



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Biologie Animale **قسم :** بيولوجيا الحيوان

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 :

**Le polymorphisme C677T de la méthylène tétrahydrofolate
réductase (MTHFR) chez des patients présentant un cancer du
poumon**

Présenté et soutenu par : *SERIKET ines*

Le : 16/06/2016

HENIA soumia

Jury d'évaluation :

Président du jury : *REZGOUNE-CHELLAT D*(MC, Université des Frères Mentouri Constantine)

Rapporteur : *SIFI Karima* (MCA, Faculté de médecine UC3)

Examineurs : *CHAOUIN* (MC, Université des Frères Mentouri Constantine)
HANNACHI S (MCA, Faculté de médecine UC3)

*Année universitaire
2015 - 2016*

Remerciements

Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer tous nos remerciements à **DIEU** le tout puissant, qui en son nom et avec sa protection, nous avons réussi à réaliser ce travail.

La première personne que nous tenons à remercier est notre encadreur le **Dr SIFI Karima** MCA à l'UC3 et cadre dans le laboratoire de recherche de biologie et de génétique moléculaire de la faculté de médecine UMC3 logé au CHU de Constantine, pour son orientation, sa confiance, sa patience, qui ont constituées un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port qui nous a dirigées dans l'élaboration de ce mémoire. Et **Dr Hannachi**.

Un merci bien particulier adressé également à Monsieur le professeur **ABADI N**, directeur du laboratoire de biologie et de génétique moléculaire et médecin chef du laboratoire de biochimie du CHUC pour nous avoir accueillies dans son laboratoire.

Un grand merci adressé à **Mme BOUDOKHANE Ibtissem** doctorante en génétique moléculaire pour ses conseils et pour son aide précieuse et pour sa gentillesse mais aussi à : Mme **MIMOUNI Asma** et **BEN DJAMAA Maya**.

Nous tenons à remercier spécialement **Mme SATTI Dalila** la mère de la génétique et **Dr REZGOUNE-CHALLAT D**, **Dr CHAOUI N** et tous nos enseignants qui ont veillé sans relâche pour nous transmettre le savoir durant toutes ces 5 années dans un cadre de respect mutuel.

A tout le personnel du service d'onco-radiothérapie et de pneumologie CHUC.

A toutes les personnes qui ont participés de près ou de loin à l'élaboration de ce travail, et à tous les patients cancéreux du CHUC : qu'**Allah** vous guérisse.

Merci 

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail qui n'aurait pu voir le jour sans leurs soutiens : A Mes parents

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

Mon père SABTI pour sa patience, sa confiance et son respect de mes choix, rien au monde ne vont les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

Mes très chères sœurs et frère : SOUFIA, WAFA, SABER, YASSER et AYMEN. En témoignage, De l'attachement de l'amour et de l'affection que je porte pour vous.

Toute ma famille et à tous mes amies : KARIMA, AWATIF, NADIA, HASSINA, KHADIDJA. Et tous ceux qui m'aiment et tous ceux que j'aime

Mon amie et binôme INES pour son esprit d'équipe et à sa famille.

A toute la promotion 2016 de génétique moléculaire, et spécialement option 1 Génétique du cancer.

SOUFIA

Dédicaces

« Je dédie ce travail à Dieu le tout puissant, le très Miséricordieux.

Que toute la gloire revienne à Allah qui par sa puissance et sa Majesté, ma soutenu durant tout mon cycle et m'a donné le courage, la force et santé nécessaires pour la réalisation de ce travail ».

A mon Père : ABDELLAH

A ma mère : FAHIMA TANDJI

À mes sœurs : CHAHRAZED, MONIRA

A mes frères : HOCINE, BADIS et le petit YESSAR.

