PCR)

30  $\mu$ l produit PCR + 10  $\mu$ l de Mix**4. Dépôts des échantillons :**- 15  $\mu$ l de produits de digestion + 2 à 3  $\mu$ l de Bleu de Bromophénol**2.1.7 Digestion par l'enzyme de restriction *Hinf*I :**

L'*Hinf*I est une enzyme de restriction extraite à partir de la bactérie *Haemophilus influenzae*, elle reconnaît et clive la séquence G/ANTC en position 222 codant pour l'Alanine. Les produits de la PCR sont incubés pendant une nuit dans un bain Marie à 37 °C afin de permettre la digestion. Après incubation ils sont concentrés au speed-vac pendant quelques minutes.

**➤ Dépôt des échantillons :**

Quand le gel est polymérisé, on plonge le système dans la cuve horizontale contenant un volume d'environ 450 ml du tampon Tris Borate EDTA (TBE 1X). On ôte le peigne et on dépose dans chaque puits du gel 12 à 15  $\mu$ l du produit digéré et 3  $\mu$ l de bleu de Bromophénol.

**➤ Migration :**

La migration se fait en parallèle avec des marqueurs de taille à un voltage de 100 volts pendant vingt à trente minutes.

**➤ Révélation du profil électrophorétique**

Le BET fluorescent aux UV va se fixer sur l'ADN et va permettre de visualiser les fragments de restriction dans le gel placé sur la table à UV. Le gel est ensuite photographié.

**➤ Profils RFLP obtenus :**

La digestion enzymatique par *Hinf* I donne les fragments : 175 pb, 198 pb, le premier apparaît sur le profil électrophorétique sous forme d'une seule bande qui correspond au type homozygote muté (TT), le deuxième apparaît aussi sous forme d'une seule bande, il s'agit du type homozygote sauvage (CC). Les deux bandes ensemble, correspondent au type hétérozygote (CT).

**2.2. Etude Statistique :**

L'étude statistique est de type cas-témoins basée sur le calcul d'*odds-ratio* afin de déterminer s'il existe une association entre le polymorphisme étudié et le risque d'un CBP.

---

*Chapitre 3*

*Résultats et*

*Discussion*

---

## 1. Résultats et discussion:

### 1.1. Enquête statistique :

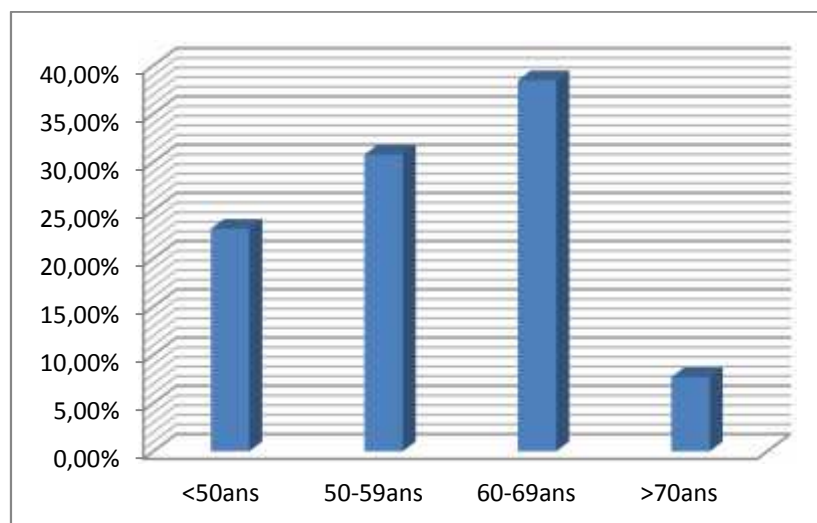
Les résultats de l'enquête statistique effectuée concernent les paramètres suivants : âge, sexe, type histologique et habitudes toxiques.

#### 1.1.1. Répartition des malades selon l'âge :

Répartition des malades selon l'âge :

**Tableau IV** : Répartition des patients selon l'âge

Tranche d'âge	Pourcentage %
<50 ans	23.07%
50 – 59ans	30.76%
60 – 69 ans	38.46%
>70 ans	7.69%



**Figure 5** : Tranche d'âge des malades

- ❖ La tranche d'âge la plus touchée est celle de 60-69 ans avec un âge moyen de 55.76 ans ; en effet la plupart des CBP sont diagnostiqués entre la sixième et septième décennie de la vie (50) (51), (52).

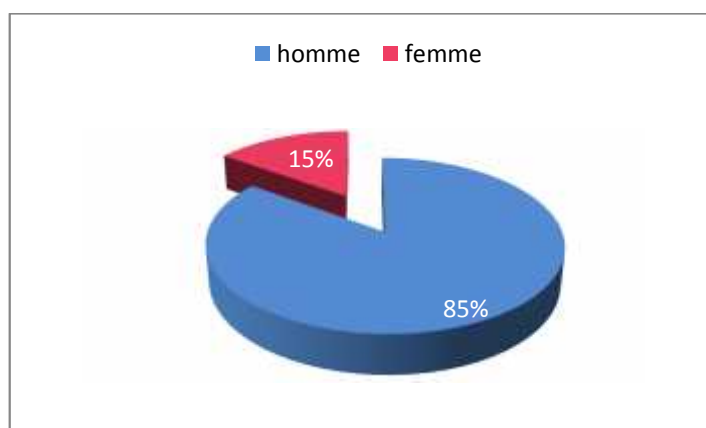
Nos résultats se rapprochent de ceux obtenus par Mihi Yang Yankee Cloi et al. (53), Isabelle Stücker et al. (54), Ries LAG et al (55), Greenlee RT et al. (56), Ian Hunt et al. (57), Paula Mota et al. (58), Livia Borsoi et al (59).

### 1.1.2. Répartition des malades selon le sexe :

#### Répartition des malades selon le sexe :

**Tableau V** : Répartition des malades selon le sexe

	Homme	Femme
Nombre de malade	11	2
Fréquence	85%	15%



**Figure 6** : Répartition des malades selon le sexe

❖ 85% des patients de l'étude sont des hommes.

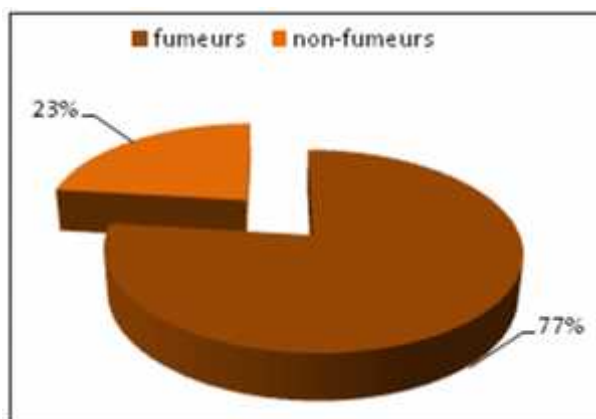
Le CBP qui a longtemps concerné quasi exclusivement les hommes fumeurs, atteint de plus en plus de femmes. Aux états unis, l'incidence de la mortalité liée au tabac, ébauche un plateau chez l'homme, mais continue à augmenter chez la femme (57). Selon Paula Mota et al. Les hommes sont les plus touchés avec 75 % d'hommes et 25 % de femmes (58). Dans une autre étude Mihi Yang Yankee Cloi et al. ont démontré aussi une prédominance masculine de 67.6 %. (53).

### 1.1.3. Répartition selon les habitudes toxiques

#### Tabagisme :

**Tableau VI** : Répartition selon les habitudes tabagiques

	Fumeurs	Non-fumeurs
Nombre de malades	10	3
Fréquence	77%	23%



**Figure 7** : Répartition selon les habitudes tabagiques

- ❖ 77% des patients de l'étude sont des fumeurs.

La principale cause du CBP est le tabagisme actif, responsable de plus de 90% des tumeurs. La démonstration de causalité entre CBP et usage de produits du tabac, a été prouvée depuis 1950 par Doll R et al (60).

