

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 de l'effet du polymorphisme A313G du gène GSTP1
dans la survenue du cancer du sein*

Présenté et soutenu par : Seraoui Rahma
Ghalloum Nihed

Le : 06/12/2015

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mme SATTI DALILA (Professeur - UFM Constantine).

Rapporteur : Mme SEDRATI KHADIDJA (MAA- UFM Constantine).

Examineurs : Mme REZGOUNE-CHELLAT DJALILA (MCB- UFM Constantine).

Année universitaire
2014 - 2015

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, Nous remercions DIEU pour nous avoir donné la santé, la volonté et le courage pour affronter la pression, continuer et réussir nos études, comme nous l'avons toujours souhaité.

Nos premiers remerciements iront à notre rapporteur Mme Sedratie K maitre assistantes à l'université de Constantine 1, qui a su nous conseiller efficacement tout en nous laissant travailler librement. Pour son humanité et sa confiance, sa patience et ses remarques avisées toute notre reconnaissance lui est acquise.

Nous remercions notre professeur Mme SATTIA Dalila de l'université de Constantine 1 pour sa précieuse aide et de n'avoir négligé aucun effort pour nous apporter soutien et recommandation. Ces précieux conseils et ces qualités de rigueurs scientifiques ont largement contribué à notre formation.

Nous remercions également Mme REZGOUNE-CHELLAT DJALILA d'avoir bien voulu nous faire l'honneur d'examiner ce travail.

Nous tenons aussi à remercier l'ensemble de nos enseignants qui nous ont transmis leur savoir et leur expérience durant tout notre cursus universitaire et permis ainsi d'atteindre le niveau scientifique nécessaire pour la réalisation de ce travail.

Enfin, à ceux de près ou de loin qui m'ont aidé et encouragé dans la concrétisation de ce projet, trouvent notre gratitude et nous sincères remerciements.

DEDICACES

Je dédie ce travail :

A mes parents en témoignage de ma reconnaissance pour tout ce que je leur dois. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude et de mon amour.

Pour mon frère : Mohamed Cherif.

Pour ma chères sœurs : Ikrame, Rokja et Malak

Pour ma famille pour leurs encouragements et leurs soutiens.

Pour tous mes collègues de département Biologies animales.

*A tous les proches que j'ai mention et les autres que j'ai oubliés
veuillez m'excuser.*

RAHMA

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail à ma mère et mon père et mes grands parents, aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de vos sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation et ma formation.

A ma tante nadjoua pour son soutien tout au long de ces années ma pauvre plume n'arrive pas exprimer le trémolo sentimental que je subis à ce moment .sans oublier mes tantes manel et ilham qui m'ont toujours soutenue et encouragée durant toute mon parcours scolaire.

A mon frères, ma sœurs et a toute ma famille.

A mes très chers amis.

A toute personne qui m'a aidé de près ou de loin pour terminer ce travail.

A toutes les femmes qui souffrent du cancer du sein.

Liste des abréviations

ARNm : Acide Ribonucléique messenger.

BBP : Bleu de bromophénol.

BET : Bromure d'éthidium.

BPDE: Benzo pyrene dihydrodiol epoxide.

CCI : Carcinome canalaire infiltrant.

CCIS : Carcinome canalaire in situ.

CHUC : Centre Hospitalier Universitaire Ben Badis Constantine.

CLI : Carcinome lobulaire infiltrant.

CLIS : Carcinome lobulaire in situ.

CS : Cancer du sein.

EDTA: Ethylene diamine tetraacetic acide.

IHC: Immuno histo chimie.

GnRH: Gonadotropin releasing hormone.

GSH : Le système du glutathion.

GST: Glutathion S-transférase.

GSTP1: Glutathion S -transférase P1.

HER-2: Human Epidermal growth factor receptor2.

RH: Récepteurs Hormonaux.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

OR : Odds Ratio.

PCR : Réaction de polymérisation en chaîne.

PRb : La protéine du rétinoblastome.

SBR: Scarff, Bloom and Richardson.

SDS : Sodium dodécyle sulfate.

SERD : Régulateurs sélectifs des œstrogènes.

TBE: Tris Borate EDTA

TNM: Tumor, Node, Metastasis.

UICC : Union Internationale Contre le Cancer.

UV: Ultras violets.

Liste des figures

| | |
|--|----|
| <i>Figure 1</i> : Schéma représentant une coupe sagittale du sein..... | 2 |
| <i>Figure 2</i> : Répartition du taux d'incidence standardisé du cancer du sein dans le monde..... | 3 |
| <i>Figure 3</i> : Classification du TNM : A /Stade T, B/Stade N et M..... | 9 |
| <i>Figure4</i> : La réactivité du groupe nucléophile..... | 17 |
| <i>Figure 5</i> : La structure cristalline de GST..... | 17 |
| <i>Figure 6</i> : La structure de gène GSTM..... | 18 |
| <i>Figure7</i> : Localisation du gène de la GSTP1 au niveau du chromosome 11..... | 19 |
| <i>Figure8</i> : Structure de gène GSTP1..... | 20 |
| <i>Figure 9</i> : Mutation A313G du chromosome 11q13..... | 21 |
| <i>Figure 10</i> :Fréquences génotypique et alléliques du polymorphisme A313G du gène GSTP1..... | 34 |

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| <i>Tableau 1</i> : Les types de tumeurs bénignes du sein..... | 5 |
| <i>Tableau 2</i> : Classification TNM anatomo-pathologique des cancers du sein..... | 8 |
| <i>Tableau 3</i> : Allèles GSTP1 et la fréquence allélique..... | 19 |
| <i>Tableau 4</i> : Préparation du milieu réactionnel de la PCR..... | 27 |
| <i>Tableau 5</i> : Préparation du mix de digestion..... | 28 |
| <i>Tableau 6</i> : Répartition des patients selon l'âge (N=36)..... | 32 |
| <i>Tableau 7</i> : Répartition des témoins selon l'âge (N=44)..... | 32 |
| <i>Tableau 8</i> : Fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme A313G du gène de la GSTP1 dans la population malade..... | 33 |
| <i>Tableau 9</i> : Fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme A313G du gène de la GSTP1 dans la population témoin..... | 33 |
| <i>Tableau 10</i> : Comparaison des fréquences génotypique et alléliques du polymorphisme A313G du gène GSTP1..... | 35 |

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

Revue Bibliographiques

| | |
|---|----|
| 1-Anatomophysiologie du sein | 2 |
| 1-1- Anatomie du sein..... | 2 |
| 1-2- Physiologie du sein | 2 |
| 2- Le cancer du sein | 3 |
| 2-1- Définition..... | 3 |
| 2-2- Epidémiologie..... | 3 |
| 3- Mécanismes de déclenchement tumoral..... | 4 |
| 4- Classification des tumeurs mammaires..... | 5 |
| 4-1- Les tumeurs bénignes du sein..... | 5 |
| 4-2- Tumeurs malignes du sein..... | 6 |
| 4-2-1- Cancer in situ..... | 6 |
| 4-2-2- Cancer infiltrant..... | 6 |
| 4-3- Classification TNM..... | 7 |
| 4-4- La classification du grade..... | 10 |
| 5- Les facteurs de risque..... | 10 |
| 5-1- Facteurs de risque génétiques..... | 10 |
| 5-2- Facteurs de risque hormonaux..... | 11 |
| 5-3- Facteurs de risque environnementaux..... | 11 |
| 6- Le dépistage..... | 12 |
| 7- Le diagnostic..... | 12 |

| | |
|--|----|
| 7-1- Interrogatoire et examen clinique..... | 12 |
| 7-2-Les examens complémentaires..... | 11 |
| 7-3-L'anatomopathologie..... | 13 |
| 8-Traitement du cancer du sein..... | 14 |
| 8-1 La chirurgie..... | 14 |
| 8-2 La Chimiothérapie..... | 14 |
| 8-3 La radiothérapie..... | 15 |
| 8-4 L'hormonothérapie..... | 15 |
| 8-5 Les thérapeutiques ciblées..... | 15 |
| 9-Le système du glutathion (GSH)..... | 16 |
| 8-6 La superfamille du glutathion S-transférase..... | 16 |
| 8-7 Le gène de la GSTP..... | 19 |
| 9-2-1- Localisation et structure du gène..... | 19 |
| 9-2-2- Le transcrit | 19 |
| 9-2-3- Protéine GSTP1..... | 20 |
| 9-3-Les polymorphismes de la GSTP1..... | 20 |
| 9-3-1- Polymorphisme A313G..... | 20 |
| 9-3-2- Polymorphisme GSTP C341T..... | 21 |
| 10-GST et le risque du cancer du sein..... | 21 |

Partie Pratique

| | |
|------------------------------|----|
| I-Matériels et méthodes..... | 27 |
| 1-L'échantillonnage..... | 27 |
| 1-2-Population malade..... | 27 |
| 1-3-Population témoin..... | 27 |
| 2-Méthodologie..... | 28 |

| | |
|--|-----------|
| 2-1-Le recueil des données..... | 28 |
| 2-2-Le prélèvement sanguin..... | 28 |
| 2-3- L'étude moléculaire..... | 28 |
| 2-3-1-L'extraction d'ADN..... | 28 |
| 2-3-2-L'estimation de la qualité et de la quantité de l'ADN..... | 29 |
| 2-3-3-Le génotypage de la GSTP1..... | 30 |
| 1- Etude statistique analytique..... | 33 |
| 3-1- Calcul de l'Odds Ratio..... | 34 |
| 3-2- Choix de la « p value »..... | 35 |
| II-Résultats..... | 36 |
| - Discussion..... | 40 |
| - Conclusion..... | 44 |

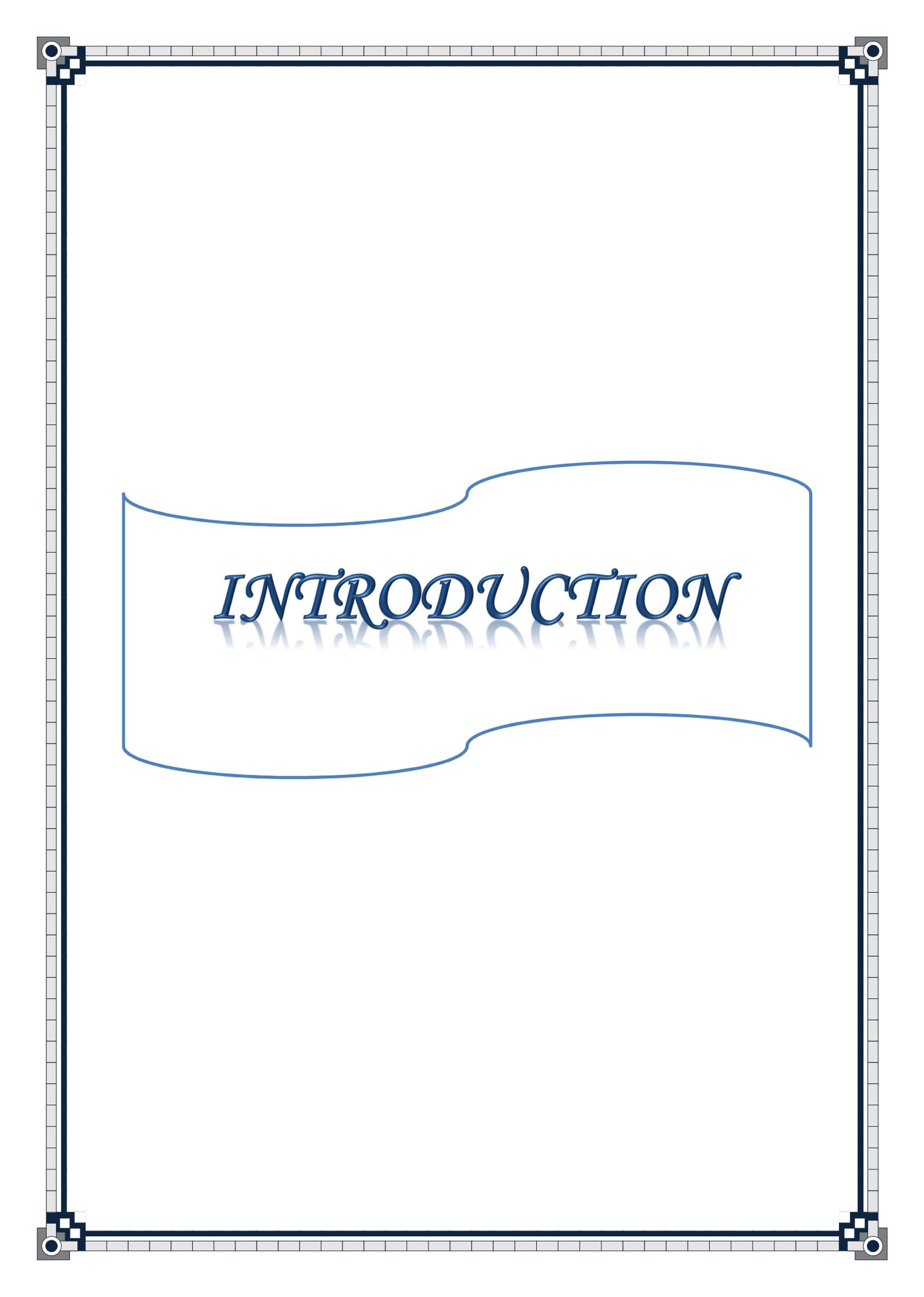
Références Bibliographiques

Annexes

Résumé en Français

Résumé en Arabe

Résumé en Anglais



INTRODUCTION

Le cancer du sein (CS) constitue une pathologie hétérogène et multifactorielle qui naît de l'échappement de cellules mammaires aux mécanismes de contrôle de la prolifération. C'est la première cause de mortalité chez la femme en Europe. C'est un cancer qui touche plus de 37000 nouveaux cas par an en France et est responsable de plus de 11000 décès estimés en 2000 [Molinie F et al, 2008]. Il est également considéré comme étant le premier cancer de la femme au Maroc et en Jordanie [Dajani YF et al, 1987, Abalkail AA et al, 2003].

Dans notre pays, on déplore chaque année 7500 nouveaux cas du cancer du sein (sur 35000 cas annuels toute localisation confondue). La mortalité décroît de 1,3% en moyenne par an, le nombre de nouveaux cas a baissé de 2,1% puis de 3,3% entre 2005 et 2006 [Registre des tumeurs d'Alger, 2005].

De nos jours, plusieurs facteurs de risque contribuent à l'apparition du CS, mais aucun facteur n'a pu être impliqué directement dans l'étiopathogénie de ce cancer, à l'exception de la transmission héréditaire de certains gènes de prédisposition. Cependant, les travaux réalisés ces vingt dernières années en biologie moléculaire du CS ont permis d'identifier un grand nombre d'acteurs moléculaires participant aux grandes fonctions qui définissent le phénotype cancéreux [Eisinger F et al, 1995].

Parmi ces marqueurs moléculaires nous avons les Glutathion S-Transférases (GST), enzymes polymorphes impliquées dans la conjugaison de composés électrophiles nocifs au glutathion, la cancérogenèse et la chimiorésistance aux agents anticancéreux. Récemment, plusieurs études suggèrent que les GST joueraient un rôle antioxydant potentiel protégeant les cellules concernées des dommages occasionnés par les radicaux libres. De plus, de nombreuses études épidémiologiques ont mis en évidence l'implication de certaines variantes alléliques de la GST dans le développement de plusieurs maladies à savoir le CS [Sheehan D, 2001].

A cet effet, dans le présent travail nous avons assigné comme objectifs :

- Effectuer une enquête descriptive dans le but de prospecter l'implication de certains facteurs d'ordre étiologique de l'apparition du CS.
- Tenter d'apporter une approche dans la compréhension et l'exploration d'une composante de processus de cancérisation.
- Déterminer une possible association entre le polymorphisme A313G du gène GSTP1 et le risque de la survenue du CS.



PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

1. Anatomophysiologie du sein

1.1. Anatomie du sein

Le sein est une glande exocrine qui se développe au cours de la vie de la femme. Il est constituée de deux compartiments cellulaires : le compartiment mésenchymateux, perfusé par les vaisseaux sanguins et les nerfs, et le compartiment épithéliale qui s'articule autour d'un réseau de galactophores et de lobules renferment les alvéoles. Ces deux compartiment sont séparés par une membrane basale de collagène de type IV, de laminine et de glycosaminoglycane le sein renferme en lobules de canaux galactophores et de tissu adipeux (Figure1) [Rudland P et al, 1995].

Le tissu mammaire ne comprend pas seulement le sein, mais aussi la partie du corps comprise entre la clavicule, l'aisselle et la lame du sternum. Les muscles de la poitrine et de l'épaule sont situés derrière ce tissu mammaire.