*A mes neveux : NOUR ALYAKINE, CHAMSE ADINE, NOUR
ALHOUDA*

A tout ma famille et toutes les personnes que je connais

INES

Table des matières

Introduction	1
Partie bibliographique	
Chapitre I : Les poumons	
I -1- L'appareil respiratoire.....	3
I-1-1- Voies aériennes supérieures	3
I-1-2- Voies aériennes inférieures.....	4
I -2- Anatomie des poumons	5
I -3- Physiologie des poumons	8
I -4- Histologie des poumons	8
I -5- Fonction des poumons.....	12
I -5-1- Les phénomènes mécaniques de la respiration	12
I -5-2- Les phénomènes chimiques de la respiration	12
I-5-2-1- Les échanges gazeux.....	12
I-5-2-2- Le transport d'oxygène dans le sang	13
I-5-2-3- Le transport de dioxyde de carbone dans le sang	13
Chapitre II : Cancer du poumon	
II -1- Définition du cancer du poumon	14
II -2- Classification histologique.....	14
II -2-1- Cancer du poumon non à petites cellule.....	14
II -2-2- Cancer du poumon à petites cellule.....	15
II -3- Epidémiologie.....	17
II -3-1- Epidémiologie Descriptive.....	17
II -3-2- Epidémiologie Analytique.....	19
II -3-2-1- Les facteurs du risque	19
II -3-2-1-1- Les tabagismes.....	19
II -3-2-1-2- Les expositions professionnelles.....	19
II -3-2-1-3- Les pollutions atmosphériques.....	20
II -3-2-1-4- Les facteurs génétiques	20
II -4- Les signes cliniques (les symptômes)	20
II -4-1- Les symptômes respiratoires.....	20
II -4-2- Les signes généraux.....	21

II -4-3- Les signes indirects.....	21
II -4-4- Les autres symptômes.....	21
II -5- Diagnostic.....	22
II -5-1- Techniques d'imagerie.....	22
II -5-2- Cytologie des expectorations.....	22
II -5-3- Biopsie.....	22
II -5-4- Analyses sanguines.....	22
II -6- Traitement pour le cancer du poumon.....	22

Chapitre III : La génétique des cancers du poumon

III -1- Les altérations géniques	23
III -1-1- Les proto- oncogènes et oncogènes.....	23
III -1-2- Les gènes suppresseurs de tumeurs.....	27
III -1-3- L'instabilité génétique.....	30
III -1-4- Activation de la télomérase	31
III -2- Les autres facteurs génétiques de susceptibilité au cancer Du poumon	
L'exemple du polymorphisme C677T du gène du méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR).....	31
III -2-1- Le gène MTHFR	32
III -2-1-1- Structure du gène MTHFR.....	32
III -2-1-2- Localisation du gène MTHFR.....	33
III -2-2- La protéine MTHFR	33
III -2-2-1- Structure de la protéine MTHFR.....	34
III -2-2-2- Fonction de la protéine MTHFR.....	34
III -2-3- Les polymorphismes du gène MTHFR.....	35
III -2-3-1- Le polymorphisme C677T	35
III -2-3-2- Le polymorphisme A1298C	36
III -2-3-3- Les autres polymorphismes.....	36
III -3- La MTHFR et le cancer du poumon.....	37
III -3-1- Le polymorphisme C677T de la MTHFR et l'hyperhomocystéinémie (Hcy)	37
III-3-2- Le polymorphisme C677T de la MTHFR, méthylation et synthèse de l'ADN.....	37

Partie pratique

IV- Patients et méthodes

IV-1- Patients.....	39
IV-1-1- Recrutement de la population d'étude	39
IV-1-1-1- Recrutement des patients.....	39
IV-1-1-1-1- Critères d'inclusions.....	39
IV-1-1-1-2- Critères d'exclusions.....	39
IV-1-1-2- Recrutement des témoins.....	39
IV-1-2- Questionnaire et enregistrement des patients.....	39
IV-1-3- Prélèvements sanguins.....	40
IV-2- Méthodes.....	40
IV-2-1- Extraction de l'ADN à partir du sang total	40
IV-2-1-1- Principe	40
IV-2-2- La détermination de la pureté de l'ADN	42
IV-2-3- La détermination de la concentration de l'ADN.....	42
IV-2-4- Génotypage de la MTHFR	43
IV-2-5- PCR ou amplification de l'exon 4 du gène de la MTHFR.....	43
IV-2-6- Contrôle des produits du PCR	44
IV-2-7- Digestion par l'enzyme de restriction Hinf I du fragment amplifié...45	
IV-2-8- Révélation du profil électrophorétique	46
IV-3- L'Etude statistique.....	47
IV-3-1- Calcul des moyennes.....	47
IV-3-2- Calcul des écarts types.....	47
IV-3-3- Calcul des odds ratios	47
IV-3-4- Les intervalles de confiance.....	48
IV-3-5- Choix de la P-value.....	48