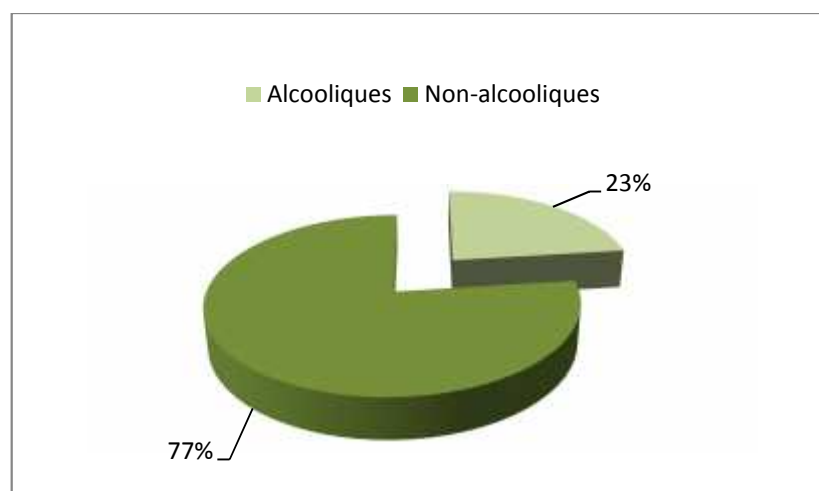
Le Centre international de Recherche sur le Cancer (CIRC) a estimé que dans les populations où il y a consommation prolongée de cigarettes, la proportion de cancers du poumon attribuable au tabagisme est supérieure à 90% (61). Ceci concorde avec les résultats de Mohamed Safique Islam et al où les fumeurs constituent 91.5% de l'ensemble des malades (62). De même Blot WJ. et al ont pu constater qu'environ 90 % des CBP surviennent chez des fumeurs (63).

### **Alcool :**

**Tableau VII** : Répartition selon les habitudes alcoolique

	Alcooliques	Non-alcooliques
Nombre de malades	3	10
Fréquence	23%	77%





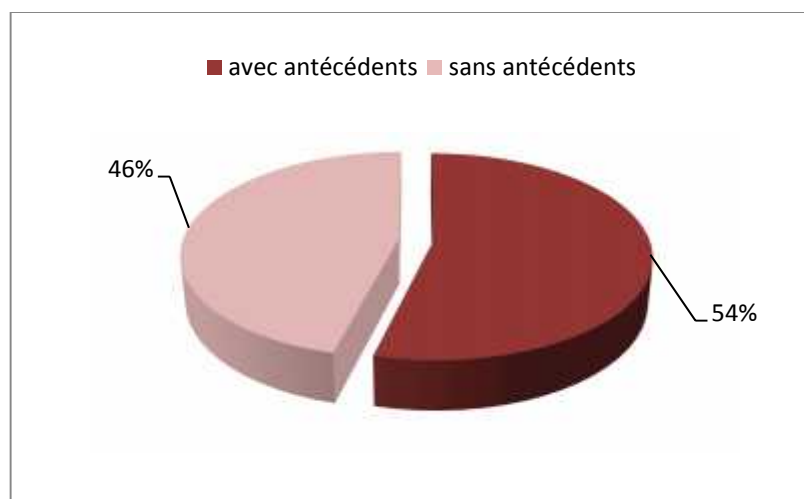
**Figure 8** : Répartition selon les habitudes alcoolique

- ❖ 23% des patients de l'étude consommaient de l'alcool.

#### 1.1.4. Répartition selon les antécédents familiaux :

**Tableau VIII** : Répartition selon les antécédents familiaux

	Avec antécédents	Sans antécédents
Nombre de malades	7	6
Fréquence	54%	46%



**Figure 9** : Répartition selon les antécédents familiaux

- ❖ 54% de nos patients ont des antécédents familiaux.

Un facteur héréditaire est le plus souvent soupçonné devant une agrégation familiale de cancers. Seuls 5 à 10 % des cancers ont un mode de transmission mendélien. (64). Néanmoins, quelques agrégations familiales ont été rapportées pour les CBP (65). Les études

épidémiologiques datant des années 1960 ont indiqué une susceptibilité familiale au CBP avec une composante distincte d'apparition précoce (66), (67), (68).

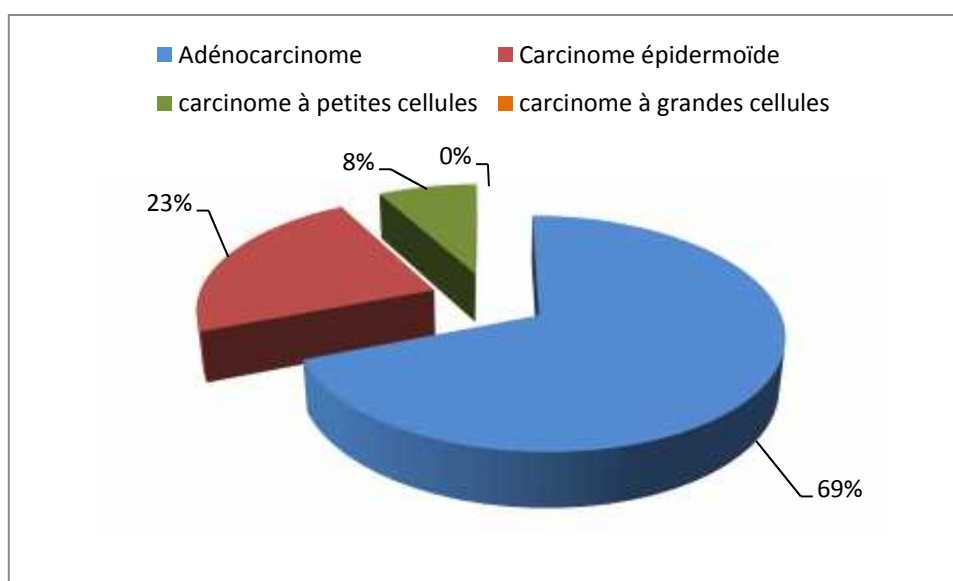
L'analyse de la généalogie des patients de l'étude, a montré que 54 % des patients ont des agrégations familiales de CBP et/ou autre. Ce qui s'éloigne des résultats décrits dans les études antérieures ; la proportion des patients atteints de CBP ayant des antécédents familiaux de CBP est comprise entre 3% et 16,5% (51), (69). Xinjun Li et al. Ont rapporté un pourcentage de 0,01 % d'agrégations familiales dans leur étude menée sur 55238 patients. (65). Dans une autre étude, Michelle L. et al. ont observé un pourcentage de 11 % d'agrégations familiales parmi 12 204 patients. (70).

Il ne faut cependant pas ignorer que dans un *petit échantillon*, la puissance statistique demeure toujours faible.

### 1.1.5. Répartition selon le type histologique :

**Tableau X** : Répartition selon le type histologique

Types histologiques	Nombre de malades	Fréquence
Adénocarcinome	8	61%
Carcinome épidermoïde	3	23%
carcinome à petites cellules	1	8%
Carcinome à grandes cellules	0	0%



**Figure 11** : Répartition selon le type histologique

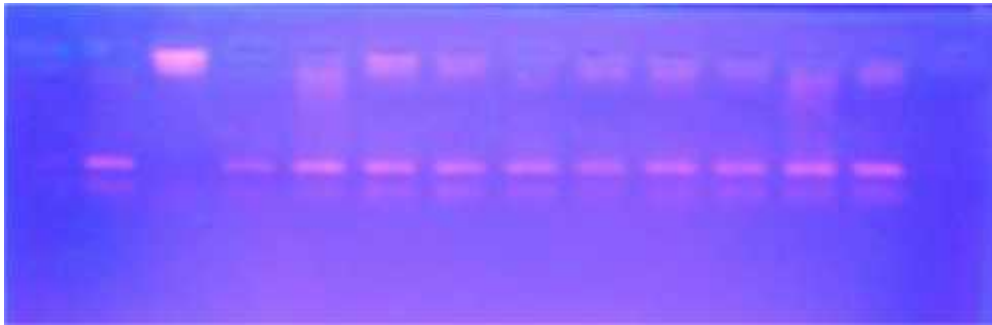
Chez les patients de l'étude l'adénocarcinome est le type histologique prépondérant avec un pourcentage de 61%. Résultat qui concorde avec les travaux de Mihi Yang Yankee Cloi où le type le plus répandu est l'adénocarcinome avec (54.7%) suivi du carcinome épidermoïde (22.3%) puis du CPC en dernière position (9.7%) (53). Les femmes montrent un risque plus élevé pour l'adénocarcinome, qui est faiblement lié au tabagisme, les raisons de ces différences liées au sexe ne sont pas encore claires (53). De même Paula Mota et al ont démontré une prédominance du type adénocarcinome avec un pourcentage 34 %, le type épidermoïde 30 %, CPC 19 %, autres 17 % (58). Ce qui en accord avec les résultats obtenus par Niels Reinmuth et al. (71).