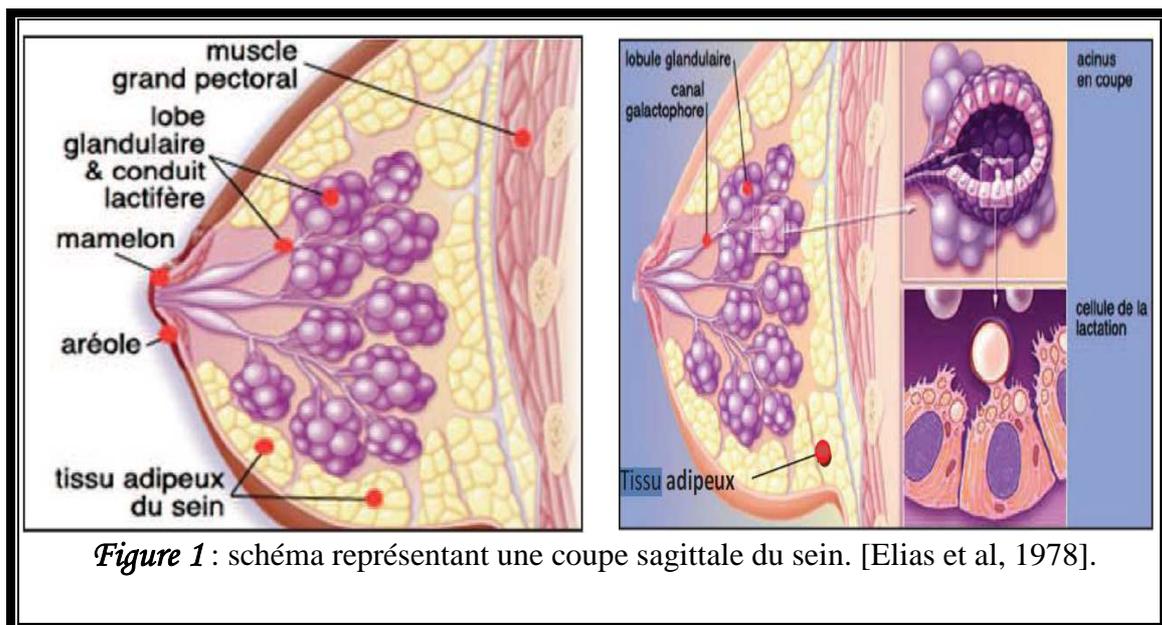


Figure 1 : schéma représentant une coupe sagittale du sein. [Elias et al, 1978].

1.2. Physiologie du sein

Le sein sert principalement à fabriquer et à sécréter du lait. Les canaux galactophores transportent le lait produit par les glandes mammaires jusqu'au mamelon. Le tissu mammaire subit de nombreux changements au cours de la vie. Les canaux galactophores sont prédominants chez les adolescentes mais sont remplacés par du tissu adipeux chez les femmes plus âgées.

2. Le cancer du sein

2.1. Définition

Le cancer du sein ou «carcinome mammaire » se définit comme une prolifération anarchique et incontrôlée des cellules épithéliales du sein. Qu'il s'agisse des cellules des canaux galactophores « carcinome canalaire ou de celles des lobules «carcinome lobulaire», on parle « d'Adénocarcinome » c'est-à-dire d'un cancer du tissu glandulaire.

2.2. Epidémiologie

Avec 1,38 millions cas diagnostiqués en 2008 dont 690 000 dans les pays industrialisés, CS est le cancer le plus fréquent chez la femme à travers le monde, tant en termes de mortalité que d'incidence (devant les cancers colorectaux, utérus et du poumon) [Ferlay et al, 2010].

Des projections s'appuyant uniquement sur les changements démographiques indiquent que le nombre total de cas de CS dans le monde d'ici vingt ans s'élèvera à 21,4 millions et le nombre de décès à 13,2 millions environ, dont une proportion croissante dans les pays en développement (OMS, 2010).

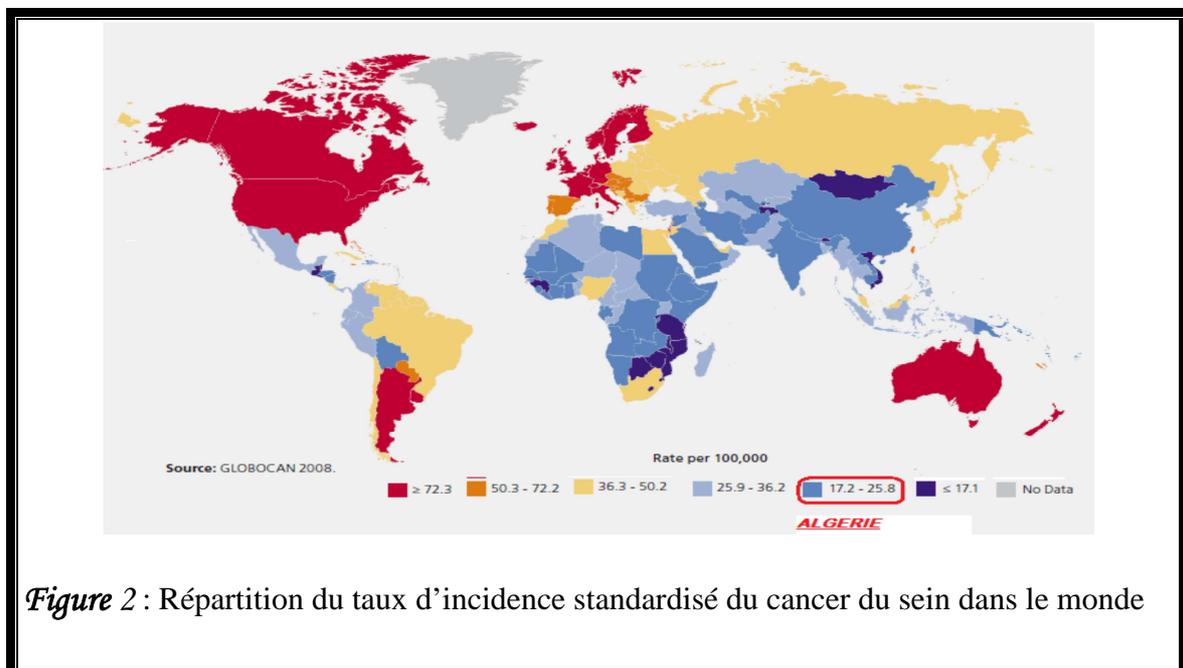


Figure 2 : Répartition du taux d'incidence standardisé du cancer du sein dans le monde

En Algérie, le CS occupe la première place en termes d'incidence, en comparaison aux autres types de cancers, soit 29 pour 100 000 à raison de 4271 cas par an. Le taux de mortalité est de 16 pour 100 000 à raison de 2197 décès par an [Galgani JE, 1990]; L'âge moyen des femmes touchées par cette maladie est de 45 ans mais cela va de 19 à 97 ans.

Selon les registres de la wilaya de Sétif, le CS occupe aussi la première place avec un taux d'incidence spécifique de 19 pour 100 000 femmes. Tous stades confondus, les taux de survie à dix ans sont de 50%. [Registre des Cancers de Sétif, 2002].

Dans la wilaya de Tlemcen, le CS occupe également la première place avec un taux d'incidence spécifique de 14 pour 100 000 habitants dont l'âge moyen de diagnostic est de $47,5 \pm 2$ ans, avec une fréquence de 28,3% [Registre des Cancers de Tlemcen, 2006].

Selon les registres de la wilaya d'Alger, l'incidence du CS est de 65 pour 100 000 femmes avec une fréquence de 40,45% des cancers féminins, soit 850 nouveaux cas en 2007. Les premiers cas surviennent dès l'âge de 20 ans. Le taux le plus élevé se situe à 65 ans. Ce taux ne correspond pas au nombre de cas le plus élevé qui, lui, se situe de 40 à 44 ans [Registre des tumeurs d'Alger, 2007].

3. Mécanismes de déclenchement tumoral

La glande mammaire est un organe en évolution permanente sous l'influence des hormones sexuelles (œstrogènes et progestérone) et de facteurs de croissance. Ceci en fait un organe à part du point de vue du nombre de cellules en croissance et en différenciation, et le rend plus susceptible aux transformations cancéreuses [Olsson H, 2000].

Comme tout mécanisme tumoral, la carcinogenèse mammaire résulte de l'acquisition successive par les cellules de différentes caractéristiques : une autonomie vis-à-vis des signaux de croissance cellulaire, une insensibilité aux signaux inhibiteurs de croissance cellulaire, une évasion du système de mort cellulaire programmée (apoptose), un potentiel de réplication illimité et une invasion tissulaire (potentiel métastatique).

Les mécanismes de cancérisation sont aussi provoqués par la perte de régulations de la croissance cellulaire, avec notamment des pertes de fonctionnalité des anti-oncogènes, comme la protéine du rétinoblastome (pRb) qui peut bloquer le cycle cellulaire ou contrôler sa progression, et le produit du gène p53 qui contrôle lui aussi l'arrêt du cycle cellulaire en réponse aux dommages causés à l'ADN et d'autres gènes considérés comme importants dans la carcinogenèse du sein [Polyak K, 2002].

La première étape de cancérisation est une phase d'initiation. Elle se caractérise par une accumulation de mutations ayant pour conséquence une surexpression des facteurs pro-oncogéniques. Les cellules sont génétiquement anormales mais toujours contrôlées par

l'environnement cellulaire via les jonctions serrées (gap-junction). Lorsque les cellules entrent dans la seconde étape dite de promotion, elles acquièrent leur indépendance vis-à-vis des facteurs de croissance grâce aux pro-oncogènes, et perdent leur capacité de communication intercellulaire.

Et enfin, une dernière étape dite progression, il s'agit d'une phase qui se prolonge avec le temps, par l'acquisition progressive de caractéristiques de plus en plus malignes, notamment des mécanismes biochimiques de l'invasion tumorale et de la capacité métastatique [Hamid Z, 2011].

4. Classification des tumeurs mammaires

4.1. Les tumeurs bénignes du sein

Elles se développent au détriment des structures épithéliales (canaux et lobules), conjonctives (tissu fibreux et adipeux) et parfois des deux [Camilo A, et Thomas R, 2010].

Tableau01 : les types de tumeurs bénignes du sein.

| Type de cancer | Définition | Age |
|------------------------------|--|--------------------------------------|
| adénofibrome ou fibroadénome | Ce sont tumeurs bénignes les plus fréquentes. Ce sont des tumeurs nodulaire (adéno) et conjonctive (fibrome) de tailles diverses, uniques ou multiples. | Entre 15 et 30 ans |
| Les kystes | Se présentent parmi les lésions mammaires les plus fréquentes. Ils sont remplis de liquide sécrété par les cellules d'un ou plusieurs canaux galactophores fermes | Entre 25 et 45 ans |
| Tumeur phyllode | La Tumeur phyllode représente 0.3 à 4% des tumeurs du sein chez la femme. Il n'y a pas d'atteinte ganglionnaire, mais les ganglions peuvent être augmentés de taille dans 20% des cas à cause de l'inflammation. | Entre 40 et 50 ans |
| Adénome | Adénome est une prolifération épithéliale pure (Adénome lacté chez la femme jeune enceinte ou allaitante, ou adénome tubuleux).il ne présentent pas de risque de dégénérescence cancéreuse. | Avent 40 ans |
| Lipome | Le lipome est une prolifération bénigne, assez rare, du tissu conjonctif graisseux ; il est entouré d'une capsule qui le limite du tissu adipeux ou fibreux normal. Il s'agit d'une masse molle et mobile ne nécessitante aucune traitement. | Aux des 45 ans |
| Papillome intra canalair | C'est une tumeur bénigne développée à partir du canal galactophore. La tumeur est soit unique et souvent rétromamelonnaire (papillome solitaire) soit multiple et périphérique au niveau des lobules. | Le papillome solitaire (après 50ans) |

4.2. Tumeurs malignes du sein.

4.2.1. Cancer in situ

La prolifération épithéliale maligne est dans la lumière du canal galactophorique. Il s'agit d'un carcinome intracanalair. Soit des acini situés dans les lobules, il s'agit alors d'un carcinome intra lobulaire mais la membrane basale est toujours respectée, avec absence d'infiltration [Holland A et al, 1994].

✓ **Le carcinome canalaire in situ (CCIS) :** il se définit comme un carcinome se développant dans le canal, n'infiltrant pas le tissu conjonctif. Il représente environ 4 % des cancers et se caractérise par sa découverte fréquente sur des micros calcifications mammographiques et par sa multicentricité [Holland A et al, 1994].

✓ **Le carcinome lobulaire in situ (CLIS) :** il se définit comme un carcinome intéressant les canalicules intra-lobulaire comblées et distendues, par une prolifération de cellules de petite taille sans envahissement du tissu conjonctif voisin. Il représente d'environ 2.5% des cancers et se caractérise par son caractère multicentrique et sa tendance à la bilatéralisation [Holland A et al, 1994].

4.2.2. Cancer infiltrant

Il s'agit d'un cancer envahissant le tissu mammaire, évoluant localement puis métastasant (premier relais : ganglions axillaires) [Fattaneh A et al, 1992].

✓ **Le carcinome canalaire infiltrant (CCI) :** c'est le cancer du sein le plus fréquent (environ 80%). A mesure que les cellules cancéreuses envahissent le sein, il peut présenter trois types d'architecture : bien différencié avec des structure tubulaires prédominantes, moyennement différencié et indifférencié avec une absence de structures glandulaires [Holland A et al, 1994].

✓ **Le carcinome lobulaire infiltrant (CLI) :** c'est la deuxième forme de CS par ordre de fréquence (environ 10%). Ces cancer ne provoquent pas d'inflammation et sont donc moins palpables et moins visibles à la mammographie ; en partie pour ces raisons, lors de leur découverte, ces cancers ont déjà une taille supérieure aux cancers canaux [Holland A et al, 1994].

4.3. Classification TNM

Plus la connaissance des tumeurs s'améliore, plus l'hétérogénéité s'accroît. Il est nécessaire de pouvoir regrouper les tumeurs en groupes homogènes sur un plan pronostique et thérapeutique. La classification TNM proposée par Pierre Denoix a le mérite de répondre à ces exigences.

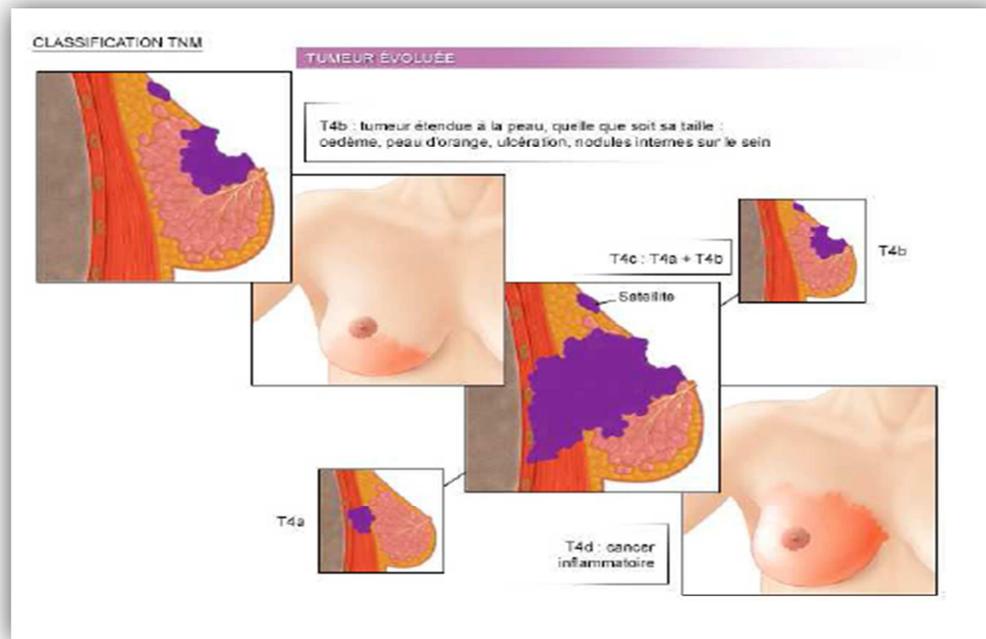
- La taille de la tumeur (T).
- L'envahissement ganglionnaire (N).
- La présence de métastases à distance (M).

Elle a été retenue comme base de classification par le comité de nomenclature et de statistique de l'UICC (Union Internationale Contre le Cancer) (figure3). Elle est basée sur le principe de l'extension anatomique déterminé par la clinique et l'histopathologie (Tableau 2) [Viale G, 2006].