V-Résultats

V-1- Répartition des témoins	49
V-1-1- Selon le sexe	49
V-1-2- Selon l'âge	49
V-1-3- Répartition des fréquences génotypiques et alléliques de la MTHFR chez les témoins	50
V-1-3-1- Fréquence génotypique du polymorphisme C677T de la MTHFR.....	50
V-1-3-1- Fréquences alléliques du polymorphisme C677T de la MTHFR...51	

V-2- Répartition des patients.....	52
V-2-1- Selon le sexe	52
V-2-2- Selon l'âge	52
V-2-3- Selon l'âge et le sexe	53
V-2-4- Selon la localisation du cancer pulmonaire.....	54
V-2-5- Selon le type histologique du cancer du poumon.....	54
V-2-6- Selon les facteurs de risque	55
V-2-7- Fréquence génotypique et allélique de la MTHFR chez les patients.....	56
V-2-7-1- Fréquences génotypiques de la mutation C677T de la MTHFR des patients.....	56
V-2-7-2- Fréquences alléliques de la C677T de la MTHFR des patients.....	56
V.3. Fréquences génotypiques des patients et des témoins	57
V.4. Fréquences alléliques de la MTHFR des patients et des témoins	58
VI-Discussion.....	60
VII-Conclusion	66
Références	
Annexes	
Résumé	

Liste des tableaux

Tableau 01 : Classification du VALCSG ; cancer du poumon à petite cellules.....	16
Tableau 02 : Incidence et mortalité 2015 du cancer du poumon.....	17
Tableau 03 : Incidence et mortalité selon l'âge.....	17
Tableau 04 : Cancer du poumon dans le monde.....	18
Tableau 05 : Les altérations cytogénétiques fréquentes dans les cancers.....	31
Tableau 06 : Amorces utilisées pour l'amplification de l'exon 4 de la MTHFR.....	44
Tableau 07 : Programme du Thermocycleur utilisé pour l'amplification de l'amplification.....	44
Tableau 08 : Tableau de contingence.....	47
Tableau 09 : Répartition des témoins selon le sexe.....	49
Tableau 10 : Répartition des témoins selon l'âge.....	49
Tableau 11 : Répartition des témoins selon le génotype.....	50
Tableau 12 : Répartition de la population selon la fréquence allélique C ou T.....	51
Tableau 13 : Répartition des patients selon le sexe.....	52
Tableau 14 : Répartition des patients selon l'âge.....	52
Tableau 15 : Répartition des patients selon le sexe et l'âge.....	53
Tableau 16 : Répartition des patients selon la localisation du cancer du poumon.....	54
Tableau 17 : Répartition selon le type histologique.....	54
Tableau 18 : Répartition des patients selon les facteurs de risques.....	55
Tableau 19 : Fréquences génotypiques de la mutation C677T de la MTHFR chez les patients.....	56
Tableau 20 : Fréquences alléliques de la C677T de la MTHFR des patients.....	56
Tableau 21 : Répartition des génotypes de la MTHFR des témoins et des patients.....	57
Tableau 22 : Répartition des fréquences alléliques de la MTHFR dans la population témoins et patients.....	58
Tableau 23 : Les fréquences génotypiques et alléliques dans différents pays et groupes ethniques.....	61