Nos résultats ne sont pas en accord avec les travaux de Devesa SS et al et R inger G où le Carcinome épidermoïde est le plus fréquent des CBP. Le carcinome épidermoïde comprend 44% des CBP chez les hommes et 25% chez les femmes. Les Adénocarcinomes comprennent 28% des cas chez les hommes et 42% chez les femmes (72), (73).

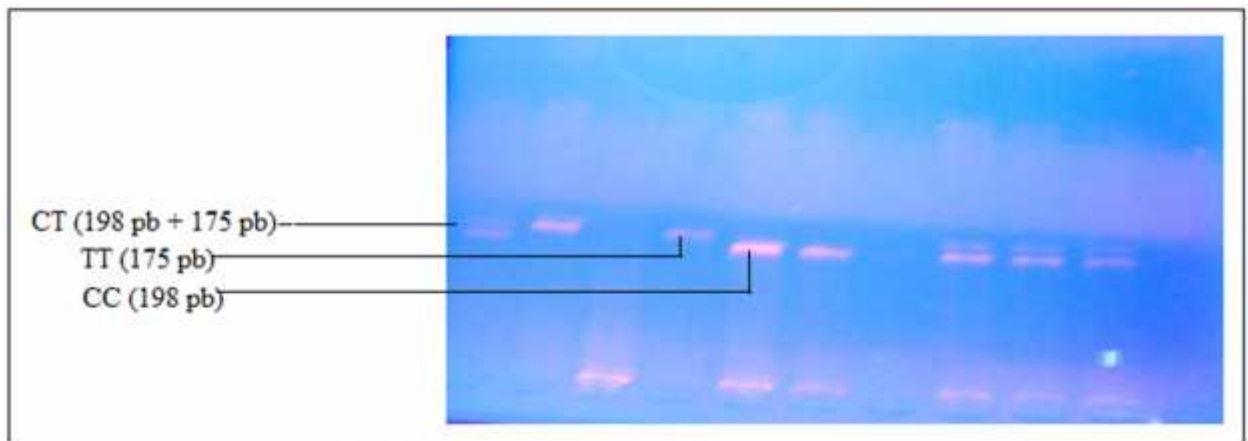
Une autre étude a indiqué que le carcinome épidermoïde vient en première position avec 43.39%, l'adénocarcinome en deuxième position avec 34.91%, le CPC avec 18.8% et le carcinome à grandes cellules avec 1.89%, le carcinome adénoquameux avec 0.94% selon Mohamed Safique Islam (62). Pareillement Isabelle Stücker et al. ont rapporté une prédominance du type épidermoïde (54).

## 2. Etude moléculaire :

Les résultats obtenus selon l'approche PCR-RFLP sont les suivants :



**Figure 12** : Profil d'ADN du contrôle PCR



**Figure 13** : profil de digestion par l'enzyme *Hinf I*

### ➤ Répartition des fréquences génotypiques et alléliques chez les cas et les témoins

**Tableau XI** : nombre de patients et de témoins pour chaque génotype

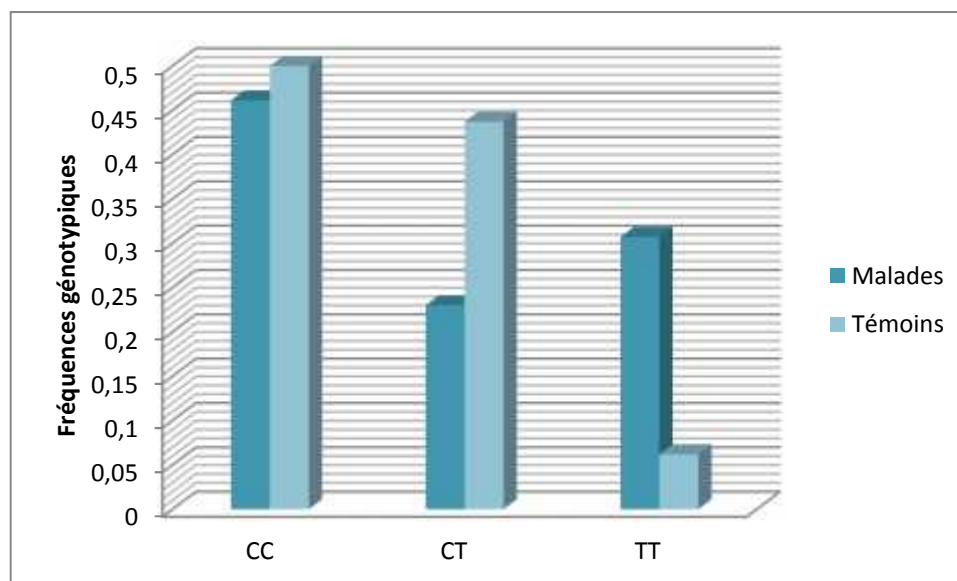
Génotypes	Patients = 13	Témoins = 16
CC	6	8
CT	3	7
TT	4	1

➤ **Fréquences alléliques et génotypiques :**

1. **Fréquences génotypiques :**

**Tableau XII:** Fréquences génotypiques des malades et des témoins

fréquences génotypiques	Malades	Témoins
CC	0.461	0.5
CT	0.230	0.437
TT	0.307	0.062

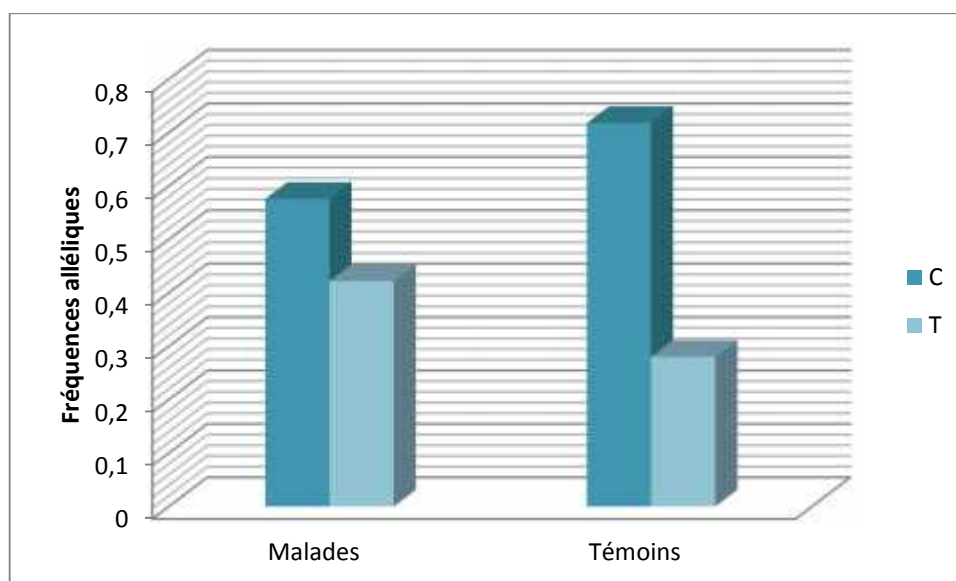


**Figure 14:** Fréquences génotypiques chez les malades et les témoins

2. **Fréquences alléliques:**

**Tableau XIII :** Fréquences alléliques des malades et des témoins

Fréquences alléliques	Malades	Témoins
C	0.576	0.718
T	0.422	0.280



**Figure 15:** Fréquences alléliques chez les patients et les témoins

❖ **Calcul des OR :**

**Tableau XIV :** Calcul des Odds-Ratio (OR)

	OR	P valeur
CC vs TT	5.33 0.35<OR<164.10	0.364
CC vs CT	0.57 0.07<OR<4.25	0.830

Intervalle de confiance à 95%.