Tableau 02 : Classification TNM anatomo-pathologique des cancers du sein

[Fondrinier E, 2002]

| |
|---|
| <p>T : tumeur primitive</p> <p>T0 : Pas de tumeur palpable</p> <p>TX : Aucune information sur la tumeur</p> <p>T0 : la tumeur primitive n'est pas palpable</p> <p> Tis : carcinome <i>in situ</i></p> <p> Tis (DCIS) : carcinome canalaire <i>in situ</i></p> <p> Tis (CLIS) : carcinome lobulaire <i>in situ</i></p> <p> Tis (Paget) : maladie de Paget du mamelon sans tumeur sous-jacente</p> <p>T1 : tumeur £ 2 cm dans sa plus grande dimension</p> <p> T1mic : micro-invasion £ 1 mm dans sa plus grande dimension</p> <p> T1a : 1 mm < tumeur £ 5 mm dans sa plus grande dimension</p> <p> T1b : 5 mm < tumeur £ 1 cm dans sa plus grande dimension</p> <p> T1c : 1 cm < tumeur £ 2 cm dans sa plus grande dimension</p> <p>T2 : cm < tumeur £ 5 cm dans sa plus grande dimension</p> <p>T3 : tumeur > 5 cm dans sa plus grande dimension</p> <p>T4 : tumeur, quelle que soit sa taille, avec une extension directe soit à la paroi thoracique (a), soit à la peau (b)</p> <p> T4a : extension à la paroi thoracique en excluant le muscle pectoral</p> <p> T4b : œdème (y compris peau d'orange) ou ulcération de la peau du sein, ou nodules de perméation situés sur la peau du même sein</p> <p> T4c : T4a + T4b</p> <p> T4d : cancer inflammatoire</p> |
| <p>N : nœuds lymphatiques régionaux</p> <p>NX : Aucune information sur la tumeur</p> <p>N0 : pas d'adénopathie perceptible cliniquement</p> <p>N1 : une ou plusieurs adénopathies axillaires homolatérales mobiles et individualisables</p> <p>N2 : adénopathies axillaires homolatérales fixées OU adénopathies mammaires internes homolatérales sans adénopathies axillaires clinique :</p> <p> N2a : adénopathies axillaires homolatérales fixées</p> <p> N2b : adénopathies mammaires internes homolatérales sans adénopathies axillaires clinique</p> <p>N3 : comme décrit ci-dessous :</p> <p> N 3a : adénopathies homolatérale sous-claviculaire, avec ou sans adénopathies axillaires</p> <p> N3b : adénopathies homolatérales mammaires internes et axillaires</p> <p> N3c : adénopathies supra claviculaire homolatérales</p> |
| <p>M : Métastases</p> <p>MX : Aucune information sur la présence de Métastases à distance</p> <p>M0 : absence de Métastases à distance</p> <p>M1 : présence de Métastases à distance</p> |



B

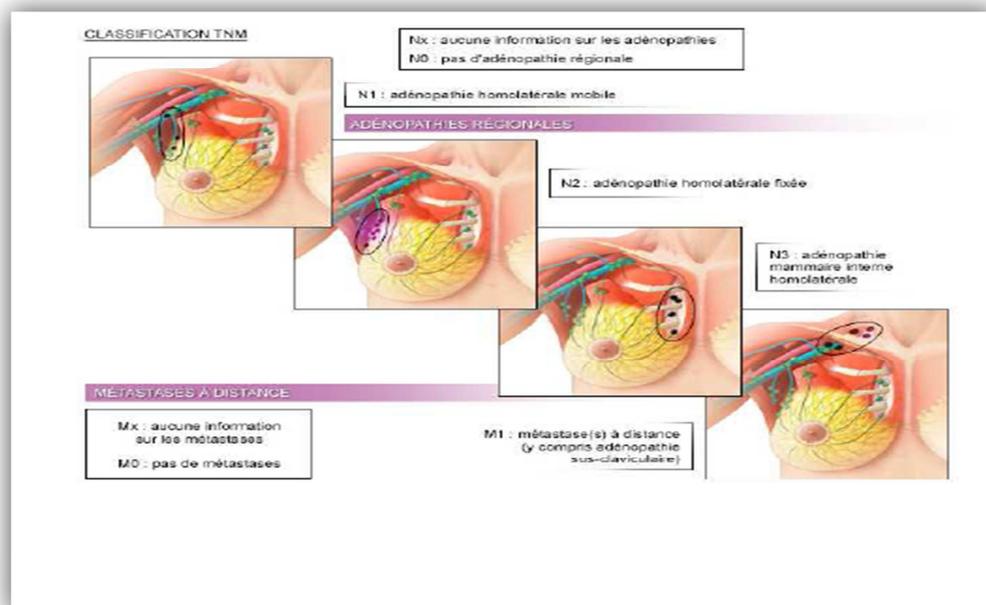


Figure 3: classification du TNM : **A** /Stade T, **B**/Stade N et M

[Fondrinier E, 2002]

4.4. La classification du grade

L'évolution d'un cancer est liée à son degré d'anaplasie par rapport au tissu d'origine. En effet, plus une tumeur est anaplasique plus l'évolution est péjorative. La classification histopronostique la plus utilisée actuellement est le grade de « Scarff, Bloom and Richardson » (SBR), revu par le groupe de Nottingham, repris par l'European Community Working group for Breast Pathology et préconisé par l'OMS. La méthode du *grading* SBR consiste à évaluer trois paramètres morphologiques :

- La formation de tubules ou degré de différenciation
- Le pléomorphisme nucléaire ou degré d'anisonucléose
- La fréquence des mitoses.

Un score allant de 1 à 3 est attribué à chacun de ces paramètres. Les différents scores sont additionnés pour obtenir le grade histologique global :

- Grade I = score 3-5 (pronostic favorable)
- Grade II = score 6-7 (pronostic intermédiaire)
- Grade III = score 8-9 (pronostic sombre)

Les cancers de grade I sont mieux différenciés, tandis que les cancers de grade III le sont moins. Les cancers indifférenciés ont habituellement une évolution plus grave et plus rapide (annexe1) [Amat et al 2002].

5. Les facteurs de risque

5.1. Facteurs de risque génétiques

Le risque relatif est multiplié par 4 pour une femme ayant un parent de premier degré ayant développé un CS. Plus le lien de parenté est étroit, plus le facteur de risque est élevé. Une transmission héréditaire pourrait être à l'origine de 5 à 10% des cancers du sein. Le risque cumulé au cours de la vie d'une femme de développer un CS sporadique est de 8 à 10% (soit une femme sur 10 ou 12). Si une femme est porteuse d'un gène de prédisposition héréditaire ce risque passe à plus de 80% [Eisinger F et al, 1999].

La forme d'une mutation ou d'un grand réarrangement (duplication ou délétion concernant un ou plusieurs exons d'un gène) de l'un des deux allèles et le deuxième évènement serait causé soit par une mutation intra génique, soit par une délétion de la bande chromosomique où est situé le gène, soit par une délétion du chromosome entier

emportant l'allèle sauvage, soit par une perte chromosomique par non-disjonction lors de la mitose, enfin par recombinaison somatique avec réplication de l'allèle muté [Knudson AG et al, 2001].

Cette succession d'événements provoquant la perte de l'expression du gène du fait soit de l'absence d'expression de la protéine, soit de l'expression d'une protéine non fonctionnelle va favoriser ainsi l'initiation de la cancérogènes.

5.2. Facteurs de risque hormonaux

L'équilibre oestroprogestatif permet le développement harmonieux de la glande mammaire. Ainsi, l'hyperoestrogénie relative ou absolue entraîne une hyperplasie épithéliale, un œdème du tissu conjonctif source de sclérose péricanalaire et selon la part prépondérante de ces anomalies de base, peuvent se constituer des ectasies plus ou moins sécrétantes des galactophores principaux, une mastose sclérokystique, des hyperplasies régulières ou atypiques, s'accompagnant parfois d'une prolifération mésenchymateuse.

Ainsi, la ménopause tardive, l'âge tardif de la première grossesse, l'absence d'allaitement et la prise d'oestrogènes seuls de façon prolongée augmentent le risque du cancer du sein. Le développement de la pathologie épithéliale est lié à des facteurs hormonaux (hyperoestrogénie), mais l'hormono dépendance des tumeurs du sein est inconstante : 30 à 35% des CS métastasés répondent à une hormonothérapie.

5.3. Facteurs de risque environnementaux

Des facteurs alimentaires avec excès de graisse animale, souvent source d'obésité, est discuté et expliquerait l'incidence croisée avec le cancer de l'endomètre. L'obésité après 50 ans augmente le risque de cancer du sein d'environ 20% [Kelsey JL et al, 1996].

De l'irradiation a été prouvé par les explosions atomiques d'Hiroshima, ainsi que les expositions professionnelles aux polluants environnementaux et les agents chimiques.

Le niveau socio-économique : il est mis en évidence par la plupart des études que les femmes qui ont un niveau de vie élevée ont un risque multiplié par deux. Ainsi que le tabagisme et la consommation d'alcool augmenterait le risque de 200% [Longnecker MP et Tseng M, 1998].

6. Le dépistage

Le dépistage vise à détecter, en absence de symptômes, d'éventuelles anomalies susceptibles d'être cancéreuse ou évoluer vers un cancer. Cela permet une prise en charge thérapeutique fiable et efficace, raison pour laquelle les pouvoirs publics invitent toutes les femmes de 50 à 74 ans à participer au dépistage qui vise à réduire la mortalité dans cette tranche d'âge la plus exposée à ce type de cancer [Nicolas ,2008].

La généralisation du dépistage du CS, que ce soit le dépistage individuel ou un dépistage de masse organisé, amène à découvrir beaucoup de lésions ou tumeurs bénignes uniquement détectable par la radiologie notamment à cause des micros calcifications qui les accompagnent [Camilo-A, et Thomas R, 2010].

7. Le diagnostic

Un CS est découvert soit à l'occasion d'un examen systématique par le gynécologue, soit par la patiente elle-même au cours d'un auto-examen des seins, soit à l'occasion d'un écoulement mamelonnaire, adénopathies palpables, seins inflammatoires [Boisserielocroix, 2006].

Le diagnostic est confirmé par une mammographie et éventuellement une échographie mammaire , et par une cytoponction de nodule ou biopsie, dont le liquide ou les cellules seront examinés au microscope afin de rechercher des cellules tumorales [Perry NM, 2004].

7.1. Interrogatoire et examen clinique

Il précise l'âge, sexe, les antécédents gynéco-obstétricaux, cycles menstruels , ménopause, grossesses, allaitements, traitements, hormonaux, éventuelle contraception, les antécédents personnels et familiaux de CS, de mastopathie bénigne, On cherche des signes d'évolutivité de la tumeur mammaire [Brettes et al, 2005].

L'examen clinique est capitale et doit inclure l'inspection et la palpation des deux glandes mammaire, des aisselles et des creux sus claviculaires.

7.2. Les examens complémentaires:

- **La mammographie :** La mammographie est une technique de radiographie, particulièrement adaptée aux seins de la femme. Elle a pour but de déceler au plus

tôt des anomalies avant qu'elles ne provoquent des symptômes cliniques. La mammographie est non seulement pratiquée dans les campagnes de dépistage du CS, mais aussi pour le diagnostic et la localisation lors d'interventions chirurgicales, le point fort d'un tel examen est qu'il permet d'examiner la totalité du tissu mammaire avec une ou deux incidences seulement.

- **L'échographie** : elle est souvent réalisée en complément d'une mammographie. L'échographie mammaire est utile pour voir la nature liquide ou solide des nodules palpés ou découverts sur la mammographie [Tristant H et al, 1998].

7.3. L'anatomopathologie

L'examen cytologique peut être réalisé à partir de trois type de prélèvement :

- **La cytoponction mammaire** : Cytoponction à l'aiguille fine d'une lésion kystique, d'une tumeur solide ou étalement d'un écoulement mamelonnaire spontané ou provoqué. Il n'a de valeur qu'en cas de positivité [Fontanière B et al, 1998].
- **La biopsie guidée** : c'est un prélèvement echo-guidé, c'est l'examen le plus fiable qui permet de confirmer le diagnostic du cancer, préciser le type histologique, le garde de la tumeur et permet d'étudier les récepteur hormonaux, et l'évaluation de la réponse thérapeutique [Pascal A, 2008].
- **Immunohistochimie**

La détection des récepteurs hormonaux (RH) dans les tumeur malignes du sein fait partie du bilan initial des CS, apportant au clinicien une information d'ordre pronostique et thérapeutique.

En effet, la présence des récepteurs stéroïdiens est le témoin d'un bon pronostic et un excellent facteur prédictif d'une éventuelle réponse favorable au traitement hormonal, tandis que l'absence de leur expression est le témoin d'une entité biopathologique associée à un pronostic biopathologique péjoratif [Thomas ,et al,2005] .

Human Epidermal growth factor receptor 2 (HER2) est une glycoprotéine membranaire constituée présente à la surface des cellules cancéreuses mammaires, elle possède un domaine intracellulaire démontrant le rôle de Récepteur Tyrosine Kinase.

La surexpression du récepteur HER2 est retrouvée environ 25 % des femmes atteinte de CS. Les oncologues demandent le statut HER2 dès que le diagnostic de cancer du sein est posé, afin de prévoir la stratégie thérapeutique. Il peut être entrepris aussitôt après une biopsie ou une intervention chirurgicale. [Fédérique,2004].

8. Traitement du cancer du sein

L'arsenal de traitement pour lutter contre le CS est efficace. En plus du traitement chirurgical local s'ajoutent des traitements néo-adjuvants (préopératoire) ou adjuvants (post opératoire) que sont la chimiothérapie, la radiothérapie, l'hormonothérapie et la thérapie ciblée, seule ou en association. Malgré leur bénéfice certain, ils engendrent de lourds effets secondaires.

8.1. La chirurgie

La chirurgie est en général la première ligne de prise en charge thérapeutique. Elle varie en fonction du stade et du potentiel évolutif de la tumeur.

Dans les cas les plus agressifs, on réalise une mastectomie radicale qui consiste en une ablation complète du sein, des muscles pectoraux avec curage axillaire systématique. Cependant, on favorise des traitements de plus en plus conservateurs pour les cancers les moins avancés. On peut réaliser une mastectomie partielle qui consiste en l'exérèse d'une partie seulement de la glande mammaire avec une exploration par la procédure du ganglion sentinelle du creux axillaire afin d'éviter son évidement complet et ses conséquences potentiellement invalidantes. Une tumorectomie peut également être réalisée. Elle consiste en une exérèse locale de la tumeur en préservation au maximum la glande mammaire.

8.2. La Chimiothérapie

Le CS est l'un des cancers les plus chimio-sensibles. La chimiothérapie peut être utilisée en situation néo-adjuvante pour réduire la taille de la tumeur et permettre ainsi un traitement chirurgical conservateur, en situation adjuvante ainsi qu'en situation métastatique [Saglier et al, 2003].

Le principe de la chimiothérapie est d'empêcher la division des cellules engagées dans le cycle cellulaire. Les substances utilisées à cet effet capables d'endommager les cellules sont dites cytotoxiques. Dans l'objectif de réduire les résistances précoces, la poly-chimiothérapie est plus souvent utilisée par rapport à la mono-chimiothérapie. Malgré l'efficacité de cette thérapie, sa non spécificité est un inconvénient majeur car les agents chimio thérapeutiques attaquent l'ensemble des cellules en division sans aucune distinction entre les cellules saines et les cellules tumorales.

8.3. La radiothérapie

C'est un traitement locorégional utilisant des rayons cibles pour détruire les cellules tumorales et ce en lésant leurs chromosomes ce qui bloque leur division et induit la mort cellulaire. Le but de la radiothérapie est de limiter le risque de récurrence local et régional ainsi que la diminution du risque de métastases secondaires.

8.4. L'hormonothérapie

La prédiction de la réponse à l'hormonothérapie est définie par la présence de RH (œstrogènes et progestérone) sur la tumeur primitive. Le but de l'hormonothérapie est de bloquer l'action des œstrogènes, facteur de croissance tumorale. L'hormonothérapie est indiquée chez les femmes ayant une tumeur hormonosensible et pendant une durée de 5ans [Bermont A, 2004].

Les deux principales thérapeutiques sont :

❖ **Les anti-estrogènes** dont le chef de file est le tamoxifène. Il est indiqué chez les femmes non ménopausées. Le tamoxifène réduit le risque de rechute ainsi que le risque de cancer du sein controlatéral.

❖ **Les inhibiteurs de l'aromatase** dont les chefs de file sont l'anastrozole et le letrozole, sont indiqués chez les femmes ménopausées. Ils réduisent les risques de rechute.

8.5. Les thérapeutiques ciblées

Depuis 2005, les stratégies thérapeutiques du cancer du sein primaire ont été bouleversées pour les patientes sur exprimant la protéine HER-2. Le trastuzumab, un

anticorps monoclonal anti HER-2, est la première thérapeutique ciblée mise sur le marché dans le cancer du sein Il agit spécifiquement sur le récepteur HER-2 en le bloquant [Smith I et al, 2007]

9. Le système du glutathion (GSH)

Le glutathion (GSH) est un tri-peptide ubiquitaire, qui constitue le thiol le plus abondant dans les cellules. Il a pu être montré qu'il joue un rôle central dans la défense cellulaire contre le stress oxydant et les xéno-biotiques. Le maintien d'un taux de GSH normal pourrait donc être impliqué dans la résistance à la toxicité de divers oxydants, dont les effets peuvent entraîner une mortalité cellulaire rapide ou une modification des cascades de transduction du signal [Choi J, et al, 1997].