Liste des figures

Figure 01 : Anatomie d'appareille respiratoire.....	4
Figure 02 : Anatomie du poumon (A) : schéma générale du poumon humain (B) : poumons humains, trachée, bronches.....	6
Figure 03 : Schéma générale du système respiratoire.....	6
Figure 04 : La structure des bronches.....	7
Figure 05 : Coupe transversale de la bronche et la bronchiole.....	9
Figure 06 : Histologie de la barrière alvéolo-capillaire.....	9
Figure 07 : Histologie de tissu conjonctif alvéolaire.....	10
Figure 08 : Histologie d'une cloison alvéolaire.....	11
Figure 09 : Les cellules de l'alvéole pulmonaire. C: capillaire alvéolaire, A: alvéole.....	11
Figure 10 : Phénomènes des respirations.....	12
Figure 11 : Le transporte d'oxygène.....	13
Figure 12 : Le transporte de dioxyde de carbone.	13
Figure 13 : Carcinome épidermoïde bien différencié ; Tumeurs du poumon, primitives et secondaires.....	15
Figure 14 : Adénocarcinome bien différencié.....	15
Figure 15 : Carcinome à petites cellules.....	16
Figure 16 : Cancer du poumon dans les différents pays.....	18
Figure 17 : Les diffèrent oncogènes est suppresseur de tumeur implique dans le cancer du poumon.....	23
Figure 18 : Mutations d'EGFR.....	24
Figure 19 : Les différents transcrits du gène MTHFR.	33
Figure 20 : Localisation du gène MTHFR sur le chromosome 1.....	33
Figure 21 : Fonction de la protéine MTHFR.....	34
Figure 22 : Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose 1,5 % des fragments amplifiés (198 Pb) par PCR du gène MTHFR.....	45
Figure 23 : Site de restriction par l'enzyme Hinf I.....	45
Figure 24 : Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose des fragments issus par clivage de HinfI présentant différents génotypes d'MTHFR.....	46
Figure 25 : Répartition des témoins selon le sexe.....	49
Figure 26 : Répartition des témoins selon l'âge.....	50
Figure 27 : Répartition des fréquences génotypiques chez les témoins.....	51
Figure 28 : Répartition de la population selon la fréquence allélique C ou T.....	51
Figure 29 : Répartition des patients selon le sexe.....	52
Figure 30 : Répartition des patients selon l'âge.....	53
Figure 31 : Répartition des patients selon le sexe et l'âge.....	53
Figure 32 : Répartition des patients selon la localisation du cancer du poumon.....	54
Figure 33 : Répartition selon le type histologique.....	55
Figure 34 : Répartition des patients selon les facteurs de risques.....	55
Figure 35 : Fréquences génotypiques de la mutation C677Tde la MTHFR des patients.....	56
Figure 36 : Fréquences alléliques de la C677T de la MTHFR des patients.....	57
Figure 37 : Répartition des génotypes de la MTHFR des témoins et des patients.....	58
Figure 38 : Répartition des fréquences alléliques de la MTHFR dans la population témoins et patients.....	58

Liste des abréviations

ADC : ADéno Carcinome
ADN : Acide désoxyribonucléique
ADNc : Acide Désoxyribonucléique complémentaire.
ADP : Adénosine Di Phosphate
AKT : AK Thymome or PKB (Protein kinase B)
ALK : Anaplastic Lymphoma Kinase
AP1et 2 : Activator Protein 1ou 2, transcription factor
APC : Adenomatous Polyposis Coli
APS : Agence de Presse Algérienne
ARN : Acide Ribonucléique
ARNm: Acide Ribonucléique messenger
BBP : Bleu de Bromophénol
BCL2 : B-Cell Lymphoma 2
BET : Bromure d'éthidium
BRAF : B-Raf proto-oncogene, serine/thréonine kinase
BRCA1 : Breast Cancer 1
BRCA2 : Breast Cancer 2
CCND1 : Cyclin D 1
CDKN2a : Cyclin-Dependent Kinase inhibitor 2a
CHUC : Centre Hospitalier Universitaire de Constantine
CO₂ : dioxyde de carbone
CpG : oligodeoxynucleotides
CPNPC : Cancer du Poumon Non à Petites Cellules
CPPC : Cancer du poumon à Petites cellules
DDR2 : Discoidin Domain-containing Receptor 2
dNTP : désoxyribo Nucléotides Tri Phosphates
DO : Densité Optique
dTMP : désoxy Thymidine Mono-Phosphate
ECG : ElectrocardioGramme
EDTA : Ethylene Diamino Tetra-acetic Acid
EGF : Epidermal Growth Factor
EGFR : Epidermal Growth Factor Receptor
EML4 : Echinoderm Microtubule associated protein Like 4
EU : European union
F : Forward
FAD : Flavine Adénine Dinucléotide
FGFR1 : Fibroblast Growth Factor Receptor 1
FHIT : Fragile Histidine Triad
GDP : Guanosine Di Phosphate
GTP : Guanosine Tri Phosphate
HCO₃ : Bicarbonate