La P valeur pour les deux est supérieur à 0.05, donc il n'y a aucune association entre le polymorphisme en question et le risque d'un cancer broncho-pulmonaire.

### **3. DISCUSSION**

Shen et al. Les tout premiers à avoir examiné l'association entre les polymorphismes du gène de la MTHFR et le risque de cancer du poumon (74).

➤ Nos résultats sont en accord avec :

1/ Arslan et al. dans une méta-analyse n'ont suggéré aucune association entre le polymorphisme C677T du gène de la MTHFR et le CBP (75).

- 2/ Une méta-analyse de Zhang, et coll. suggère que le polymorphisme C677T n'est pas significativement corrélé avec le risque de CBP chez la population totale (76).
  - 3/ Les génotypes 677TT et 677CT de MTHFR n'étaient pas significativement associés au risque de cancer du poumon par rapport au génotype 677CC. Dans l'ensemble, il n'y avait aucune preuve d'une association entre MTHFR et le risque de cancer du poumon pour le polymorphisme C677T. Il n'y avait pas de preuve d'un effet interactif entre un faible apport en acide folique et les génotypes MTHFR sur le risque de cancer du poumon (77).
  - 4/ Des méta-analyses ont suggéré qu'il n'y avait pas d'association entre les polymorphismes C677T de la MTHFR et le risque de cancer du poumon (78), (79).
  - 5/ Le polymorphisme C677T de MTHFR ne joue pas un rôle important dans l'étiologie du cancer du poumon (81).
  - 6/ Les résultats d'une étude au Taiwan fournissent une preuve que l'allèle C du polymorphisme C677T de MTHFR peut être associé à l'apparition d'un cancer du poumon (82).
- Cela n'est pas en accord avec les travaux des équipes suivantes, qui ont décrit une association entre le variant C677T et le risque d'un CBP :
- 1/ Kiyohara, et al. ont rapporté que le génotype TT du polymorphisme C677T était significativement associée à un risque accru de cancer du poumon (83).
  - 2/ Cinq études ont constaté que le variant C677T de la MTHFR montre une association significative avec la prédisposition au cancer du poumon chez les fumeurs (83), (84), (85), (86), (87) et ont constaté que les porteurs homozygotes TT hommes avaient un risque de 36% plus élevé (83), (84), (85), (86), (87).
  - 3/ Les patients atteints de cancer du poumon avaient un pourcentage statistiquement plus élevé du génotype 677TT de la MTHFR par rapport aux témoins non cancéreux (88).
- 1/ Parmi 20 études impliquant 11 653 patients atteints de cancer du poumon et 12 032 sujets témoins concernant le polymorphisme 677C> T de MTHFR et le risque de cancer du poumon, sept études ont suggéré que ce polymorphisme est associé à un risque accru de cancer du poumon (89).
  - 2/ Selon Boccia et al. le génotype 677TT a été associé à un risque accru de cancer du poumon (90).

3/ Selon Zheng-Bing Liu et al. et après stratification selon l'origine ethnique pour une identification d'association plus précise, le génotype MTHFR 677TT semble augmenter le risque de cancer du poumon dans la population asiatique (80).

D'autre part certaines études ont démontré des rôles protecteurs pour les deux variants C et T :

- 1/ Le variant C677T de MTHFR réduit le risque de cancer du poumon (91).
- 2/ Le variant C677T pourrait diminuer le risque de cancer du poumon chez les femmes (76).
- 3/ Dans une étude au Taiwan, les génotypes CT et TT en association avec le tabagisme confèrent une diminution du risque de CBP (82).



---

# *Conclusion et Perspectives*

---

## **CONCLUSION :**

L'étude que nous avons entreprise se divise en deux parties :

- Une étude moléculaire de type cas-témoins portant sur 13 patients comparés à 16 témoins sains.
- Une enquête statistique.

L'étude moléculaire a porté sur l'enzyme MTHFR du métabolisme des folates : L'enzyme 5-10 méthylènetétrahydrofolate réductase (MTHFR) est une enzyme clé dans le métabolisme de l'acide folique, qui joue un rôle primordial dans le maintien de la stabilité génomique, via la provision de nucléotides nécessaires à la synthèse d'ADN et sa réparation.

Dans le présent travail, nous visons à vérifier s'il existe une association entre la mutation C677T et le CBP ; cette mutation ponctuelle entraîne la substitution d'une cytosine par une thymidine au niveau de la 677<sup>e</sup> paire de base dans le quatrième exon (C677T), aboutissant à la substitution d'une alanine par une valine dans la séquence protéique. En effet, il existe des arguments expérimentaux et épidémiologiques pour penser que le polymorphisme C677T de la MTHFR pourrait être un facteur de risque de CBP.

Les résultats de l'enquête statistique ont montré que :

- Le cancer broncho-pulmonaire touche beaucoup plus les hommes 85 % que les femmes 15 %.
- Le tabagisme reste le facteur étiologique le plus incriminé ; ainsi 77 % des malades sont des fumeurs.
- L'âge médian des malades est de 56 ans.
- Le type adénocarcinome est le plus diagnostiqué avec un taux de 61 %.
- 54 % des patients ont eu des antécédents familiaux.

Les résultats de l'étude moléculaire suggèrent qu'il n'y a aucune association entre la mutation C677T et le CBP.

Ces résultats appellent à des travaux complémentaires de confirmation, car ils peuvent manquer de fiabilité en raison de la petitesse de l'échantillon.

Enfin, la prévention constitue la stratégie à long terme la plus rentable pour lutter contre le CBP.

---

# *Liste des Références*

---

## Liste Des Références

- (1) Pp1 and world association of planetarian health . anatomie et physiologie humaines. chapitre 19; p126-127.
- (2) Alain Lockhart. Physiologie humaine. SHERWOOD. 2<sup>e</sup> 2dition. France : De Boeck, 2008, 625 pages. p 367.
- (3) Alain Lockhart. Physiologie humaine. SHERWOOD. 2<sup>e</sup> 2dition. France : De Boeck, 2008, 625 pages. p 365, p 366.
- (4) Arnaud Van Den Broeck. Aspects Epigénétiques Des Cancers Broncho-Pulmonaires & Implication De L'histone Acétyltransférase Tip60. Biologie Cellulaire Et Intégrative. Université Grenoble I. 2009. 185 Pages.
- (5) Broeck AVD. (2009). Aspects épigénétiques des cancers broncho-pulmonaires et implication de l'histone acétyltransférase Tip60. Thèse de doctorat. P20.
- (6) Wislez M, Antoine M, Baudrin L, Poulot V, Neuville A, Pradere M, et al. (2010). Non-mucinous and mucinous subtypes of adenocarcinoma with bronchioloalveolar carcinoma features differ by biomarker expression and in the response to gefitinib. Lung Cancer; 68: 185-91.
- (7) Denotte M. L'utilisation de la thérapie ciblée dans les cancers bronchiques. 2009. Thèse de doctorat. P 28-29.
- (8) Denotte M. L'utilisation de la thérapie ciblée dans les cancers bronchiques. 2009. Thèse de doctorat. P 28-29.
- (9) Bousquet E. Rôle de la GTPase RhoB dans l'oncogénèse pulmonaire. Thèse de doctorat. P 14-15.
- (10) Takei H, Asamura H, Maeshima A, et al. (2002). Large cell neuroendocrine carcinoma of lung: clinicopathologic study of eighty-seven cases. J Thorac Cardiovasc surg; 124 :285.
- (11) Dr. F. Agag; Epidémiologie des Cancers; établissement hospitalier universitaire d'Oran; service d'épidémiologie et de médecine préventive; décembre 2012 ; p6
- (12) Dr. F. Agag; Epidémiologie des Cancers; établissement hospitalier universitaire d'Oran; service d'épidémiologie et de médecine préventive; décembre 2012 ; p16.
- (13) M. Hamdi Cherif · Z. Zaidi et al. 2010. Registre du cancer de Sétif (Algérie) : incidence, tendance et survie, 1986–2005. J. Afr. Cancer (2010) 2:245-258.
- (14) Pr Quoix Et Dr Menecier; Cancerologie Clinique Onco-Hématologie ; Cancers Brochopulmonaires Primitifs, Epidemiologie, Etiologie, Anatomie Pathologique ; Diagnostic