Les défenses cellulaires contre les espèces réactives de l'oxygène mettent en jeu des enzymes anti-oxydantes: le super-oxyde dismutase et la catalase convertissent respectivement O_2^- en H_2O_2 et H_2O_2 en H_2O , par exemple. Mais le cycle redox du GSH est également très important puisqu'il permet de diminuer les taux des espèces réactives de l'oxygène, ou des produits de la peroxydation lipidique en les transformant en alcools lipidiques non toxiques [Brown L, 1994].

9.1. La superfamille du glutathion S-transférase :

Est une protéine dimérique (homo- ou hétéro-dimérique avec des sous-unités de 23 à 28 kDa) appartenant à une grande famille d'iso-enzymes multifonctionnelles, les GST, qui font partie de la classe II des enzymes de détoxification. La réactivité du groupe nucléophile thiol du GSH est une voie importante du métabolisme de nombreux xéno-biotiques lipophiles et de composés endogènes possédant un centre électrophile. La conjugaison peut, suivant la nature du substrat électrophile, être non enzymatique ou être catalysée par les GST (Figure 4) [Schipper D et al, 1997].

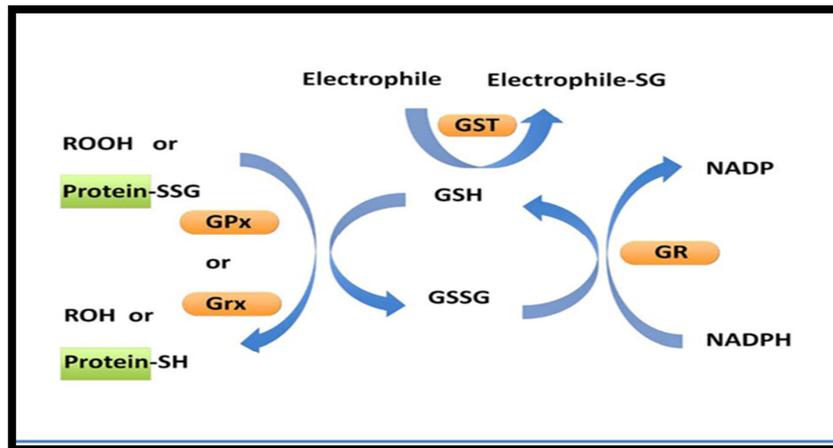


Figure 4 : La réactivité du groupe nucléophile.

Ces enzymes, en conjuguant de nombreux xéno-biotiques au glutathion, rendent ces composés hydrosolubles, et permettent leur détoxification. Mais les GST séquestrent également des toxines par une liaison de forte affinité. Le rôle des GST est donc clairement celui de protéger les cellules contre la cyto-toxicité de divers composés. Cette superfamille comprend quatre classes d'enzymes cytosoliques (A, M, P et T) et une classe d'enzymes microsomales. La distribution des iso-enzymes de la GST est tissu-spécifique (Figure 5) [Schipper DL, 1997].

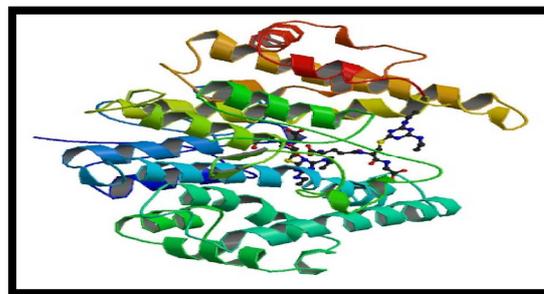


Figure 5 : La structure cristalline de GST [Bieseler, B et al, 1998].

Actuellement, les GST humaines sont réparties en 6 groupes selon leurs propriétés structurales (similarité des séquences nucléotidiques, localisations et nature du substrat) biochimiques (point isoélectrique) et immunologiques. On distinguera ainsi les classes : alpha (α), mu (μ), kappa (κ), thêta (t), pi (π), sigma (σ) [Board P et al, 1990].

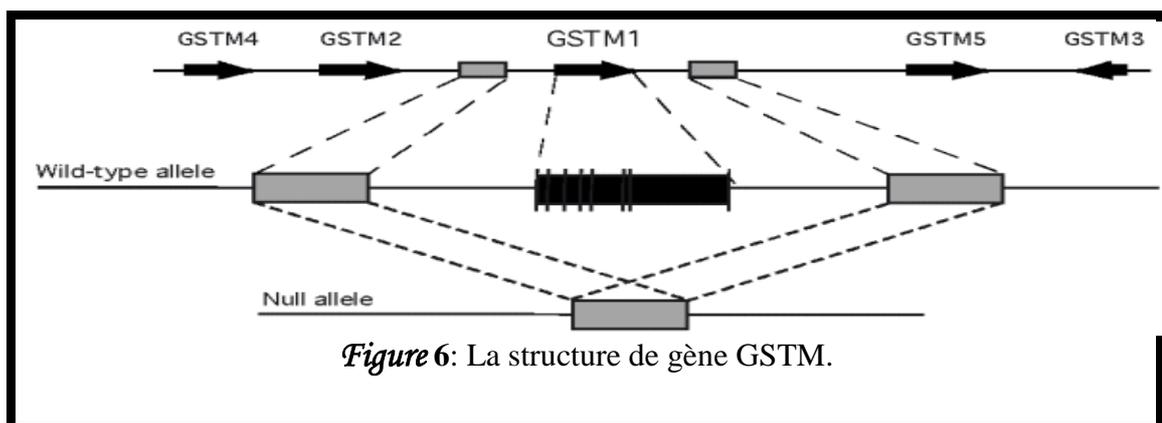
Chaque classe est représentée par un nombre précis de gènes :

La classe alpha (GSTA) : est représenté par 5gènes (GSTA1, A2, A3, A4 et A5) qui sont surtout exprimés dans le foie, le rein ou l'intestin grêle.

La classe thêta(GSTT) : est représenté par 2 gènes GSTT1 et GSTT2, est abondante dans les érythrocytes. Récemment un polymorphisme de délétion a été retrouvé pour la GST T1- l leucocytaire qui explique que l'enzyme soit absente chez 25 à 40 % de la population, le gène GSTT1 fait partie du groupe de gènes de la GST Thêta-classe à 22q11.2. GSTT1 et GSTT2 sont séparées par environ 50 kb. GSTT2 se trouve en tête-à-tête avec un gène codant pour la D-dopachrometautomerase (DDCT). Le gène GSTT1 se compose de cinq exons, qui varient en taille de 88 à 195 pb, tandis que les introns varient de 205 à 2363 pb [Vorachek WR, 1991].

La classe mu (GSTM): comprend 5 gènes: GSTM1, M2, M3, M4 et M5, est exprimée de façon variable dans les différents tissus humains mais on estime que 40 à 50% de la population a un phénotype nul pour cette isoenzyme à cause d'un polymorphisme de délétion, et n'exprime donc pas la GST M1- 1 [Tew K.D et al, 1994].

Le gène GSTM1 fait partie du groupe de gènes GSTPM au chromosome 1p13.3 qui est agencé comme 5'-GSTM4-GSTM2-GSTM1-GSTM5-GSTM3-3'. Le gène GSTM1 se compose de 8 exons, qui varient en taille de 36 à 112 pb, tandis que les introns varient de 87 à 2641 pb. (Figure6) [Wang, B.1988].



Enfin, un seul gène a été décrit dans chacune des classes kappa (GSTK) et pi (GSTP) nommés respectivement, GSTK1 et GSTP1, est exprimé comme la GST majoritaire dans le poumon, le sein, le gros intestin ou la vessie [Stjntjes G et al, 1995].

La classe sigma reste mal connu [Board P et al, 1990].

9.2. Le gène de la GSTP

9.2.1. Localisation et structure du gène

Le glutathion S -transférase P1 (gène GSTP1) s'étendant sur environ 2,8 kb est situé sur le chromosome 11q13 et contient sept exons (figure 7). Deux sites polymorphes dans la séquence d'ADN codante la GSTP ont été identifiés [Cowell IG et al, 1988 et Kano T et al, 1987].

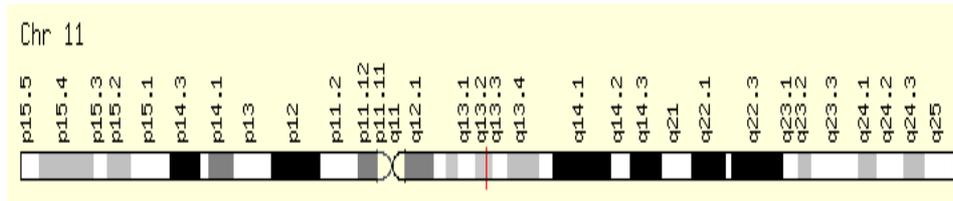


Figure 7 : localisation du gène de la GSTP1 au niveau du chromosome 11.

9.2.2. Le transcrit :

GSTP1 est exprimé en ARNm de 750 nucléotides dans le foie. [Moscou et al. (1988)]. Il existe 2 variations nucléotidiques de GSTP1 associées à la présence de 4 allèles dont 2 (GSTP1*A, GSTP1*B) sont majoritaires, la caractérisation des activités enzymatiques in vitro et in vivo vis-à-vis du 1-chloro-2,4-dinitrobenzène a montré une diminution d'activité associée aux allèles GSTP1*B et GSTP1*C (Harries et al, 1997 ; Wadelius et al, 1999).

Tableau 3: Allèles GSTP1 et fréquences alléliques [Harries et al, 1997; Wadelius et al, 1999]

| Allèles | Variations nucléotidiques* | Conséquences attendues | Fréquences alléliques (%) | | |
|---------|----------------------------|------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------|
| | | | Caucasiens n = 1 330** | Afro-Américains n = 166 | Asiatiques n = 98 |
| GSTP1*A | Aucune | Aucune | 66,0 | 54,0 | 80,6 |
| GSTP1*B | A313G | I105V | 26,0 | 44,0 | 18,4 |
| GSTP1*C | A313G, C341T | I105V, A114V | 7,8 | 1,0 | 1,0 |
| GSTP1*D | C341T | A114V | 0,1 | 1,0 | 0 |

n : nombre maximum d'individus étudiés ; GST : glutathion S-transférase ; * position sur l'ADNc ; ** effectifs inférieurs à ce chiffre pour les allèles GSTP1*C et GSTP1*D

9.2.3. Protéine GSTP1

Le gène GSTP1 est d'environ 2,8 kb. Le cadre ouvert de lecture commence à l'extrémité 3' du premier exon et 630 pb de long, codant pour une protéine de 209 acides aminés avec une masse moléculaire relative 23224Kda (la plupart des auteurs excluent la méthionine d'initiation). Deux des polymorphismes pour résultat des substitutions d'acides aminés dans les codons 104 (Ile -> Val) et 113 (Ala -> Val) dans les exons 5 et 6, respectivement (Figure 8) [Board P, 1989].

La GSTP1 est exprimée dans de nombreux tissus, y compris la poitrine où il est la TPS prédominante. Un îlot CpG dans le promoteur de la GSTP1 est révélée être non méthyle dans le sein normal, mais hyperméthylés dans environ un tiers des cancers du sein primaires [Esteller M et al, 1998].

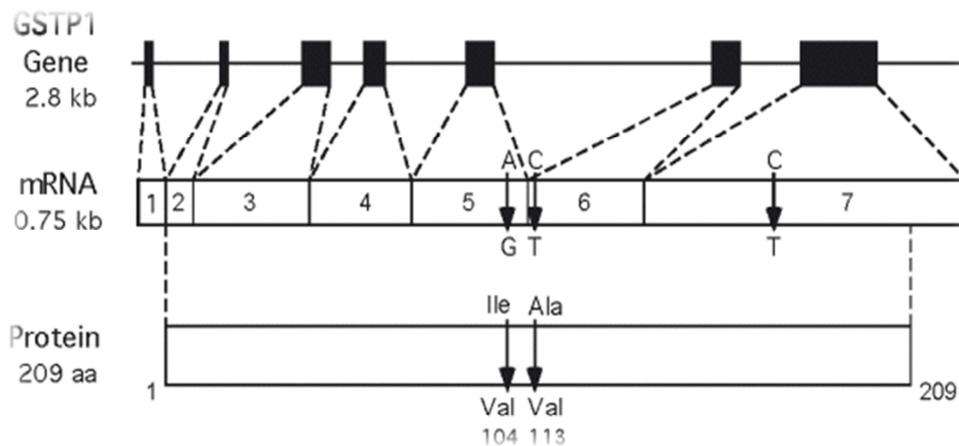


Figure 8: structure de gène GSTP1 [Board P, 1989].

9.3. Les polymorphismes de la GSTP1

9.3.1. Polymorphisme A313G

Parmi les polymorphismes affectant le gène GSTP1 codant pour la glutathion-S-transferase P1, la transition A–G en position 313 de l'exon 5 du gène GSTP1 qui remplace l'Isoleucine (Ile) en position 104 par une Valine (Val) au niveau du site actif, affecte les activités enzymatiques de la GSTP1 ainsi que la spécificité vis-à-vis des substrats.

L'activité enzymatique du variant Val104 est 5 fois plus grande que celle du variant Ile vis-à-vis du benzo[a]pyrene-7,8-dihydrodiol-9,10-epoxide (BPDE), un métabolite des hydrocarbures aromatiques polycycliques présents dans la fumée de cigarette.

Des études ont démontré par la suite que l'acide aminé Val altère la stabilité de l'enzyme à la chaleur expliquant ainsi son activité spécifique diminuée par rapport à celle que lui confère habituellement son iso forme. Pour cela, cette mutation ponctuelle a d'ores et déjà été étudiée dans le contexte de prédisposition au cancer ou encore dans le cadre de la résistance aux médicaments antinéoplasiques (Figure 9).

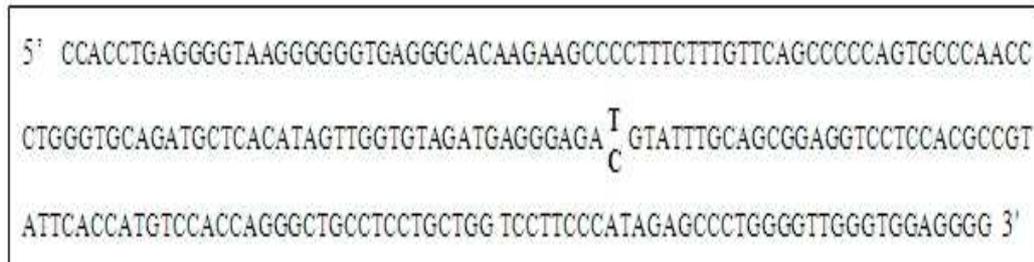


Figure 15: Mutation A³¹³G du chromosome 11q13.

9.3.2. Polymorphisme GSTP C341T

Le second polymorphisme à l'étude sur GSTP, C341T, se situe au niveau de l'exon 6. Cette autre mutation ponctuelle amène également une modification dans la séquence des acides aminés allant d'une alanine vers une Valine cette fois-ci au codon 114 (Ala114Val) ayant pour impact fonctionnel une diminution de l'activité enzymatique de conjugaison chez les porteurs d'une Valin d'environ 20% du niveau de base. [Stewart RK et al, 1998].

Néanmoins, d'autres études fonctionnelles menées sur les variantes alléliques de GSTP tendent à démontrer que l'activité différentielle de l'enzyme varie selon le substrat employé, pouvant parfois conférer aux porteurs d'une Valine au codon 104 et/ou 114 une efficacité métabolique supérieure. Ainsi, d'aucuns rapportent une activité catalytique des époxydes accrue pour les porteurs Val105 [Xia H et al, 2001].

10. GST et le risque du cancer du sein :

La majorité de polymorphismes affectant des gènes impliqués dans le métabolisme cancérigène sont des polymorphismes de type SNP. Les suppressions sont moins communes et l'absence complète d'un gène sous la forme d'un allèle nul est rare. C'est pour cette raison que les génotypes GSTM1 et les GSTT1 -/- ont attiré tellement l'attention et deviennent le centre de plus de 500 publications en épidémiologie moléculaire.

L'hypothèse de ces dernières études c'est qu'une activité enzymatique normale ou accrue de GST peut protéger les tissus susceptibles contre des mutations somatiques

d'ADN en facilitant la désintoxication des carcinogènes électrophiles. En revanche, on s'attend à ce que les homozygotes de GSTM1 ou les GSTT1 aient une capacité altérée d'éliminer métaboliquement les composés cancérigènes et que les personnes GSTM1 -/- ou GSTT1 -/- peuvent avoir un risque diminué de CS.

Ces enzymes, en conjuguant de nombreux xéno-biotiques au glutathion, rendent ces composés hydrosolubles, et permettent leur détoxification. Mais les GST séquestrent également des toxines par une liaison de forte affinité. Le rôle des GST est donc clairement celui de protéger les cellules contre la cyto-toxicité de divers composés [Schipper DL, 1997].

D'autre part, la GSTP1 est un enzyme de détoxification de nombreux médicaments, y compris certains anti-cancéreux comme les dérivés organique du platine. Une augmentation de l'expression de l'enzyme est souvent observée dans les lignées résistantes au cisplatine. Un polymorphisme génétique a été récemment identifié : il s'agit d'une mutation ponctuelle A313G conduisant à une substitution Ile104val et à une diminution de l'activité de l'enzyme. Dans une étude sur 107 patients traités pour cancer colorectal par 5-FU et oxaliplatine, les dix homozygotes porteurs de la variation ont présenté une survie trois fois supérieure à la survie des homozygotes (sauvages). Son effet peut être considéré comme protecteur [Robert M et al, 2000].