Hey : hyperhomocystéinémie
HER (erbB2) : Human Epidermal Growth Factor Receptor 2
Hinfl : Haemophilus Influenzae I
ICR : Institut of Cancer Research
INK4 : cyclin-dependent Kinase 4 Inhibitor
IRM : Imagerie par Résonance Magnétique
JunD : Jun family (D), proto oncogène
KDa : Kilo Dalton
KIF5B : Kinesin Family membre 5B
MAPK : Mitogen-Activated Protein Kinase
Mdm2 : Mouse double minute 2 homolog
MEN1 : Multiple Endocrine Neoplasia 1
MET or HGFR : Hepatocyte Growth Factor Receptor
MTHFR : méthylène tetrahydrofolate réductase
mTOR : mechanistic Target Of Rapamycin
MYC : V-myc avian myelocytomatosis viral oncogene homolog
NADPH : Nicotinamide Adénine Di nucléotide Phosphate H
NO2 : dioxyde d'azote
NSCLC : Non-Small-Cell lung carcinoma
O₂ : dioxygène
O₃ : azote
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
OR : Odds ratio
PI3K : Phospho-Inositide-3 Kinase
P14ARF : Protein 14 Alternative Reading Frame
P16 : Protein 16
P53 : Protein 53
PCR : Polymérase Chaîne Réaction
PH : Potentiel Hydrogène
PK : protéinase K
PTEN : Phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome TEN
R : Reverse
RAS : Rat Sarcoma (proto-oncogène)
RASSF1 : Ras-association domain family 1
RASSF1A : Ras-association domain family 1, isoform A
Rb : Retinoblastoma protein
RET : proto oncogene. Receptor tyrosine kinase
RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism
S6K : Protein S6 Kinase
SAM : S-adénosyl méthionine
SDS : Sodium Dodécyl Sulfate
SEMA3B : Sémaphorine 3B
SP1 : Specificity Protein 1, transcription factor
TBE : Tris Borate EDTA

TDM : TomoDensitoMétrie
TE : Tris EDTA
TEP : Tomographie par Emission de Positrons
THC : Tetra Hydro Cannabinol
THF : TetraHydroFuran
TKI : Tyrosine Kinase Inhibitor
TNM : Tumeur adéNopathies régionales (Node) Métastases à distance
TP63 : Tumor Protein 63
TP73 : Tumor Protein 73
TSM : Taux Standardisés Monde
UICC : Union for International Cancer Control
UTR : UnTranslated Region
UV : UltraViolet
4E-BP1: Eukaryotic Translation Initiation Factor 4^E Binding Protein

Introduction

Introduction

Le cancer du poumon est l'une des formes les plus fréquentes de cancer. Il demeure le cancer le plus fréquemment diagnostiqué chez les hommes Algériens. Il se situe au premier rang selon les données du registre du cancer de Sétif [1].

A l'échelle mondiale, le cancer du poumon reste la maladie cancéreuse la plus mortelle. Le tabagisme est de loin le principal facteur de risque, responsable d'environ 85% de tous les cas [2].

Si la fumée de cigarette est toujours considérée comme le principal facteur favorisant la survenue du cancer du poumon, durant ces dernières années, des interactions entre plusieurs facteurs de susceptibilités génétiques et environnementaux ont été utilisés dans l'évaluation du risque de cancer du poumon et les premiers gènes candidats dans ces études d'interaction gène-environnement sont ceux codants pour le métabolisme de carcinogènes et les gènes dont les enzymes sont impliqués dans le métabolisme des folates [3,4]. Nous citons la MTHFR.

La méthylènetétrahydrofolate réductase (MTHFR) est une enzyme clé dans le métabolisme des folates, dont le rôle dans la carcinogenèse pulmonaire est controversé [5,6].

Depuis sa caractérisation biochimique en 1991 [7], et son identification génétique en 1995 [8], l'allèle 677T du gène MTHFR a suscité un intérêt tout particulier en recherche clinique. C'est ainsi qu'il s'est avéré être un facteur de risque associé à des pathologies diverses [9].

Le polymorphisme C677T identifié sur le gène de la MTHFR est une substitution d'une cytosine par une thymine en position 677 dans la séquence nucléotidique. Elle se traduit dans la séquence protéique par la substitution d'une alanine par une valine sur le codon 222. L'activité de cette enzyme varie selon les polymorphismes du gène de l'enzyme et de l'apport alimentaire en folates [10].