- 
- Et Traitement, Polycopie: Module 10 ; Faculte De Medecine De Strasbourg ; Année 2005-2006 ; p2.
- (15) HUEPER WC. Occupational and environmental cancers of the respiratory system. Springer-Verlag 1966.
- (16) IARC (INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER). IARC Monographs on evaluation to carcinogenic risks to humans. IARC, Vol 14, Lyon, France, 1977.
- (17) L. Thiberville.C. Paris. Epidémiologie et facteurs de risque des cancers bronchiques primitifs. ; EMC pneumologie. Vol1 p 7-18. 2004.
- (18) Pr Quoix Et Dr Menecier; Cancerologie Clinique Onco-Hématologie ; Cancers Brochopulmonaires Primitifs, Epidemiologie, Etiologie, Anatomie Pathologique ; Diagnostic Et Traitement, Polycopie: Module 10 ; Faculte De Medecine De Strasbourg ; Année 2005-2006 ; p3.
- (19) J Pincemail, M Meurisse, et al. Fumée de cigarette: une source potentielle de production d'espèces oxygénées activées ; 2005 ; p2.
- (20) Lippman SM, Spitz MR (2001). Lung cancer chemoprevention: an integrated approach. *J Clin Oncol* 19: 74S-82S.
- (21) Shields PG (2002). Molecular epidemiology of smoking and lung cancer. *Oncogene* 21: 6870-6.
- (22) Ariela L.Marshall and David C.Christiani. 2013. Genetic susceptibility to lung cancer-light at the end of the tunnel. Oxford University Press. *Carcinogenesis* vol.34 no.3 pp.487–502, 2013.
- (23) Arnaud Van Den Broeck. Aspects Epigénétiques Des Cancers Broncho-Pulmonaires & Implication De L'histone Acétyltransférase Tip60. *Biologie Cellulaire Et Intégrative*. Université Grenoble I. 2009. 185 Pages.
- (24) Wu,X. *et al.* (2004) Genetic susceptibility to tobacco-related cancer. *Oncogene*, 23, 6500–6523.
- (25) Vineis,P. *et al.* (2003) CYP1A1 T3801 C polymorphism and lung cancer: a pooled analysis of 2451 cases and 3358 controls. *Int. J. Cancer*, 104, 650–657.
- (26) Song,N. *et al.* (2001) CYP 1A1 polymorphism and risk of lung cancer in relation to tobacco smoking: a case-control study in China. *Carcinogenesis*, 22, 11 16.
- (27) Lee,M.S. *et al.* (2010) Synergistic effects of NAT2 slow and GSTM1 null genotypes on carcinogen DNA damage in the lung. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 19, 1492–1497.
-

- 
- (28) McWilliams, J.E. et al. (1995) Glutathione S-transferase M1 (GSTM1) deficiency and lung cancer risk. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 4, 589–594.
- (29) Nakajima, T. et al. (1995) Expression and polymorphism of glutathione S-transferase in human lungs: risk factors in smoking-related lung cancer. *Carcinogenesis*, 16, 707–711.
- (30) Pemble, S. et al. (1994) Human glutathione S-transferase theta (GSTT1): cDNA cloning and the characterization of a genetic polymorphism. *Biochem. J.*, 300(Pt 1), 271–276.
- (31) Spurr, N.K. et al. (1995) Polymorphisms in drug-metabolizing enzymes as modifiers of cancer risk. *Clin. Chem.*, 41(12 Pt 2), 1864–1869.
- (32) Bouchardy, C. et al. (1998) N-acetyltransferase NAT1 and NAT2 genotypes and lung cancer risk. *Pharmacogenetics*, 8, 291–298.
- (33) Zienolddiny, S. et al. (2008) A comprehensive analysis of phase I and phase II metabolism gene polymorphisms and risk of non-small cell lung cancer in smokers. *Carcinogenesis*, 29, 1164–1169.
- (34) Benhamou S, Sarasin A. ERCC2 /XPD Gene Polymorphisms And Lung Cancer: A Huge Review. *Am J Epidemiol* 2005, 161: 1-14.
- (35) BENHAMOU S, SARASIN A. ERCC2 /XPD gene polymorphisms and lung cancer: a HuGE review. *Am J Epidemiol* 2005, 161 : 1-14.
- (36) Büchner, F.L., et al. 2010. Fruits and vegetables consumption and the risk of histological subtypes of lung cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Cancer Causes Control* 21 (3), 357–371.
- (37) Lee, M.S., Asomaning, K., Su, L., Wain, J.C., Mark, E.J., Christiani, D.C., 2012. MTHFR polymorphisms, folate intake and carcinogen DNA adducts in the lung. *Int. J. Cancer* 131 (5), 1203–1209.
- (38) Bailey, L. B., and Gregory, J. F., III. Polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase and other enzymes: metabolic significance, risks and impact on folate requirement. *J. Nutr.*, 129: 919–922, 1999.
- (39) Kim, Y. I. Methylene-tetrahydrofolate reductase polymorphisms, folate, and cancer risk: a paradigm of gene-nutrient interactions in carcinogenesis. *Nutr. Rev.*, 58: 205–209, 2000.
- (40) Jacob, R. A., Gretz, D. M., Taylor, P. C., James, S. J., Pogribny, I. P., Miller, B. J., Henning, S. M., and Swendseid, M. E. Moderate folate depletion increases plasma homocysteine and decreases lymphocyte DNA methylation in postmenopausal women. *J. Nutr.*, 128: 1204–1212, 1998.
- (41) Goyette P, Pai A, Milos R et al (1998) Gene structure of human and mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). *Mamm Genome* 9(8):571–582.
-

- 
- (42) Goyette P, Rozen R (2000) The thermolabile variant 677C>T can further reduce activity when expressed in cis with severe mutations for human methylenetetrahydrofolate reductase. *Hum Mutat* 16(2):132–138.
- (43) Robien K, Ulrich CM (2003) 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and leukemia risk: a HuGE minireview. *Am J Epidemiol* 157(7):571–582.
- (44) Jacques PF, Bostom AG, Williams RR, Ellison RC, Eckfeldt JH, Rosenberg IH, Selhub J, Rozen R: Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase, and plasma homocysteine concentrations. *Circulation* 1996, 93(1):7-9.
- (45) Frosst, P., Blom, H. J., Milos, R., Goyette, P., Sheppard, C. A., Matthews, R. G., Boers, G. J., den Heijer, M., Kluijtmans, L. A., van den Heuvel, L. P., et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat. Genet.*, 10: 111–113, 1995.
- (46) Weisberg, I., Tran, P., Christensen, B., Sibani, S., and Rozen, R. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. *Mol. Genet. Metab.*, 64: 169–172, 1998.
- (47) Shen H, Spitz MR, Wang LE, Hong WK, Wei Q. Polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase and risk of lung cancer: a case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;10: 397-401.
- (48) Deloughery, T. G., Evans, A., Sadeghi, A., McWilliams, J., Henner, W. D., Taylor, L. M., Jr., and Press, R. D. Common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. Correlation with homocysteine metabolism and late-onset vascular disease. *Circulation*, 94: 3074–3078, 1996.
- (49) S. Primose. R.Twyman. R. Old. *Principes De Génie Génétique*. 6 ème édition. Espagne. De Boeck & Larcier s.a. 2004. 386 pages.
- (50) Kuo CW, Chen YM, Chao JY, et al. Non-small cell lung cancer in very young and very old patients. *Chest* 2000; 117(2):354–357.
- (51) Li X, Hemminki K. Inherited predisposition to early onset lung cancer according to histological type. *Int J Cancer* 2004;112(3):451–457
- (52) Port JL, Kent M, Korst RJ, et al. Surgical resection for lung cancer in the octogenarian. *Chest* 2004; 126(3):733– 738.
- (53) Mihi Yang Yankee Cloi, Bin Hwangbo. Combined effects of genetic polymorphisms in six selected genes on lung cancer susceptibility. *Lung cancer* (2007) 57, 135-142.
-