Puisque GSTs ont des spécificités de recouvrement de substrat, l'insuffisance d'une isoenzyme individuelle de GST peut être compensée par d'autres isoforms. Par conséquent, la détermination simultanée préalable de tous les génotypes de GST peut donner une interprétation fiable du rôle de la famille de GST dans le développement de cancer.



PARTIE
PRATIQUE

I. Matériels et méthodes

Il s'agit d'une étude transversale de type cas témoins ; Cette étude a été réalisée entre mars et mai 2015, et a porté sur deux type de populations : une population de 44 témoins (femmes) présumées saines et une population de 36 patientes diagnostiquée d'un CS.

1. L'échantillonnage

Notre échantillon est réparti en deux groupes ; une population patiente présentant un CS et une population témoins. Des critères d'inclusions et d'exclusion ont été établis pour la population patiente ainsi que pour la population témoins.

1.1. Population malade

L'étude que nous avons entreprise regroupe 36 sujets de l'Est Algérien présentant un CS sélectionnés parmi les patients admis au sein du centre anti cancer au hospitalo-universitaire BEN BADIS de Constantine (CHUC).

- **Critères d'inclusions**
 - ✓ Malade ayant un cancer du sein.
 - ✓ Tout âge confondu.
- **Critères d'exclusion**
 - ✓ Sujets déshydraté, difficile à piquer.
 - ✓ Sujets refusant de faire le prélèvement.

1.2. Population témoin

C'est une population générale de référence, en nombre de 44.

- **Critères d'inclusions**
 - ✓ Sujets sains de sexe féminin.
 - ✓ Sujets âge de 30 à 70 ans.
 - ✓ Femmes de l'Est algérien.
- **Critères d'exclusion**
 - ✓ Sujets présentant des antécédents personnels ou familiaux de cancer du sein.

2. Méthodologie

2.1. Le recueil des données

Un questionnaire comprenant toutes les données nécessaires est établi pour la population d'étude (Annexe 2). Tous les renseignements nécessaires sont enregistrés après consultation du dossier médicale du malade et un interrogatoire du patient est réalisé par nous-même.

2.2. Le prélèvement sanguin

Le prélèvement sanguin s'effectue selon certains critères :

- ❖ Le prélèvement se fait sur les patientes et les témoins qui répondent aux critères d'inclusions de notre étude.
- ❖ Le consentement est obligatoire.
- ❖ Le prélèvement est réalisé dans un tube EDTA (Ethylen-Diamine-Tetra-acétique) sous vide. Il s'agit de 6 à 8 ml de sang qui sera conservés à une température de 4°C jusqu'au moment des manipulations.

2.3. L'étude moléculaire

L'étude moléculaire consiste en une recherche du polymorphisme A313G du gène de la GSTP1 au niveau du laboratoire de biologie et de génétique moléculaire (UC3), pour cette étude nous avons procédé plusieurs techniques :

- Une technique d'extraction de l'ADN
- La spectrophotométrie
- Une technique de polymérisation en chaîne (PCR)
- Une électrophorèse
- Une digestion enzymatique

2.3.1. L'extraction d'ADN

Les techniques d'extraction des acides nucléiques relativement simple, permettent d'obtenir un ADN de pureté élevée et quantité importante.

L'ADN de chaque sujet a été extrait à partir des leucocytes du sang périphérique recueillis dans un tube EDTA, suivant la technique au NaCl. Ainsi les leucocytes sont séparés du sang total par une lyse hypotonique et traité ensuite par un détergent sodium dodécyle sulfate (SDS) et une protéinase K, et de cette manière l'ADN nucléaire est libéré dans le milieu. La pelote d'ADN est formée dans le surnageant par précipitation avec l'éthanol. L'ADN est solubilisé en phase aqueuse (Annexe3).

2.3.2. L'estimation de la qualité et de la quantité de l'ADN

- **Estimation qualitative:**

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

- Si le rapport DO_{260}/DO_{280} est compris entre 1.6 et 2 \Rightarrow l'ADN est suffisamment pur.
- Si le rapport $DO_{260}/DO_{280} > 2 \Rightarrow$ l'ADN est contaminé par les ARN.
- Si le rapport $DO_{260}/DO_{280} < 1,6 \Rightarrow$ l'ADN est contaminé par les protéines.

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

- **Estimation quantitative :**

Principe :

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

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

En prenant en considération que l'ADN obtenu est dilué à 1/100, la quantité obtenue est multipliée par 100 on conclue que la concentration sera facilement calculé grâce à la formule suivante :

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

Exemple :

Pour un ADN solubilisé dans 1000 μl de l'eau distillé ayant une $\text{DO}_{260\text{ nm}} = 0,139$

$$\left. \begin{array}{l} 1 \text{ unité de } \text{DO}_{260\text{ nm}} \rightarrow 50 \mu\text{g/ ml d'ADN} \\ 0,139 \text{ de } \text{DO}_{260\text{ nm}} \rightarrow X \end{array} \right\} X = 0,139 \times 50 = 6,95 \mu\text{g/ml}$$

Considérant que l'ADN est dilué à 1/100 (10 μl de l'ADN dilué dans 990 μl d'eau stérile), donc le facteur de dilution est égal à : volume total/volume d'ADN =100

Donc la concentration de l'échantillon est de : $6,95 \times 100 = 695 \mu\text{g/ml}$.

2.3.3. Le génotypage de la GSTP1

Pour la mise en évidence du génotype du polymorphisme A313G de la GSTP1, nous avons utilisé la technique PCR/RFLP qui consiste à la réalisation des étapes suivantes :

- Amplification par PCR (polymérase chaîne réaction).
- Une migration électro-phorétique sur gel d'agarose pour le contrôle du produit PCR (s'assurer qu'il n'y a pas de contamination).
- Digestion du produit de PCR par l'enzyme de restriction Alw26I
- Une migration électro-phorétique sur gel d'agarose pour la révélation du résultat de digestion (génotype A313G).

✦ *L'amplification par PCR*

Le principe :

la PCR est une méthode de biologie moléculaire permettant d'amplifier des séquences d'ADN cible, définies en plusieurs millions d'exemplaires. la PCR est une réaction en chaîne de n cycles successifs d'amplification, au cours desquels deux amorces dirigent l'amplification du fragment d'ADN double brin qu'elles encadrent. Un cycle d'amplification est composé de trois étapes : dénaturation, hybridation et élongation.

Avant de procéder à notre PCR, nous avons préparé un mix de PCR (ou milieu réactionnel) comprenant des désoxyribonucléotides triphosphates, une enzyme d'amplification in vitro (Taq polymérase), un environnement réactionnel (tampons, MgCl₂, H₂O) et deux amorces oligo-nucléotidiques.

Tableau 4 : Préparation du milieu réactionnel de la PCR

| Mix de PCR | Concentrations | Quantités µl pour un échantillon |
|-------------------|----------------|----------------------------------|
| Eau distillé | | 16.7µl |
| Tampon | 10X | 2.5µl |
| MgCl ₂ | (25mM) | 1.5µl |
| dNTP | (5mM) | 2µl |
| Amorce F | (10pM) | 0.5µl |
| Amorce R | (10pM) | 0.5µl |
| Taq polymérase | | 0.3µl |
| ADN cible | | 1µl |

Amorces:

Amorce F : 5' - ACC CCA GGG CTC TAT GGG AA -3'

Amorce R : 5' - TGA GGG CAC AAG AAG CCC CT -3'

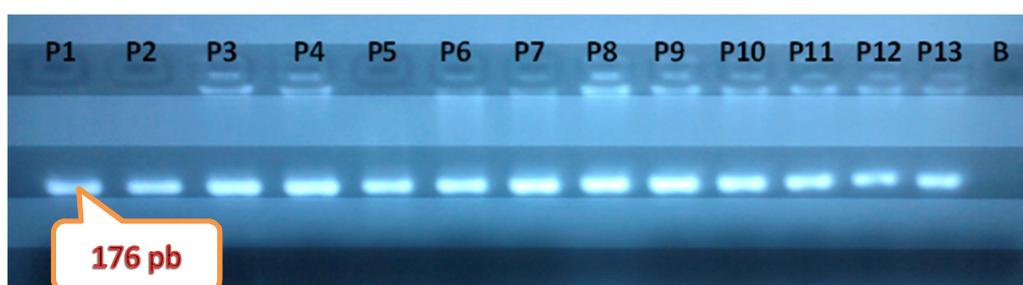
Après avoir préparé le mix de la PCR, nous avons pris 24µl de ce mélange avec 1µl d'ADN pour chaque tube. Ensuite le déroulement des cycles de la PCR a été assuré par le thermocycleur et les conditions d'amplification étaient comme suit : dénaturation initiale à 94°C pendant 5 minutes, suivie de 30 cycles de PCR, comprenant chacun une dénaturation à 94°C, une hybridation à 60°C ET une élongation à 72°C et enfin une élongation finale à 72°C pendant 10 minutes.

Le contrôle des produits PCR s'effectue par électrophorèse sur un gel d'agarose 2% additionné de 10 µl de BET (Bromure d'éthidium) qui est un agent intercalent entre les bases nucléotidiques de l'ADN et émettent une coloration rouge lors de l'excitation par des UV. Le gel est déposé sur une plaque d'une cuve horizontale.

Dans chaque puits du gel, nous déposons 10 μ l de produits PCR en présence de 3 μ l du colorant Bleu de bromophenol (BBP) qui permettent de suivre le front de migration (annexe 4).

Parallèlement un échantillon sans ADN (témoin négatif) est inclus dans la série à amplifier et sert de control de contamination. Le dépôt se fait du côté cathode et le système est soumis à une migration sous un courant de 60 à 100 volts pendant 45 mn.

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



Photographie 1 : profil de migration électrophorétique de la PCR

➔ *Digestion des produits PCR*

Les produits de la PCR sont soumis à une digestion enzymatique par l'enzyme de restriction Alw26I. Pour cela nous préparons une quantité d'un mix pour la digestion selon le nombre des amplifias à être digérés. Ce mix de digestion contient de l'enzyme (Alw26I) et un tampon qui sera délivré dans le kit de l'enzyme et de l'eau.

Tableau 5 : Préparation du mix de digestion

| | |
|---------------------------|-------------|
| Nucléase free water (eau) | 17 μ L |
| Tampon 10X | 2 μ L |
| Alw26I | 1-2 μ L |
| Produit PCR | 10 μ L |

Nous préparons pour chaque échantillon un tube qui contient 10µL de produits PCR additionnés de 20µL de mix de digestion, les tubes sont ensuite incubés pendant une nuit dans une étuve à 37°C

✦ *Electrophorèse des produits de la digestion*

Les fragments d'ADN digérés par l'enzyme de restriction sont séparés par électrophorèse sur gel d'agarose 3%. Le gel est visualisé grâce à l'addition de BET (10µl).

Les acides nucléiques chargés négativement, sont déposés du côté de la cathode et migrent vers l'anode dans le champ électrique. La migration des fragments d'ADN dépend de leurs tailles ; plus le fragment a une taille élevée, moins la migration électrophorétique par rapport au puits d'inclusion est importante. A l'inverse des fragments de petite taille ont une distance de migration plus élevée.

Lorsqu'on obtient une nette séparation des différents fragments (après 2h 30mn de migration) le gel est photographié après trans illumination aux UV.

✦ *Profile RFLP obtenu*

L'enzyme de restriction Alw26I reconnaît et clive la séquence 5'...GTCTC (n) '3, elle clive le site de restriction suivant :

$$5' \dots GTCTC (n) \downarrow 3'$$
$$3' \dots CAGAG(n) \uparrow 5'$$

La présence d'une mutation A313G crée un site de coupure pour l'enzyme de restriction Alw26I, les fragments d'ADN obtenus seront de 93 et 83 bases s'il y a mutation soit des fragments de 176 pb en cas d'absence de mutation, et par conséquent on peut distinguer entre des sujets porteurs ou homozygotes.

Le génotype homozygote normal (AA) est représenté par une seule bande de 176pb, le génotype homozygote muté (GG), est représenté par deux bandes 93pb et 83pb et le génotype hétérozygote AG est caractérisé par trois bandes 176pb, 93pb et 83pb.



Photographie 2 : profil de migration électrophorétique d'une digestion enzymatique
(M : marqueur de taille 50pb)

3. Etude statistique analytique

Dans ce travail nous avons effectué une étude statistique vérifiant si une éventuelle association entre le polymorphisme A313G de la GSTP1 et le survenu d'un cs. L'étude statistique est basée sur l'évaluation d'un odds ratio (OR) et des P valu.

Les calculs statistiques de tous les échantillons obtenus ainsi que tous les paramètres considérés ont été obtenu par le logiciel Epi version 6.0

3.3. Calcul de l'Odds Ratio

Pour calculer l'OR nous avons établi un tableau de contingence : il est sous forme de tableau croise 2x2. le statut malade /non malade des sujets de l'étude est présenté en colonne et le caractère exposé/non expose en ligne.

| | Malade | témoins |
|------------|--------|---------|
| Exposé | A | C |
| Non exposé | B | D |

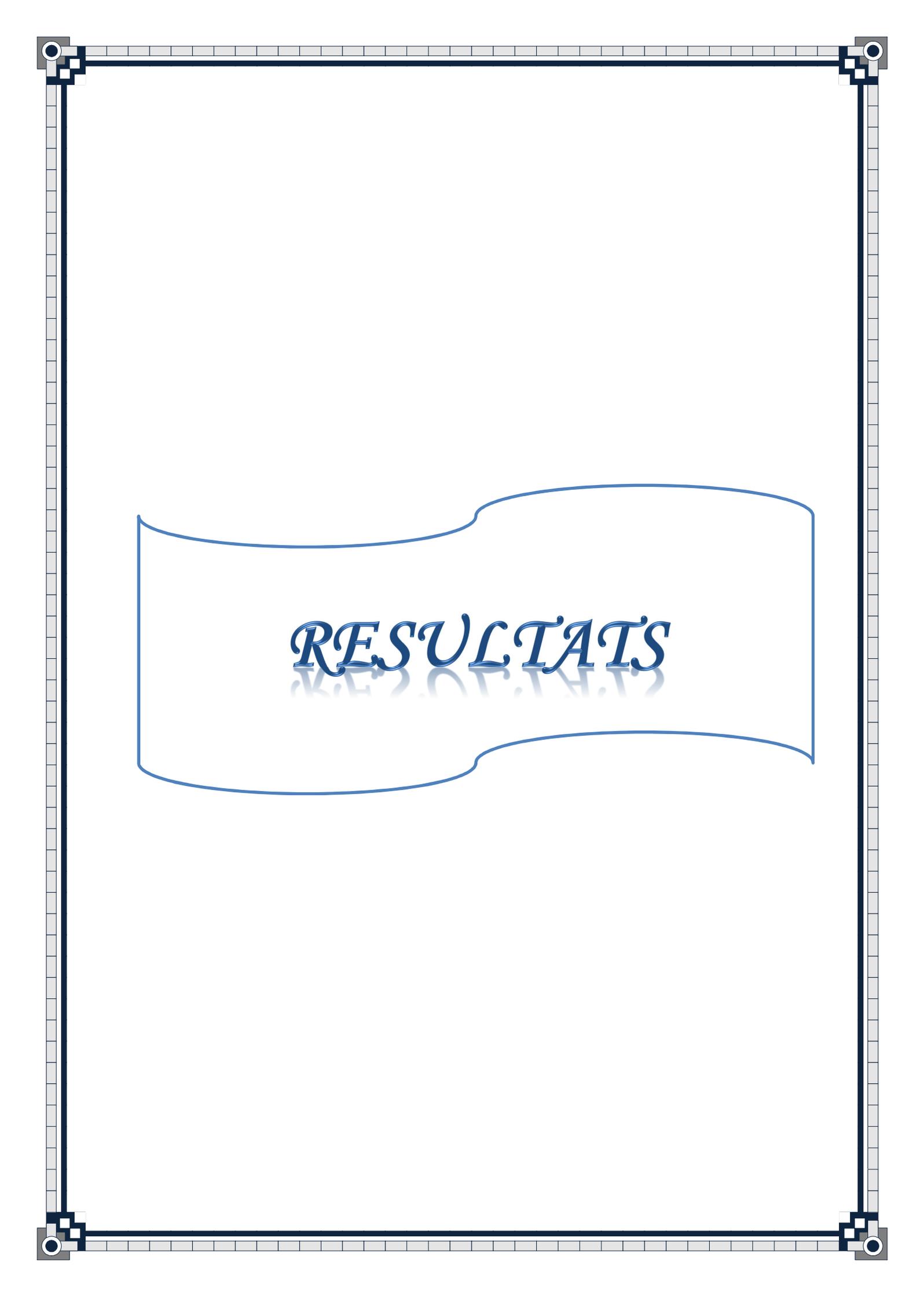
L'intensité de l'association entre le polymorphisme et l'activité cytotoxique est calculée comme suite :

$$OR = A * D / B * C$$

L'OR représente une mesure d'association épidémiologique entre un facteur et une maladie, en particulier lorsque la maladie est rare parmi la population.