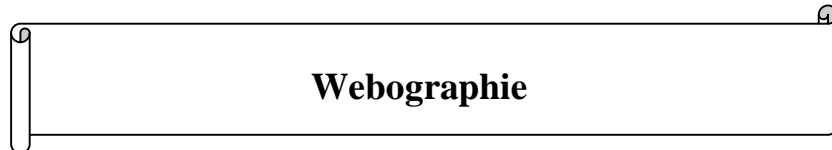
- 
- (54) Isabelle Stücker, Ari Hirvanen, Isabelle de Waziers et al. Genetic polymorphisms of glutathione S-transferases as modulators of lung cancer susceptibility. *Carcinogenesis*, vol 23 N° 9 1475-1481. 2002.
- (55) Ries LAG, Kosary CL, Hankey BF. SEER Cancer Statistics Review 1975–2000. Bethesda, MD: National Cancer Institute, 2003.
- (56) Greenlee RT, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics, 2000. *CA Cancer J Clin* 2000; 50: 27-33.
- (57) Ian Hunt, Martin Muers, Tom Treasure. ABC of lung cancer. BMJ Books. 2009.
- (58) paula Mota, David Silva Moura, Maria Graça Vale. Polimorfismos dos alelos m1 e m2 do gene CYP1A1: susceptibilidade genética para o cancro do pulmão. *Revista Portuguesa de Pneumologia*. Vol XVI N°1. 2010.
- (59) Livia Borsoi, Ursula Kunze, Michael Kunze. Trends in mortality and mean age at death from lung cancer in Austria (1975-2007). *Cancer Epidemiology* 35 p 120-125. 2011
- (60) Doll R, Hill AB: A study of the etiology of carcinoma of the lung *BMJ* 1952 ; 1271-86), (Winder E, Graham EA, Tobacco smoking as a possible etiologic factor in bronchogenic carcinoma ; a study of six hundred and eighty four proved cases. *JAMA* 1950, 143; 329-46.
- (61) IARC. Tobacco smoking. In: IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to humans. Lyon, France: IARC, 1986.
- (62) Mohamed Safique Islam, Maizbho Uddin Ahmed, Mohamed Slahdaat Bin Sayeed. Lung cancer risk in relation to nicotinic acetylcholine receptor, CYP2A6 and CYP1A1 genotypes in the Bangladeshi population, *Clinico Chimio Acta* (2013) 11-19.
- (63) Blot WJ, McLaughlin JK, Winn DM, Austin DF, Greenberg RS, Preston-Martin S, et al. Smoking and drinking in relation to oral and pharyngeal cancer. *Cancer Res* 1988 ; 48 : 3282-7.
- (64) Serge Evard, François Guillemin, Jaques Dauplat. *Chirurgie oncologique : concepts et techniques*. John Libbey Eurotext. 2006.
- (65) Xinjun Li, Kari Hemminki : Familial multiple primary lung cancers : a population based analysis from sweden lung cancer. *Lung cancer* vol 47. P 301-307. 2005.
- (66) Samet JM, Humble CG, Pathak DR. Personal and family history of respiratory disease and lung cancer risk. *Am Rev Respir Dis* 1986;134(3):466–470.
- (67) Jin YT, Xu YC, Yang RD, et al. Familial aggregation of lung cancer in a high incidence area in China. *Br J Cancer* 2005; 92(7):1321–1325.
- (68) Li X, Hemminki K. Familial and second lung cancers: a nation-wide epidemiologic study from Sweden. *Lung Cancer* 2003; 39(3):255–263.
-



- 
- (69) Sellers TA, Elston RC, Atwood LD, et al. Lung cancer histologic type and family history of cancer. *Cancer* 1992; 69:86–91.
- (70) Michelle L. Coté, Mei Liu, Stefano Bonassi et al. Increased risk of lung cancer in individuals with a family history of the disease : a pooled analysis from the international lung cancer consortium. *European Journal of cancer* vol 48. P 1957-1968. 2012.
- (71) Niels Reinmuth, Patrick Stumpf, Andreas Stumpf et al. characteristics of lung cancer after a previous malignancy. *Respiratory Medicine* vol 108, 910-917. 2014.
- (72) Devesa SS, Bray F, Vizcaino AP, et al. International lung cancer trends by histologic type: male:female differences diminishing and adenocarcinoma rates rising. *Int J Cancer* 2005.
- (73) Ringer G, Smith JM, Engel AM, et al. Influence of sex on lung cancer histology, stage, and survival in a midwestern United States tumor registry. *Clin Lung Cancer* 2005;7(3): 180–182.
- (74) Shen H, Spitz MR, Wang LE, Hong WK, Wei Q (2001) Polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase and risk of lung cancer: a case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 10:397–401.
- (75) Renfang Mao, Yihui Fan, Yan Jin, Jing Bai, Songbin Fu. *The Japan Society of Human Genetics and Springer* 2008;Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms and lung cancer: a meta-analysis; *J Hum Genet* (2008) 53:340–348;DOI 10.1007/s10038-008-0262-6;
- (76) Zhang Y, Chen GQ, Ji Y, Huang B, Shen WS, Deng LC, et al. Quantitative assessment of the effect of MTHFR polymorphisms on the risk of lung carcinoma. *Mol Biol Rep* 2012; 39:6203-11.
- (77) *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*; Polymorphisms of Methylenetetrahydrofolate Reductase and Risk of Lung Cancer: A Case-Control Study;
- (78) Boccia, S., et al., 2009. Meta-analyses of the methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphisms and risk of head and neck and lung cancer. *Cancer Lett.* 273, 55–61.
- (79) Mao, R., Fan, Y.H., Jin, Y., Bai, J., Fu, S., 2008. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms and lung cancer: a meta-analysis. *J. Hum. Genet.* 53, 340–348.
- (80) Zheng-Bing Liu, Li-Ping Wang, Jun Shu , Cheng Jin, Zhi-Xia Lou. Methylenetetrahydrofolate reductase 677TT genotype might be associated with an increased lung cancer risk in Asians. (Z.-B. Liu et al. / *Gene* 515 (2013) 214–219.
-

- 
- (81) Shen H, Spitz MR, Wang LE, Hong WK, Wei Q. Polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase and risk of lung cancer: a case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;10: 397-401.
- (82) Chiu-Shong Liu, Chia-Wen Tsai, Te-Chun Hsia, Rou-Fen Wang, Chin-Jung Liu, Liang-Wen Hang, Su-Yin Chiang, Chung-Hsing Wang, Ru-Yin Tsai, Cheng-Chieh Lin And Da-Tian BAU. *Cancer Genomics & Proteomics* 6: 325-330 (2009); Interaction of Methylenetetrahydrofolate Reductase Genotype and Smoking Habit in Taiwanese Lung Cancer Patients; Departments of Family Medicine, and Pulmonary and Critical Care Medicine, Terry Fox Cancer Research Laboratory, China Medical University Hospital, Taichung; Graduate Institute of Chinese Medical Science, China Medical University, Taichung, Taiwan, R.O.C.
- (83) Kiyohara C, Horiuchi T, Takayama K, Nakanishi Y. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and interaction with smoking and alcohol consumption in lung cancer risk: a case-control study in a Japanese population. *BMC Cancer* 2011; 11:459.
- (84) Liu CS, Tsai CW, Hsia TC, Wang RF, Liu CJ, Hang LW, et al. Interaction of methylenetetrahydrofolate reductase genotype and smoking habit in Taiwanese lung cancer patients. *Cancer Genomics Proteomics* 2009; 6:325-9.
- (85) Cheng Z, Wang W, Song YN, Xia J, Kang Y, Dai LL, et al. The relationship between MTHFR C677T polymorphism and lung cancer risk (chinese). *Chin J Tuberc Respir Dis* 2011; 34:57-8.
- (86) Arslan S, Karadayi S, Yildirim ME, Ozdemir O, Akkurt I. The association between methylene-tetrahydrofolate reductase gene polymorphism and lung cancer risk. *Mol Biol Rep* 2011;38:991-6.
- (87) Shi Q, Zhang Z, Li G, Pillow PC, Hernandez LM, Spitz MR, et al. Sex differences in risk of lung cancer associated with methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14:1477-84.
- (88) Goldgar DE, Easton DF, Cannon-Albright LA, Skolnick MH. Systemic population-based assessment of cancer risk in first-degree relatives of cancer probands. *J Natl Cancer Inst* 1994;86:1600-8.
- (89) Arslan et al, 2011; Cui et al, 2011a, 2011b;. Hung et al, 2007;. Kiyohara et al, 2011; Liu et al, 2009; Suzuki et al, 2007.
- (90) Boccia et al, 2009; Mao et al, 2008; Zhang et al, 2012.
-

- (91) Jeng YL, Wu MH, Huang HB, Lin WY, You SL, Chu TY, et al. The methylenetetrahydrofolate reductase 677C-->T polymorphism and lung cancer risk in a Chinese population. *Anticancer Res* 2003; 23:5149-52.
- (92) Travis WD, 2004. Brambilla E et Lantuejoul S – Nouvelle classification des cancers pulmonaires : application aux prélèvements biopsiques de petite taille – *Annales de pathologie*, 2010, 30S, S60-S63.



## **Webographie**

- (93) [http://www.google.dz/url?q=http://www.lekolannou.com/download.php%3Ff%3D157\\_elements\\_anatomie\\_et\\_physiologie.pdf&sa=U&ei=BYBoUfiVF4WM4AT-pYGQDA&ved=0CB0QFjAB&usg=AFQjCNGB0pr8NvCgoP0PaEjjA-mPCT9cQA](http://www.google.dz/url?q=http://www.lekolannou.com/download.php%3Ff%3D157_elements_anatomie_et_physiologie.pdf&sa=U&ei=BYBoUfiVF4WM4AT-pYGQDA&ved=0CB0QFjAB&usg=AFQjCNGB0pr8NvCgoP0PaEjjA-mPCT9cQA)
- (94) [http://www.pneumocancero.com/AttitudesPratiques/TNM\\_2009.html](http://www.pneumocancero.com/AttitudesPratiques/TNM_2009.html)
- (95) [http://www.cancer.ca/~media/cancer.ca/CW/publications/Lung%20cancer%20UYD/Lung\\_UYD\\_Fr\\_Nov2013.pdf](http://www.cancer.ca/~media/cancer.ca/CW/publications/Lung%20cancer%20UYD/Lung_UYD_Fr_Nov2013.pdf)

---

# *Annexes*

---

**Classification histologique OMS 1999–2004 des carcinomes broncho-pulmonaires : (92)**

**TUMEURS ÉPITHÉLIALES MALIGNES : CARCINOMES**

**CARCINOMES ÉPIDERMOÏDES**

- Papillaire
- À cellules claires
- À petites cellules
- Basaloïde

**CARCINOMES À PETITES CELLULES**

Carcinome à petites cellules composite

**ADÉNOCARCINOMES (Nouvelle classification 2011 de l'IASLC/ATS/ERS)**

**LÉSIONS PRÉINVASIVES**

- Hyperplasie atypique adénomateuse
- Adénocarcinome in situ (anciennement bronchioloalvéolaire)  
Non-mucineux  
Mucineux (très rares)

**ADÉNOCARCINOMES À INVASION MINIME** (tumeur ≤ 3 cm à prédominance lépidique 51 50 avec invasion ≤ 5 mm ou ≤ 10 % de la tumeur)

**ADÉNOCARCINOMES INVASIFS**

- Prédominance lépidique (anciennement carcinome bronchioloalvéolaire non-mucineux) Prédominance acineuse
- Prédominance papillaire
- Prédominance micropapillaire

**Variantes**

- Adénocarcinome mucineux à prédominance lépidique (ancien bronchioloalvéolaire mucineux)
- Cytoadénocarcinome mucineux
- Adénocarcinome colloïde
- Adénocarcinome fétal (bas et haut grade)
- Adénocarcinome entérique

**CARCINOMES À GRANDES CELLULES**

- Carcinome neuroendocrine à grandes cellules
- Carcinome neuroendocrine à grandes cellules composite

- Carcinome basaloïde
- Carcinome lymphoépithélioma-like
- Carcinome à cellules claires
- Carcinome à grandes cellules rhabdoïde

**CARCINOMES ADÉNOSQUAMEUX**

**CARCINOMES SARCOMATOÏDES**

- Carcinome pléiomorphe
- Carcinome à cellules géantes
- Carcinome à cellules fusiformes
- Carcinosarcome
- Blastome pulmonaire

**CARCINOÏDES**

- Carcinoïde typique
- Carcinoïde atypique

**TUMEURS DE TYPE GLANDES SALIVAIRES**

- Carcinome mucoépidermoïde
- Carcinome adénoïde kystique
- Carcinome épithélial-myoépithélial

**LÉSIONS PRÉINVASIVES**

- Dysplasie et carcinome in situ
  - Hyperplasie alvéolaire atypique
  - Hyperplasie neuroendocrine diffuse idiopathique
-

## **Classification TNM des cancers du poumon : (94)**

### **T – Tumeur primitive**

TX : Tumeur ne peut être évaluée ou est démontrée par la présence de cellules malignes dans les expectorations ou un lavage bronchique sans visualisation de la tumeur par des examens endoscopiques ou d'imagerie

T0 : Pas d'évidence de tumeur primitive

Tis : Carcinome in situ

T1 : Tumeur de 3 cm ou moins dans sa plus grande dimension, entourée par le poumon ou la plèvre viscérale, sans évidence bronchoscopique d'invasion plus proximale que la bronchique lobaire (c-à-d pas la bronche souche)

T1a : Tumeur de 2 cm ou moins dans sa plus grande dimension

T1b : Tumeur de plus de 2 cm sans dépasser 3 cm dans sa plus grande dimension

T2 : Tumeur de plus de 3 cm sans dépasser 7 cm dans sa plus grande dimension ou présentant une des caractéristiques suivantes :

- atteinte de la bronche de la bronche souche à 2 cm ou plus de la carène
- invasion de la plèvre viscérale
- présence d'une atélectasie ou d'une pneumopathie obstructive s'étendant à la région hilare sans atteindre l'ensemble du poumon.

T2a : Tumeur de plus de 3 cm sans dépasser 5 cm dans sa plus grande dimension

T2b: Tumeur de plus de 5 cm sans dépasser 7 cm dans sa plus grande dimension

\* les tumeurs avec ces caractéristiques sont classées T2a si leur dimension est de 5 cm ou moins

T3 : Tumeur de plus de 7 cm ; ou envahissant directement une des structures suivantes : la paroi thoracique (y compris la tumeur de Pancoast), le diaphragme, le nerf phrénique, la plèvre médiastinale, pleural ou pariétal ou le péricarde ; ou une tumeur dans la bronche souche à moins de 2 cm de la carène sans l'envahir ; ou associée à une atélectasie ou d'une pneumopathie obstructive du poumon entier ; ou présence d'un nodule tumoral distinct dans le même lobe

T4 : Tumeur de tout taille envahissant directement une des structures suivantes : médiastin, cœur, grands vaisseaux, trachée, nerf laryngé récurrent, œsophage, corps vertébral, carène; ou présence d'un nodule tumoral distinct dans un autre lobe du poumon atteint

### **N – Ganglions lymphatiques régionaux**

NX : les ganglions ne peuvent pas être évalués

N0 : pas de métastase ganglionnaire lymphatique régionale

N1 : métastase dans les ganglions lymphatiques intrapulmonaires, péribronchiques et/ou hilaires ipsilatéraux, y compris par envahissement direct

N2 : métastase dans les ganglions lymphatiques médiastinaux ipsilatéraux et/ou sous-carinaires

N3 : métastase dans les ganglions lymphatiques médiastinaux controlatéraux, hilaires controlatéraux, scalènes ou sous-claviculaires ipsilatéraux ou controlatéraux

### **M – Métastase à distance**

MX : les métastases à distance n'ont pas pu être évaluées

M0 : absence de métastase à distance

M1 : métastase à distance

M1a : Nodule(s) tumoral distinct dans un lobe controlatéral ; tumeur avec nodules pleuraux ou épanchement pleural (ou péricardique) malin

M1b : métastase à distance

---



## **STADIFICATION : (95)**

Une fois que le diagnostic de cancer est confirmé, il faut déterminer le stade du cancer. La stadification du cancer consiste à définir la taille de la tumeur et à vérifier si elle s'est développée au-delà du site ou elle a pris naissance.