3.2. Choix de la « p value »

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



RESULTATS

Ce travail est une enquête descriptive transversale de CS observée dans le service d'oncologie médicale du centre hospitalo-universitaire BEN BADIS de Constantine (CHUC).

Tableau 6 : Répartition des patients selon l'âge (N=36).

| Tranches d'âge | Nombre | Fréquence |
|----------------|--------|-----------|
| [30,40[| 8 | 22,22 |
| [40,50[| 15 | 41,66 |
| [50,60[| 10 | 27,77 |
| [60,70[| 2 | 5,55 |
| [70,80[| 1 | 2,77 |

Nous avons noté que l'incidence de la maladie est particulièrement importante dans la tranche d'âge [40,50[ans avec un taux de malades de 41,66 % suivie par la tranche d'âge [50,60[ans avec un taux de 27,77.

Tableau 7 : Répartition des témoins selon l'âge (N=44)

| Tranches d'âge | Nombre | Fréquence |
|----------------|--------|-----------|
| [20,30[| 5 | 11,36 |
| [30,40[| 13 | 29,54 |
| [40,50[| 16 | 36,36 |
| [50,60[| 4 | 9,09 |
| [60,70[| 5 | 11,36 |
| [70,80[| 1 | 2,27 |

La tranche d'âge la plus importante est celle de [40,50[. En vue que la population témoin soit homogène avec la population des patients.

1. Etude génétique

Tableau 8 : Fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme A313G du gène de la GSTP1 dans la population malade.

| génotype | Nombre | % |
|------------|--------|-------|
| AA | 15 | 41,66 |
| AG | 9 | 25 |
| GG | 12 | 33,33 |
| L'allèle A | 39 | 54,16 |
| L'allèle G | 33 | 45,83 |

Dans la population malade, le génotype sauvage représente le pourcentage le plus élevé avec 41,66%. Les hétérozygotes AG étaient les moins fréquents (25%)

En calculant les fréquences alléliques, nous avons noté une prédominance de l'allèle sauvage par une fréquence de 54,16 %

Tableau 9. Fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme A313G du gène de la GSTP1 dans la population témoin.

| génotype | Nombre | % |
|------------|--------|-------|
| AA | 22 | 50 |
| AG | 16 | 36,36 |
| GG | 6 | 13,63 |
| L'allèle A | 60 | 68,18 |
| L'allèle G | 38 | 43,18 |

Nous avons noté une prédominance de la fréquence génotypique sauvage AA chez les témoins par contre les homozygotes muté GG représente un taux de 13,63 % qui est considérablement faible par rapport à la population malade. La fréquence de l'allèle A est plus importante par rapport à l'allèle G par un taux de 68,18%.

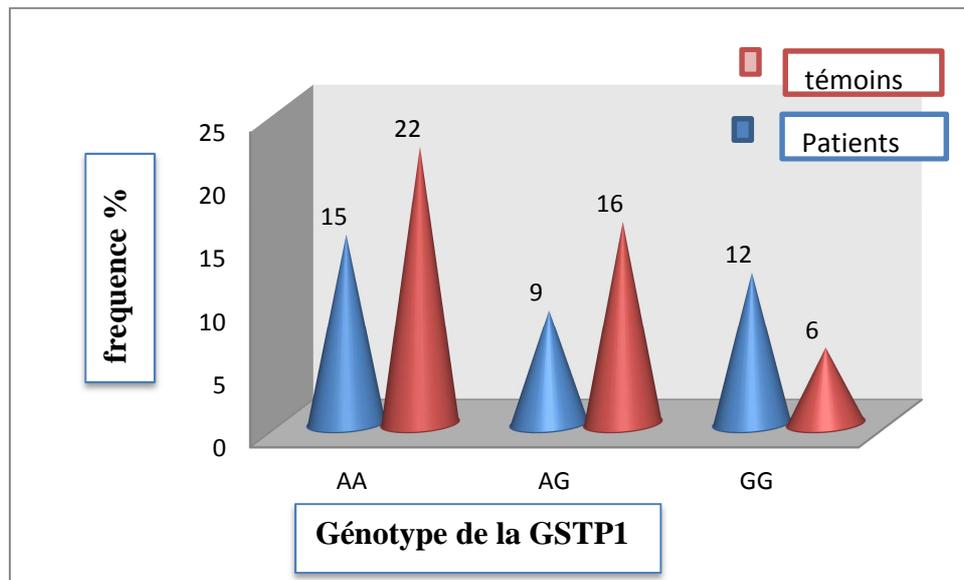
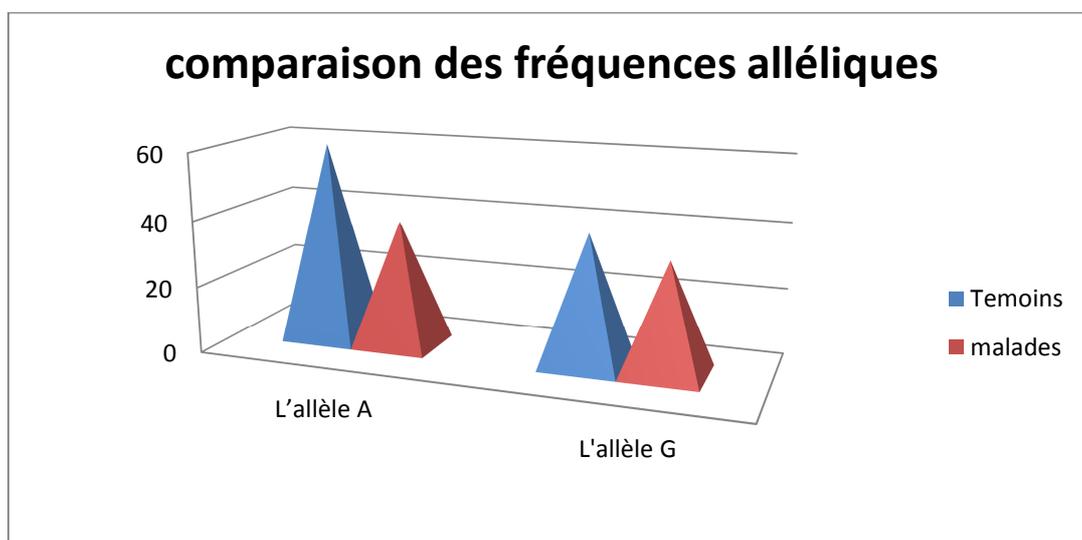


Figure 18 : fréquences génotypique et alléliques du polymorphisme A313G du gène GSTP1

La comparaison entre les fréquences génotypiques des deux groupes témoin et malade, montre qu'il y a une différence pour les hétérozygotes AG aussi bien pour les témoins 36,36% que pour les patients 25%. Certes, les fréquences génotypiques AA, GG se diffèrent entre les patients et les témoins et on remarque que le génotype GG est représenté avec un faible pourcentage 13,63% chez les témoins ce qui est pas le cas pour les patientes avec 33,33%.



De plus, nous n'avons observé que la fréquence de l'allèle A est toujours prédominante dans les deux populations avec un taux supérieurs de 60%,

Tableau 10: comparaison des fréquences génotypique et alléliques du polymorphisme A313G du gène GSTP1.

| Génotype | Patients | | Témoins | | OR | P value |
|----------|----------|-------|---------|-------|------|---------|
| | n | % | N | % | | |
| AA | 15 | 41,66 | 22 | 50 | - | - |
| AG | 9 | 25 | 16 | 36,36 | 1,33 | 0,65 |
| GG | 12 | 33,33 | 6 | 13,63 | 0,27 | 0,03 |
| TOTAL | 36 | 100 | 44 | 100 | - | - |
| Allèle A | 39 | 54,16 | 60 | 68,18 | - | - |
| Allèle G | 33 | 45,83 | 38 | 43,18 | 0,45 | 0,02 |

Après le calcul des Odds ratio et des P value la comparaison des génotypes AA et AG avec l'OR=1,33 ; P= 0,65 ; permet de conclure qu'il n'existe pas une association entre le génotype AG du polymorphisme A313G du gène de la GSTP1 et le risque de cancer du sein.

Par contre, les résultats observés lors de la comparaison du génotype AA avec le génotype GG montrent une relation significative avec un OR =0,27 et P= 0,03. On peut dire que le polymorphisme A313G est associé à la susceptibilité du cancer du sein.

Cela est confirmé par la comparaison de l'allèle sauvage A avec l'allèle muté G avec un OR= 0,45 ; P=0,02. Ce qui nous permet de conclure que l'allèle muté est lié à un risque de CS.

En prenant en considération le facteur {âge}, toutes les tranches d'âge étudiées sont touchées par le cancer du sein. Cependant la tranche d'âge la plus fréquente est observée chez la femme âgée entre [40.50 [avec un taux de 41.66%.

Dans plusieurs études la tranche d'âge la plus représentée est celle de [40.50 [comme dans l'étude Malienne de WELE (1998) (26,6%), l'étude Sénégalaise de N'DAW(1983) (27,6%) et l'étude Malienne de DIALLO(2007) avec 39,6% [Diallo et al, 2007].

Pour la même tranche d'âge notre résultat est bien partagé avec l'étude publiée entre les années 1990 et le début des années 2000 dans les pays arabes par El Saghir et al qui a également observé que la médian dans la majorité de ces pays était inférieur ou égale à 50 ans [El Saghir NS et al, 2007]

Ces données sont corrélées avec celles rapportées dans une autre revue publiée par NADJAR et Easson en 2010 à partir de 28 articles consacrés au CS dans le monde arabe : Arabie saoudite, Bahrain, Qatar, Koweït, Emirats, Iraq, Liban, Jordanie, Algérie, Tunisie, Maroc et Soudan. Dans cette revue, au moment du diagnostic, l'âge médian était de 45.4 ans et deux tiers (65.5%) des patients avaient moins de 50 ans [Najjar H, 2010]

Cependant, la deuxième tranche d'âge la plus fréquente est observée chez la femme âgée entre [50.60 [avec un taux de 27.77%.

En effet, la deuxième tranche d'âge la plus touchée retrouvée par plusieurs auteurs est celle des femmes âgées entre 50 et 59 ans. L'étude de WELE (1998) note 21,3% de cette tranche, celle de THIAM (2003) avec 20,9%, l'étude de N'DAW(1983) avec 26% et enfin l'étude de DIALLO(2007) note 26,4% de cas.

- **Etude de l'association entre le polymorphisme A313G et le survenu d'un cancer du sein**

Notre étude est effectuée sur une population de l'Est algérien, nous avons étudié le rôle potentiel du polymorphisme de la GSTP1 dans la susceptibilité au CS chez les patientes atteintes de cancer du sein.

L'identification du polymorphisme communs dans le gène GSTP1 et la démonstration que les génotypes variable de ce polymorphisme A313G sont corrélés avec l'activité GSTP1 a attiré l'intérêt de considérable chercheurs ces dernières années. Cependant, il y a eu peu d'études qui ont établie l'impact de polymorphisme A313G de la GSTP1 sur le risque de la survenue du cancer du sein.

La relation entre le cancer du sein et la GSTP1 peut être récemment identifiée: il s'agit d'une mutation ponctuelle A313G conduisant à une substitution Ile105val et à une diminution de l'activité de l'enzyme. Par conséquent, la détermination simultanée préalable de tous les génotypes de GST peut donner une interprétation fiable du rôle de la famille de GST dans le développement de cancer.

Les résultats de notre étude ont montré qu'il a y une association entre le polymorphisme A313G du gène de la GSTP1 et la survenu de cancer du sein ce qui nous a permis de déduire que le polymorphisme A313G du gène de la GSTP1 représente un facteur de risque dans la survenue du cancer du sein.

Chez la femme, la glutathion jouent un rôle central dans la défense cellulaire contre le stress oxydant et les xénobiotiques. Le maintien d'un taux de GSH normal pourrait donc être impliqué dans la résistance à la toxicité de divers oxydants, dont les effets peuvent entraîner une mortalité cellulaire rapide ou une modification des cascades de transduction du signal [Frova C, 2006].

Des résultats semblables ont été observés dans l'étude de Zusterzeel sur une population nipponne en 2000. Cette étude portant sur 170 cas atteints de CS et 109 témoin où 14% des cas étaient homozygotes GG 313 comparativement à 5% des témoins ($p = 0,02$). Il en concluait que les femmes homozygotes GG 313 présenteraient plus de susceptibilité à la survenu du CS et pour soutenir ses observations, il supposait que la perte d'activité catalytique de conjugaison de GSTP1 chez les porteurs d'un ou, pire encore, deux allèles G favorisait le développement du stress oxydatif [Zusterzeel PL et al 2000].

Plusieurs études épidémiologiques moléculaires ont examiné la relation entre le risque de CS et les génotypes d'un, deux, ou trois sous-types de GST [Dunning A et al, 1999]. De façon générale, aucun modèle clair n'a émergé. Les différentes études d'un ou deux GSTs ont observé les associations qui n'ont pas été confirmées par d'autres études [Zhao M et al,

2001]. L'analyse simultanée de trois GSTs n'a pas clarifié des associations de risque mais plutôt mené à des résultats plus contradictoires. Par exemple, risque sensiblement accru rapporté de Helzlsouer et autres pour des femmes avec GSTM1 -/- et GSTT1 -/- génotypes ainsi que le génotype GSTP1 (104Val/Val) [Selmin O et al, 1998], tandis que Mitrunen et autres n'a observé aucune association avec cette combinaison de génotype [Mitrunen K et al, 2001]. Millikan et autres a trouvé à faible risque pour femme simultanément portant GSTM1 - /, GSTT1 -/, et (104Val/Val ou Ile/Val) génotypes GSTP1 [Millikan R et al, 2000], tandis que Mitrunen et autres a noté un risque accru dans les femmes premenopausal manquant des gènes GSTM1 et GSTT1 et portant le génotype GSTP1 (104Ile/Ile) [Mitrunen K et al, 2001].

Au lieu de la protection, le GSTs collectivement peut exposer la cellule aux effets nuisibles tels que des dommages oxydants d'ADN et des lésions mutagéniques associées. Alternativement, GSTs peut convertir plusieurs classes des composés, par l'intermédiaire de la conjugaison avec GSH, en métabolites cytotoxiques, génotoxiques, ou mutagéniques [Monks K et al, 1990].

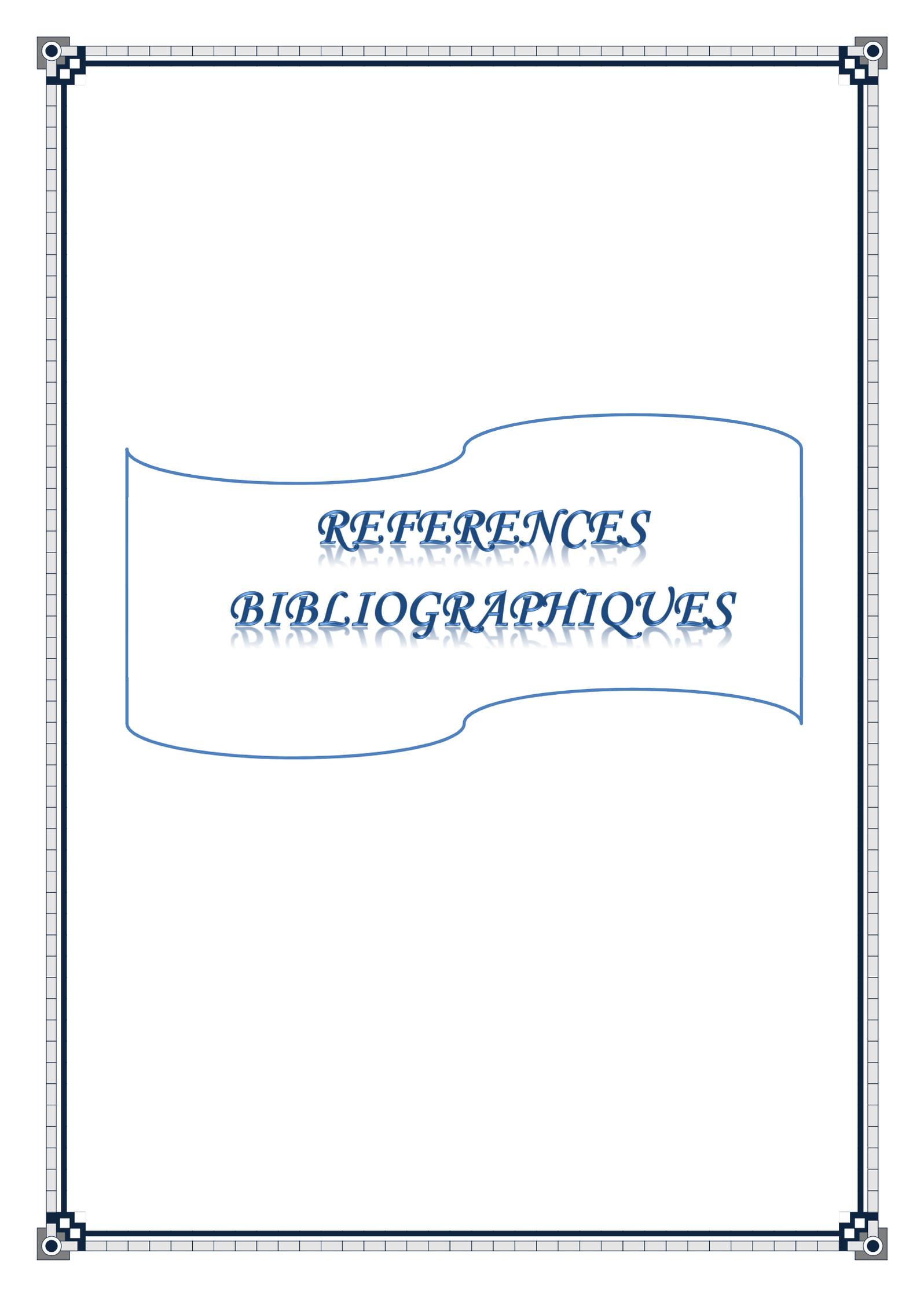
Notre étude a porté sur le potentiel effet du polymorphisme A313G sur le risque de cancer du sein qui a été le sujet d'intérêt de plusieurs recherches dans ces dernières années.