### **- Cancer du poumon non à petites cellules :**

. **Carcinome occulte** : des cellules cancéreuses sont décelées dans les crachats expulsés des poumons, mais il n'y a pas de tumeur visible dans le poumon.

. **Stade 0** : des cellules anormales sont présentes dans la paroi des poumons ou des voies respiratoires (trachée, bronches ou bronchioles). Ces cellules anormales ne se sont pas propagées aux tissus du poumon lui-même, mais elles peuvent devenir cancéreuses et se disséminer par la suite. Le cancer de stade 0 est également appelé carcinome *in situ*.

#### **Stade 1 :**

. **Stade 1A** : La tumeur est localisée uniquement dans le poumon (3cm)

. **Stade 1B** : La tumeur mesure plus de 3cm ou elle croie dans la principale voie aérienne du poumon (trachée). Elle peut aussi s'être propagée à la membrane du poumon (plèvre) ou avoir provoqué un affaissement partiel du poumon.

#### **Stade 2 :**

. **Stade 2A** : La tumeur mesure moins de 3cm mais s'est propagée aux ganglions lymphatiques voisins.

. **Stade 2B** : La tumeur mesure plus de 3cm et s'est propagée aux ganglions lymphatiques voisins. Ou elle a envahi la paroi thoracique, la plèvre, la couche musculaire sous les poumons ou l'enveloppe du cœur.

#### **Stade 3 :**

. **Stade 3A** : La tumeur peut être de toute taille. Les cellules cancéreuses se sont propagées aux ganglions lymphatiques du milieu du thorax (médiastin) sans avoir atteint l'autre côté de la poitrine.

. **Stade 3B** : Deux tumeurs ou plus sont présentes dans le même poumon.

. **Stade 4** : le cancer s'est propagé à d'autres parties du corps, comme le foie, le cerveau ou les os.

### **- Cancer du poumon à petites cellules :**

. **Stade limité** : Des cellules sont présentes dans un seul poumon et dans les ganglions lymphatiques voisins. Elles peuvent également être décelées dans le liquide pleural.

. **Stade étendu** : Le cancer s'est propagé à l'extérieur du poumon dans la région thoracique ou d'autres parties du corps.

## Questionnaire

**Code :**

**Sexe :**

**Date de naissance :**

**Wilaya :**

**Profession :**

**Premiers symptômes :**

**Date de découverte de la maladie :**

**Date de la première consultation :**

**Tabagisme actif :**

**Tabagisme passif :**

**Alcool :**

**Antécédents personnels :**

**Antécédents familiaux :**

**Localisation tumorale :**

**Chirurgie :**

**Chimiothérapie :**

**Radiothérapie :**

**Type histologique :**

**TNM:**

## Consentement (patient)

Je donne mon accord à la réalisation des études génétiques qui peuvent aider au diagnostic ou à la prévention de la maladie dont je souffre.

Je donne mon accord pour que mon prélèvement soit à la disposition de la communauté scientifique à des fins de recherche biomédicale.

Nom : .....Prénom : .....Né(e) le..... /..... /.....

Fait à Constantine, le .... /...../.....

Signature

---

الاختلافات الفردية الملاحظة لعملية الايض لحمض الفوليك قد ترجع الى الاختلافات الوراثية في الانزيمات المسؤولة عن هذه العملية , حيث أوضحت بعض الدراسات أن الطفرة الوراثية C677T في واحد من أهم هذه الأنزيمات MTHFR قد تكون مسؤولة عن الاصابة بعديد السرطانات و من بينها سرطان الرئة. الهدف من هذه الدراسة هو تحديد نسب التراكيب الوراثية لهذا التغير الجيني عند عينة مكونة من 13 مصاب مقارنة مع 16 فردا سليما باستخدام المنهجية PCR RFLP. المقارنة تمت بحساب النسبة الأرجحية OR في مجال ثقة يقدر ب 95 بالمئة. خلصت هذه النتائج الى عدم وجود علاقة بين التغير الجيني المدروس و خطر الاصابة بسرطان الرئة.

, القابلية الوراثية, التغير الجيني, MTHFR :

---

## **Résumé :**

Les différences interindividuelles observées dans le métabolisme des folates peuvent être liées aux polymorphismes des gènes codant pour les enzymes impliquées dans ce métabolisme. L'enzyme clé de ce métabolisme est la MTHFR. Une variabilité génétique qui peut être associée à des différences de susceptibilité vis-à-vis certains cancers dont le CBP. Le présent travail vise à établir les fréquences génotypiques pour le polymorphisme nucléotidique C677T du gène MTHFR dans une population de 13 patients comparés à 16 témoins en utilisant l'approche PCR-RFLP. La comparaison des fréquences entre les deux groupes est établie par le calcul des *odds ratio* avec un intervalle de confiance de 95 %. Nos résultats montrent qu'il n'y a aucune association entre la mutation C677T du gène de la MTHFR et le risque d'un CBP.

Mots clés : Cancer du poumon, Susceptibilité génétique, Polymorphisme génétique, MTHFR.

---

## **Abstract**

Inter-individual differences observed in the metabolism of folate may be associated with polymorphisms in genes encoding the enzymes involved in this metabolism. The key enzyme of this metabolism is the MTHFR. Genetic variability for this gene appears to be associated with differences in susceptibility towards certain cancers including lung cancer. The present work aims to establish genotype frequencies of the polymorphism C677T of the MTHFR gene in a population of 13 patients with lung cancer compared to 16 controls using PCR-RFLP approach. Comparison between frequencies in the two groups is determined by calculating *odds ratio* with a confidence interval of 95 %. Our results show that there is no association between C677T mutation and risk of lung cancer.

Keywords: Lung cancer, Genetic susceptibility, Genetic polymorphism, MTHFR.

---

*Année Universitaire : 2013/2014*

*Présenté par : Nouar Mohamed ADIB  
Krid Mohamed LARBI*

**Etude rétrospective de l'association entre le polymorphisme C677T de la  
Méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR) et le  
risque de développer un cancer broncho-pulmonaire dans l'est Algérien**

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

**Résumé :**

Les différences interindividuelles observées dans le métabolisme des folates peuvent être liées aux polymorphismes des gènes codant pour les enzymes impliquées dans ce métabolisme. L'enzyme clé de ce métabolisme est la MTHFR. Une variabilité génétique qui peut être associée à des différences de susceptibilité vis-à-vis certains cancers dont le CBP. Le présent travail vise à établir les fréquences génotypiques pour le polymorphisme nucléotidique C677T du gène MTHFR dans une population de 13 patients comparés à 16 témoins en utilisant l'approche PCR-RFLP. La comparaison des fréquences entre les deux groupes est établie par le calcul des *odds ratio* avec un intervalle de confiance de 95 %. Nos résultats montrent qu'il n'y a aucune association entre la mutation C677T du gène de la MTHFR et le risque d'un CBP.

**Mots clés :** Cancer du poumon, Susceptibilité génétique, Polymorphisme génétique, MTHFR.

**Structure de recherche :** Service de pneumo-physiologie du CHU de Constantine.

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

**Jury d'évaluation :**

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

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

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

**Date de soutenance:** 24/06/2014