Parmi les polymorphismes affectant le gène GSTP1 codant pour la glutathion-S-transférase P1, la transition A–G en position 313 de l'exon 5 du gène GSTP1 qui remplace l'isoleucine en position 105 par une valine au niveau du site actif, affecte les activités enzymatiques de la GSTP1 ainsi que la spécificité vis-à-vis des substrats.

Les résultats de notre travail ont révélé une association significative entre l'allèle muté et la survenue du CS. Par ailleurs, le génotype hétérozygote ne montre aucun effet sur la susceptibilité de la maladie.

Les progrès exponentiels réalisés dans la compréhension des mécanismes qui président à l'apparition et à la progression des cancers, les avancées technologiques dans les méthodes d'analyse actuelle disponible ainsi que l'étude des altérations génomiques des cellules tumorales ont mis en évidence leur relation avec le pronostic et l'efficacité des traitements.

Dans un future proche la mise en évidence de nouveaux biomarqueurs du CS est fortement demander pour confirmer nos résultats. Ainsi la taille de notre échantillon n'était pas vraiment importante, une étude plus large est nécessaire.



REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Abalkail AA, The role of young population structure in determining age distribution of breast cancer in Jordan. *Journal of the Bahrain Medical Society*, (2003); 15:28–33.

Ali-Osman F, Akande O, Antoun G, Mao JX, Buolamwini J, Molecular cloning, characterization, and expression in *Escherichia coli* of full-length DNAs of three human glutathione S-transferase Pi gene variants, (1997); 272 (15): 10004-12.

Amat S, Penault-Llorca F, Cure H, Scarff-Bloom- Richardson (SBR) grading: A pleiotropic marker of chemosensitivity in invasive ductal breast carcinomas treated by neoadjuvant chemotherapy. *Int J Oncol* (2002); 20:791-796.

Ambrosone C, Freudenheim J L, Graham S, Marshall JR, Vena JE, Brasure JR, Cytochrome P4501A1 and glutathione S-transferase (M1) genetic polymorphisms and postmenopausal breast cancer risk, *Cancer Res*, (1995); 3483- 3485.

Aurélie J, Thomassin-Naggara I, Biopsie mammaire chez les patientes hypocoagulées, (2010); 20:135-137.

Berry NB, Fan M, Nephew KP, Estrogen receptor-alpha hinge-region lysines 302 and 303 regulate receptor degradation by the proteasome, *Molecular endocrinology* (2008); 22(7): 1535-1551.

Bloom HJ, Richardson WW, Histological grading and prognosis in breast cancer; a study of 1409 cases of which 359 have been followed for 15 years. *Br J Cancer* (1957); 11:359-377.

Board P, Coggan M, Johnston P, Suzuki T. Genetic heterogeneity of the human Glutathion S-Transferase: *Pharmacological Therapy* (1990); 48:357-369.

Board PG, Webb GC, Coggan M, Isolation of a cDNA clone and localization of the human glutathione S-transferase 3 genes to chromosome bands 11q13 and 12q13-14, *Ann. Hum. Genet.* 53 (1989) ; 205-213.

Boisserielocroix M, Boulton G, Lebie Michal N, écoulement mamelonnaires : diagnostic sénologique – Breast discharge , evaluation and diagnosis (2006).

Bououden R, Hamdi Z, laib A, cancer du sein, DES en biologie option genetique, université mentouri Constantine,Algérie (2011).

Bremont A, Maladies du sein, 1ère éd. Paris, Masson, (2004).

Brettes P, Bergerat P, diagnostiquer une tumeur de sein, cancérologie Clinique 75-oncohématologie, (2005) ; 23:238-243

Brown L.A, Glutathione protects signal transduction in type II cells under oxidant stress. Am. J. Physiol, (1994); 266,172-177.

Calaf G, Russo J, Transformation of human breast epithelial cells by chemical carcinogens. Carcinogenesis (1993); 14:483-492.

Camilo A, Thomas R, paris ; memopathologie(2010).

Cascorbi I, Brockmüller J, Roots I, C4887A polymorphism in exon 7 of human CYP1A1 : population frequency, mutation linkages, and impact on lung cancer susceptibility.(1996); 56

Choi J, Liu RM, Forman HJ, Adaptation to oxidative stress: quinonemediated protection of signaling in rat lung epithelial L2 cells. Biochem. Pharmacol, (1997); 53, 987-993.

Commandeur JM, Stjntjes GJ, Vermeulen NE, Enzymes and transport systems involved in the formation and disposition of glutathione conjugates. Pharmacol. Rev, (1995); 47, 271-330.

Couch FJ, Vogelstein B, kinzer KW, breast cancer, in the genetics Basis of Human cancer, USA: Mc Graw-Hill, (2002); 567.

Cowell IG, Dixon KH, Pemble SE, Ketter B, Taylor JB, la structure du gène pi glutathion S-transférase humaine 255 (1988) ; 79-83.

Dajani YF, Al-Jitawi SA, study of 405 breast tumors in Jordanians using the Revised WHO classification. Tropical and Geographical Medicine, (1987), 39:182–186.

Daly-schveitzer N, Cancérologie clinique (2008).

Daniel F, Roses B, breast cancer, 2nd ed, Elsevier inc Churchill livingstone Philadelphia, USA, ISBN(2005); 443-06634-5.

Diallo MS, Diallo TS, Diallo SB, et al Les tumeurs du sein: épidémiologie, clinique, anatomie pathologique et pronostic. Med Afr Noire (1996) ; 43(5):298–301

Dunning AM, Healey CS, Pharoah D, Teare D, Ponder BA, A systematic review of genetic polymorphisms and breast cancer risk, Cancer Epidemiol. Biomark. Prev. 8 (1999) 843-854.

Eisinger F, Jacquemier J, Charafe-Jauffret E, Rio MC, Birnbaum D, Sobol H. More about: Multifactorial analysis of differences between sporadic breast cancers and cancers involving brca1 and brca2 mutations. J Natl Cancer Inst (1999); 91:1421-1422.

Elexpuru-Camiruaga J, Buxton N, Kandula V, Dias PS, Campbell D, Susceptibility to astrocytoma and meningioma: influence of allelism at glutathione S-transferase (GSTT1 and GSTM1) and cytochrome P450. Cancer Res (1995), 55: 4237-4239.

Elias H, Pauly J, Burns E, histology and microanatomy, 4th, New York, (1978).

Esteller M, Corn PG, Urena JM, Gabrielson E, Baylin SB, Herman JG, Inactivation of glutathione S-transferase P1 gene by promoter hypermethylation in human neoplasia, Cancer Res. 58 (1998) 4515-4518.

Fattaneh A, Tavassoli MD, Tumors of the mammary gland. Armed forces institute of pathology (1992).

Fédérique Penault LC, Actualité des tests HER2 dans le cancer du sein Bull cancer, 91, (2004).

Ferlay J, Shin HR, Bray F, Estimates of worldwide burden of cancer. Int J cancer (2008) ; 127:2893-2917.

Fondrinier E, centre Paul Papin Angers Classification des cancers du sein examen Clinique(TNM) (2002).

Frova C, Glutathione transferases in the genomics era: new insights and perspectives. Biomolecular Engineering (2006); 23: 149-169

Futreal PA, Liu Q, Shattuck-Eidens D, Cochran C, Harshman K, Tavtigian S, BRCA1 mutations in primary breast and ovarian carcinomas, *Science*, (1994); 266:120-2.

Galgani JE, Uauy RD, Aguirre CA, Effect of the dietary fat quality on insulin sensitivity. *Br J Nutr* (1990) 100 (3) 471-479.

Hallier E, Langhof T, Dannappel D, Polymorphism of glutathione conjugation of methyl bromide, ethylene oxide and dichloromethane in human blood, influence of the induction of sister chromatid exchanges in lymphocytes. *Arch. Toxicol*, (1993); 67, 173-178.

Harries LW, Stubbins MJ, Forman D, Howard GW, Wolf CR, Identification of genetic polymorphisms at the glutathione S-transferase Pi locus and association with susceptibility to bladder, testicular and prostate cancer. *Carcinogenesis* (1997); 18: 641-644.

Harris MJ, Coggan M, Langton L, Wilson SR, Board PG, Polymorphism of the Pi class glutathione S-transferase in normal populations and cancer patients. *Pharmacogenetics* (1998);

Hayes JD, Mclellan LI, Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a coordinately regulated defence against oxidative stress. *Free Radic Res* (1999); 31: 273-300.

Hayes JD, Strange RC, Glutathione S-transferase polymorphisms and their biological consequences. *Pharmacology* (2000); 61: 154-66.

Helzlsouer JK, Selmin O, Huang H, Association between glutathione S-transferase M1, P1, and T1 genetic polymorphisms and development of breast cancer, *J. Natl. Cancer Inst.* 90, (1998) 512-518.

Holland A, ductal carcinoma in situ: A proposal for a new classification. *Semin Diagn Pathol*; (1994).11 :167-180.

Hu X, Xia H, Catalytic efficiencies of allelic variants of human glutathione S-transferase P1-1 toward carcinogenic anti-diol epoxides of benzo[c]phenanthrene and benzo[g]chrysene. *Cancer Res* (1998); 58 (23): 5340-3.

Jhaveri M, Morrow CS, Methylation-mediated regulation of the glutathione S-transferase P1 gene in human breast cancer cells, *Gene* 210 (1998); 1-7.

Kano T, Sakai M, Muramatsu M, Structure et expression d'une glutathion S-transférase pi ARN messenger humain de classe Cancer Res,47 (1987); 5626-5630.

Kelsey JL, Bernstein L, Epidemiology and prevention of breast cancer. *Annu Rev Public Health* (1996); 17:47-67.

Knudson AG, Two genetic hits (more or less) to cancer. *Nat Rev Cancer*, (2001); 1(2),157-62.

Longnecker MP, Tseng M, Alcohol, hormones, and postmenopausal women, *Alcohol Health Res World*. (1998); 22:185-9.

Mao GE, Morris G, Reuter VE, Lu QY, Cao W, Glutathione S-transferase P1 Ile105Val polymorphism, cigarette smoking and prostate cancer. *Cancer Detection and Prevention* (2004); 28 : 368-374.

Millikan R, Pittman G, Tse CK, Savitz D, Newman B, Bell D, Glutathione S-transferases M1, T1 and P1 and breast cancer, *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* 9 (2000); 567-573.

Mitrunen K, Jourenkova N, Kataja K, Eskelinen M, Kosma VM, Benhamou S, Glutathione S-transferase M1, M3, P1, and T1 genetic polymorphisms and susceptibility to breast cancer, *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* 10 (2001); 229-236.

Meiers I, Shanks JH, Bostwick DG, Glutathion-S-transférase pi (GSTP1) hyperméthylation dans le cancer de la prostate. *Pathology* (2007); 39 : 299 -304.

Molinie F, Incidence et facteurs pronostiques des cancers du sein découverts au cours et en dehors du programme de dépistage organisé en Loire-Atlantique (1991-2002) *Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique*, (2008) ; 56:41-49.

Monks T, Anders M, Dekant W, Glutathione conjugate mediated toxicities, *Toxicol. Applied Pharmacol.* (1990) ; 106 : 1-19.

Moscou JA, Townsend AJ, Goldsmith ME, Poisson R, isolement de la glutathione S-anionique humaine transférase ADNc et la relation de son expression génique au contenu des récepteurs d'oestrogènes dans le cancer du sein primaire. (1988) ; 85 : 6518-6522.

Mousseau M, Garnier C, Cancer du sein: épidémiologie, bilan d'extension, modalités thérapeutiques. Med. Nucl (2002); 26: 7- 21.

Narod SA, Modifiers of risk of hereditary breast and ovarian cancer, (2002); 2, 113-23.

Najjar H, Easson A, Age at diagnosis of breast cancer in arab nations. (2010).

Olsson H, Tumour biology of a breast cancer at least partly reflects the biology of the tissue/epithelial cell of origin at the time of initiation - a hypothesis. 2000 Nov 30; 74:345-50.

Pascal Staccini A, Tumeurs du sein, Faculté de Médecine de Nice 1 (2008).

Perry N, Breast cancer screening: the european, international journal of fertility and women's medicin, (2004), 49, 5, 45

Polyak K, on the birth of breast cancer, Biochimie Biophys Acta (2002); 1552(1): 1-13.

Prade L, Huber R, Bieseler B, Structures of herbicides in complex with their detoxifying enzyme glutathione Stransferase - explanations for the selectivity of the enzyme in plants. Structure 6, (1998), 1445-1452.

Ranchère-vince B, Fontanière M, Cytopathologie mammaire (1998).

Rudland PS, Fernig D, Smith J, Growth factors and their receptors in neoplastic mammary glands.' Biomed Pharmacother. (1995) ; 49(9): 389-99.

Saglier J, Pommeyrol A, Bouillet, Hennebicbicque AS, cancer du sein. Questions et réponses au quotidien. 2^oed. Paris: Masson: (2003) ; 173.

Schipper DL, Wagenmans MH, Wagener DT, Peters WM, Glutathione Transferases and cancer. Int. J. Oncol, (1997); 10:1261-1264.

Sheehan D, Meade G, Foley M, Dowd A, Structure, function and evolution of glutathione transferases (2001); 360:1-16.

Smith I, Procter M, Gelber RD, 2-year follow-up of trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer: a randomised controlled trial. *Lancet.* (2007); 369 9555: 29-36.

Tew KD, Glutathione-associated enzymes in anticancer drug resistance. *Cancer Res.* (1994).

Thomas C, Dalia M, estrogen receptor-negative breast carcinomas; a review of morphology and immunophenotypical analysis in modern pathology (2005); 18:26-25.

Tristant H, Benmussa M, Bokobsa JE, Ibaz P, diagnostic mammographique et échographique des opacités et des masses mammaires (1998).

Veronesi U, Viale G, Rotmensz N, Goldhirsch A, Rethinking TNM: breast cancer TNM classification for treatment decision-making and research. *Breast* (2006); 15(1):3-8.

Vorachek WR, Pearson WR, Rule GS, Cloning, expression, and characterization of a class-mu glutathione transferase from human muscle,. *Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 88 (1991); 4443-4447.

Wadelius M, Autrup JL, Stubbins MJ, Andersson SO, Johansson JE, Polymorphisms in NAT2, CYP2D6, CYP2C19 and GSTP1 and their association with prostate cancer. *Pharmacogenetics* (1999); 9: 333-340.

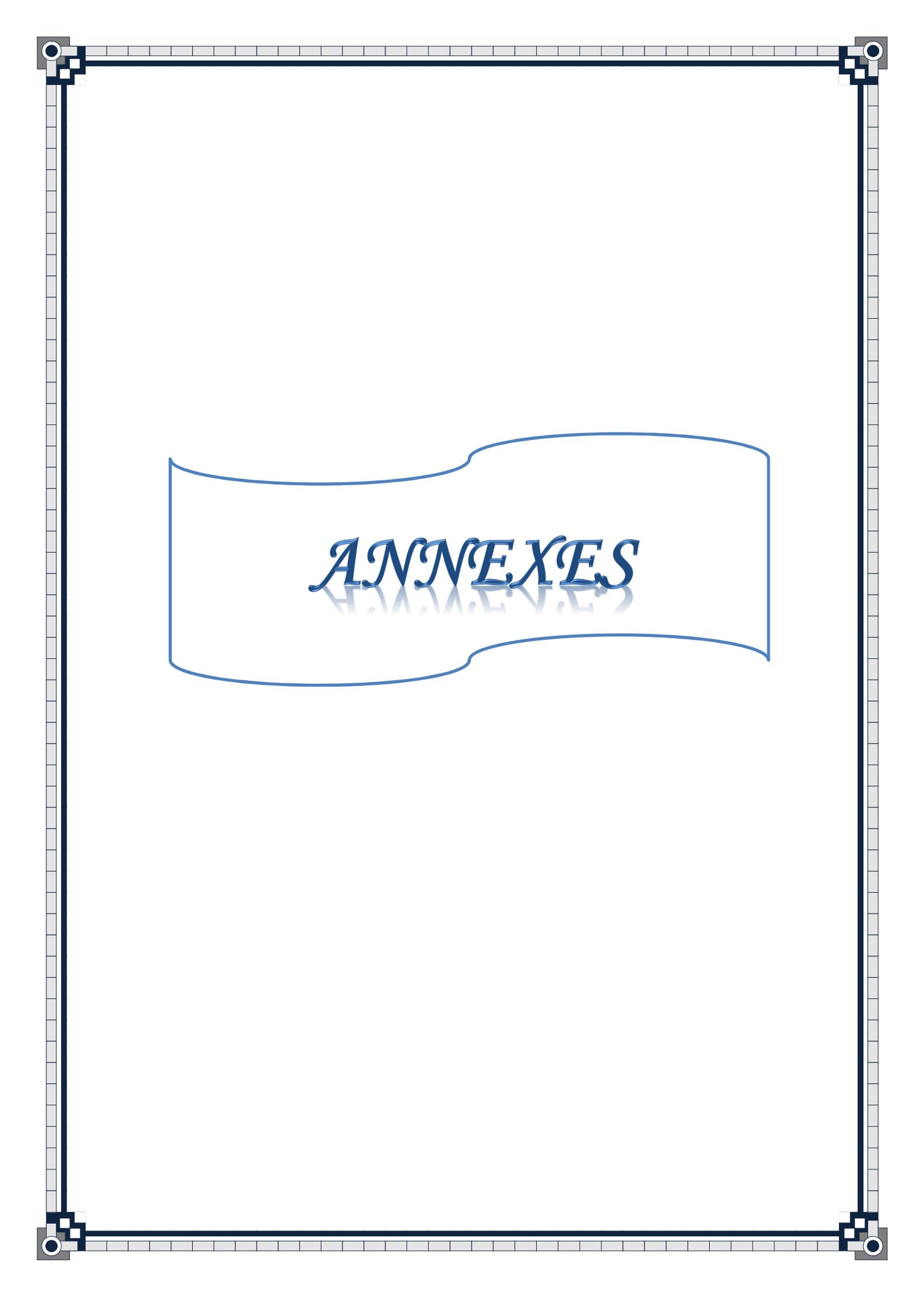
Wang YP, Roe B, Pearson WR, Characterization of the human class mu glutathione S-transferase gene cluster and the GSTM1 deletion, *J. Biol. Chem.* 273 (1998) 3517-3527.

Watson MA, Stewart RK, Human glutathione S-transferase P1 polymorphisms: relationship to lung tissue enzyme activity and population frequency distribution. *Carcinogenesis* (1998); 19 (2): 275-80.

Weinsten JP, le larousse Médical, 5eme edition, larousse, paris, pp.865-867, ISBN (2009)

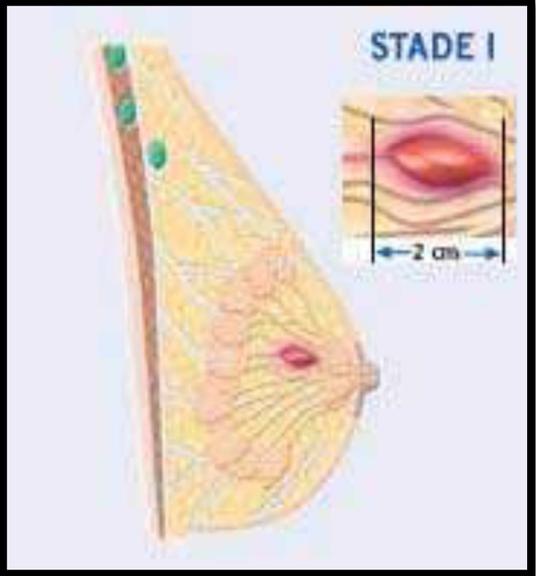
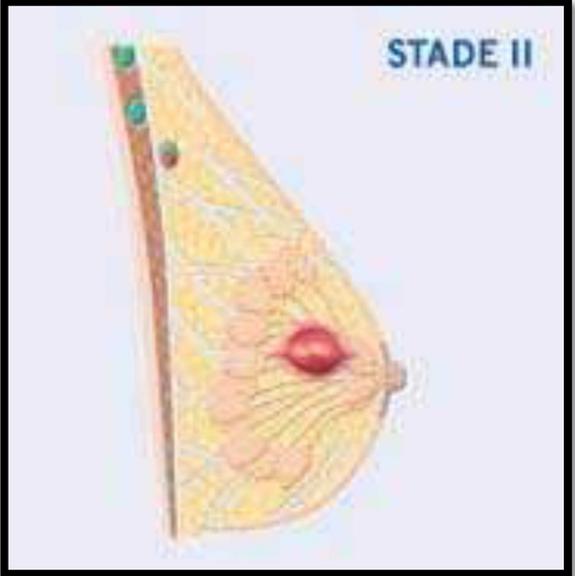
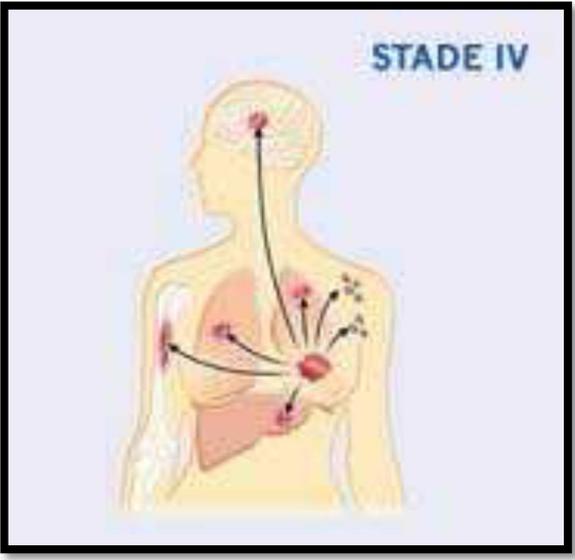
Zhao.M, Lewis.R, Gustafson.D.R, Wen WQ, Cerhan JR, Zheng W, No apparent association of GSTP1 A313 G polymorphism with breast cancer risk among postmenopausal Iowa women, *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* (2001); 10:13.

Zusterzeel PL, Visser W, et al. Polymorphism in the glutathione S-transferase P1 gene and risk for preeclampsia. *Obstet Gynecol* (2000); 96 (1): 50-4.



ANNEXES

Annexe (1): La classification du grade

| | |
|--|--|
|  <p>STADE I</p> |  <p>STADE II</p> |
| <p>Les tumeurs mesurent 2 cm ou moins Aucune atteinte des ganglions</p> | <p>Les tumeurs mesurent plus de 2 cm et 5 cm ou moins :</p> <ul style="list-style-type: none">• Les ganglions lymphatiques sont parfois touchés ;• Le cancer s'est propagé aux ganglions lymphatiques |
|  <p>STADE III</p> |  <p>STADE IV</p> |
| <p>Le cancer du sein de stade III est le point de départ du cancer du sein avancé.</p> | <p>Cancer avancé, dont les cellules se sont propagées vers d'autres régions de l'organisme, le plus souvent aux poumons, au cerveau, au foie.</p> |

Annexe (2)

Questionnaire

PATIENT N° :

Date d'entrée :

Nom :

prénom :

sexe :

Age :

Poids et taille :

Situation familiale :

Lieu de naissance :

Adresse :

Nombre d'enfants :

N° de téléphone :

Contraception orale :

Antécédent familiaux

Cancer du sein :

Autre cancer :

Examen des tumeurs :

Localisation :

Type histologique :

Annexe (3)

A .Préparation des leucocytes

- ✓ Dans un type Falcon de 50 ml ; mettre le sang total et compléter à 25 ml avec du (TE) Tris EDTA 20 :5.Laisser 10 min dans la glace.
- ✓ Centrifuger 10 min à 3900g (3800rpm).
- ✓ Aspirer le surnageant avec la trompe à vide.
- ✓ Ajouter quelques ml de TE 20 :5 au culot et le remettre en suspension avec une pipette stérile.
- ✓ Compléter à 25 ml avec du TE 20 :5 au culot et laisser 10 min dans la glace.
- ✓ Centrifuger dans les mêmes conditions précédentes.
- ✓ Aspirer le surnageant avec la trompe à vide : obtention du culot leucocytaire.

B. Extraction de l'ADN

- ✓ Transvaser le culot de leucocytes dans un tube Falcon de 15 ml.
- ✓ Ajouter 3 ml de tampon de lyse en dilacérant le culot avec passette stérile.
- ✓ Ajouter 200 µl de SDS à 10% (100g SDS+H₂O 1000ml).
- ✓ Ajouter 100µl de protéinase K à 10mg/ml.
- ✓ Agiter le tube sur une roue à 37°C pendant une nuit.
- ✓ Le lendemain ; refroidir dans la glace.
- ✓ Ajouter 1 ml de NaCl 4M ET agiter rigoureusement à la main.
- ✓ Remettre 3 mn dans la glace (précipitation des protéines).
- ✓ Centrifuger 15mn à 2500 rpm.
- ✓ Transverse le surnageant dans un tube Falcon de 50 ml ; ajouter 2 fois son volume d'éthanol absolu préalablement refroidi et agiter en tournant le tube plusieurs fois : la pelote d'ADN se forme.
- ✓ Laisser éventuellement 30 min à -20 °C si la pelote ne se forme pas.
- ✓ Récupérer la pelote d'ADN avec une pipette pasteur et rincer 2 fois dans l'éthanol à 70%.
- ✓ Mettre la pelote dans un tube nunc.

L'ADN génomique doit être manipulé en évitant toute action mécanique violente, il doit être suffisamment long pour être digéré.

C. Solubilisation

- ✓ Ajouter entre 300 et 1000 µl de TE 10:1, selon la grosseur de la pelote et la concentration souhaitée.
- ✓ Laisser une nuit sur un agitateur rotateur à 37 °C puis à température ambiante jusqu'à la dissolution complétée (1 à 2 jours).

Annexe(4)

Réactif :

-TE 20.5 :(tris 20mM, EDTA 5Mm, pH 7.5) auto clavé

Tris : 2.422g /l

EDTA : 1.86g/l

Ajuster le pH avec HCL 1N

-TE 10/1 :(tris 10mM, EDTA 1Mm, pH 7.4) auto clavé.

Tris : 0.606g

EDTA : 0.1869g pour 500ml.

Ajuster le pH avec de l' HCL 1N

-Tompon de lyse : NaCl 400Mm.

Tris : 10mM

EDTA : 2mM.

pH8.2

-SDS 10%

-Proteinase K: 10mg /ml H₂O.

-NaCl 4M

-Ethanol absolu

-Ethanol 70%

-Bleu de Bromophérol : (BBP):BBP20mg

Tris 0.5M: 2ml.

Glycerol: 5ml.

pH7.5

H₂O: 10ml

-TBE 10X: Tris 108g.

Acide borique 55g.

Ajuster le pH à 8.3 avec l'acide acétique glacial.

EDTA9.3g.

H₂O 1L.

Le cancer du sein est la première cause de mortalité de cancer chez les femmes, il représente donc un problème majeur de santé publique, Il constitue une pathologie hétérogène et multifactorielle.

Le polymorphisme A313G du gène GSTP1 peut être un facteur important dans la prédisposition au cancer du sein, Pour évaluer cette hypothèse nous avons étudié l'effet du polymorphisme A313G du gène GSTP1 sur la survenue du cancer du sein, ce polymorphisme a été mis en évidence par une PCR- RFLP.

En effet, la comparaison des fréquences génotypique entre les malades et les témoins de l'Est algériens, AA et AG avec l'OR=1.33, P=0.65, permet de conclure qu'il existe une association entre le génotype AG du polymorphisme A313G du gène de la GSTP1 et le risque de cancer du sein.

Les mêmes résultats sont observés lors de la comparaison du génotype AA avec le génotype GG. Ils montrent un OR=0.27 avec P=0.03. On peut dire que le polymorphisme A313G est associé à la susceptibilité du cancer du sein.

Cela est confirmé par la comparaison de l'allèle sauvage A avec l'allèle muté G avec un OR=0.45, P=0.02.

Enfin ces résultats ne peuvent être confirmative, une étude plus large est nécessaire pour vérifier nos résultats, on prend en considération d'autres paramètres plus sensibles.

Breast cancer is the leading cause of cancer death for women, so it is a major public health problem; it is a heterogeneous disease and multiple reasons.

A313G polymorphism of the gene GSTP1 can be a major factor in predisposition to breast cancer, to test this hypothesis we study the impact of polymorphism A313G of GSTP1 gene that leads to the occurrence of breast cancer, which was identified by PCR-RFLP technique.

In fact, the comparison between the frequency AA and AG, supports the conclusion that there is no correlation between genotype AG of A313G polymorphism of the gene GSTP1 and the risk of breast cancer OR = 1.33 and P = 0.65

Unlike these results observed in the comparison between the genetic genotype GG through OR = 0.27; P = 0.03. This allows us to say that the GG genotype associated with susceptibility to breast cancer.

On the other hand, the comparison between the A allele with the wild allele G mutation confirms the viability of breast cancer with (OR = 0.45,;P = 0.02).

Finally, these results can be uncertain, there is a need for a larger study to verify our results, taking into account other factors, the most sensitive.

سرطان الثدي هو السبب الرئيسي للوفاة بالسرطان بالنسبة للمرأة، لذلك هو مشكلة صحية عامة كبرى، بل هو مرض غير متجانس و متعدد الأسباب.

تعدد الأشكال A313G من الجين GSTP1 يمكن أن يكون عاملا رئيسيا في الاستعداد للإصابة بسرطان الثدي، لاختبار هذه الفرضية ندرس تأثير تعدد الأشكال A313G من الجين GSTP1 الذي يؤدي إلى وقوع سرطان الثدي الذي تم التعرف عليه من خلال تقنية PCR-RFLP.

والموقع أن المقارنة بين التردد AA وAG ، يدعم الاستنتاج أنه لا يوجد أي ارتباط بين النمط الجيني AG من تعدد الأشكال A313G من الجين GSTP1 و خطر سرطان الثدي $OR = 1.33$ و $P = 0.65$

عكس هذه النتائج التي لوحظت في المقارنة بين النمط الجيني الوراثي GG من خلال $OR = 0.27$ $P=0.03$. وهذا يسمح لنا أن نقول أن النمط الجيني GG يرتبط مع قابلية الإصابة بسرطان الثدي.

من ناحية أخرى، فإن المقارنة بين أليل البرية A مع أليل تحور G يؤكد قابلية الإصابة بسرطان الثدي مع $(P = 0.02, OR = 0.45)$.

وأخيرا، يمكن لهذه النتائج إن تكون غير مؤكدة، هناك حاجة إلى دراسة أكبر للتحقق من نتائجنا، مع الأخذ بعين الاعتبار العوامل الأخرى الأكثر حساسية.

Année Universitaire : 2014 /2015

Présenté par : Seraoui Rahma
Ghalloum Nihed

Date de soutenance :06/12/2015

**Etude de l'effet du polymorphisme A313G du gène GSTP1
sur la survenue du cancer du sein**

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Génétique Moléculaire.

Résumé

Le cancer du sein est la première cause de mortalité chez les femmes, il représente un problème majeur de santé publique et constitue une pathologie hétérogène et multifactorielle.

Le polymorphisme A313G du gène GSTP1 peut être un facteur important dans la prédisposition au cancer du sein, Pour évaluer cette hypothèse nous avons étudié l'effet du polymorphisme A313G du gène GSTP1 sur la survenue du cancer du sein, ce polymorphisme a été mis en évidence par une PCR- RFLP.

En effet, la comparaison entre les fréquences des génotypes AA et AG, permet de conclure qu'il n'existe pas une association entre le génotype AG du polymorphisme A313G du gène de la GSTP1 et le risque de cancer du sein avec l'OR=1.33 et P=0.65.

Par contre, les résultats observés lors de la comparaison du génotype GG avec le génotype sauvage montre un OR=0.27 avec P=0.03. Ce qui nous permet de dire que le génotype GG est associé à la susceptibilité du cancer du sein.

D'autre part, la comparaison de l'allèle sauvage A avec l'allèle muté G confirme une susceptibilité de survenue du cancer du sein avec l'allèle G (OR=0.45, P=0.02).

Enfin ces résultats ne peuvent pas être confirmatifs, une étude plus large est nécessaire pour vérifier nos résultats, en plus il sera utile de prendre en considération d'autres paramètres plus sensibles.

Mots clés : cancer du sein, gène GSTP1, La glutathion S-transférase, le gène GSTP1.

Structure de recherche :

laboratoire de biologie moléculaire et génétique (centre Hospitalier Universitaire Constantine).