Ce polymorphisme conduit à la formation d'un variant enzymatique thermolabile à activité réduite entraînant de ce fait, à la fois, un ralentissement de l'activité du cycle de l'acide folique et une diminution du potentiel de l'organisme à transformer l'homocystéine en méthionine [11].

Ce variant C677T de la MTHFR, semble interférer avec les phénomènes de la carcinogenèse en modulant la méthylation de l'ADN et en contrôlant la synthèse de ce dernier [12]. Ce polymorphisme est fréquent dans la population générale de différentes régions du monde [13,14], et a fait l'objet de nombreuses études dans le cadre du cancer pulmonaire [15].

Les objectifs de notre travail étaient :

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

Partie

bibliographique

I-1- L 'appareil respiratoire

Le système respiratoire est constitué de l'ensemble des organes qui assurent l'apport d'O₂ et l'élimination du gaz carbonique. Grâce au système respiratoire, l'organisme est en capacité de respirer et d'effectuer des échanges gazeux avec l'environnement. Cet échange gazeux entre le sang et l'environnement est appelé également la respiration externe [16].

Les poumons, organes principaux de la respiration externe, ont donc la fonction de fournir l'oxygène nécessaire pour l'ensemble des processus vitaux et d'éliminer le produit de dégradation du métabolisme, le dioxyde de carbone [16].

On désigne par contre sous le terme de respiration interne, la combustion dans la cellule des nutriments permettant de produire l'énergie qui se déroule en utilisant de l'oxygène. La respiration externe est donc une condition nécessaire à la respiration interne.

Les voies respiratoires sont séparées en :

- Voies aériennes supérieures : Nez, sinus et pharynx.
- Voies aériennes inférieures : Larynx, trachée, bronches et poumon [17].

I-1-1- Voies aériennes supérieures

- Le nez : Les fonctions du nez sont le réchauffement, l'humidification et l'épuration de l'aire respirée par ailleurs, il sert d'organe à l'olfaction et de caisse de résonance.

- Les sinus : Sont des cavités osseuses qui s'ouvrent par des petits canaux dans le nez.

Les infections de la cavité nasale sont fréquemment transmises aux sinus où il se développe alors un œdème de la muqueuse et une production de sécrétions.

- Le canal lacrymo-nasal : Au niveau du méat inférieur s'ouvre le canal lacrymo-nasal grâce auquel les larmes s'écoulent de l'angle interne de l'œil vers la cavité nasale. C'est ainsi que l'on doit se moucher lorsque l'on pleure, c'est-à-dire en cas d'augmentation de la sécrétion des larmes.

- Le pharynx : Va de la partie postérieure des cavités nasales jusqu'au larynx. Il est divisé en naso-, oro- et laryngopharynx. De nombreux tissus lymphatiques servant à la défense contre les infections qui se trouvent dans le pharynx [17].

I-1-2- Voies aériennes inférieures

- Le larynx : Est composé de plusieurs éléments cartilagineux .Il se connecte directement à la trachée. L'épiglotte peut fermer la trachée lors de la déglutition. Le larynx sert principalement à la phonation grâce aux cordes vocales. Le flux d'air les fait vibrer pour former les sons. Le larynx a deux fonctions : d'une part, il ferme les voies aériennes inférieures et régule leur ventilation, d'autre part il est l'organe principal de la formation de la parole [17].

- La trachée : Continue directement le larynx, il s'agit d'un long tube recouvert d'une muqueuse qui est maintenue par des anneaux cartilagineux [18].

- Les bronches : Sont les divisions qui poursuivent la trachée vers le bas en direction des poumons. Leur calibre devient de plus en plus petit au fur à mesure des divisions, les plus petites bronches se terminent dans les alvéoles pulmonaires au niveau desquelles s'effectuent les échanges gazeux [18].

Les bronches sont souvent le siège de maladies (bronchite, carcinome bronchique).

- Les poumons : Sont au nombre deux, l'un droit et l'autre à gauche. Le poumon gauche est constitué de deux lobes par contre celui de droite comporte trois lobes qui seront eux-mêmes divisés en segments [19].

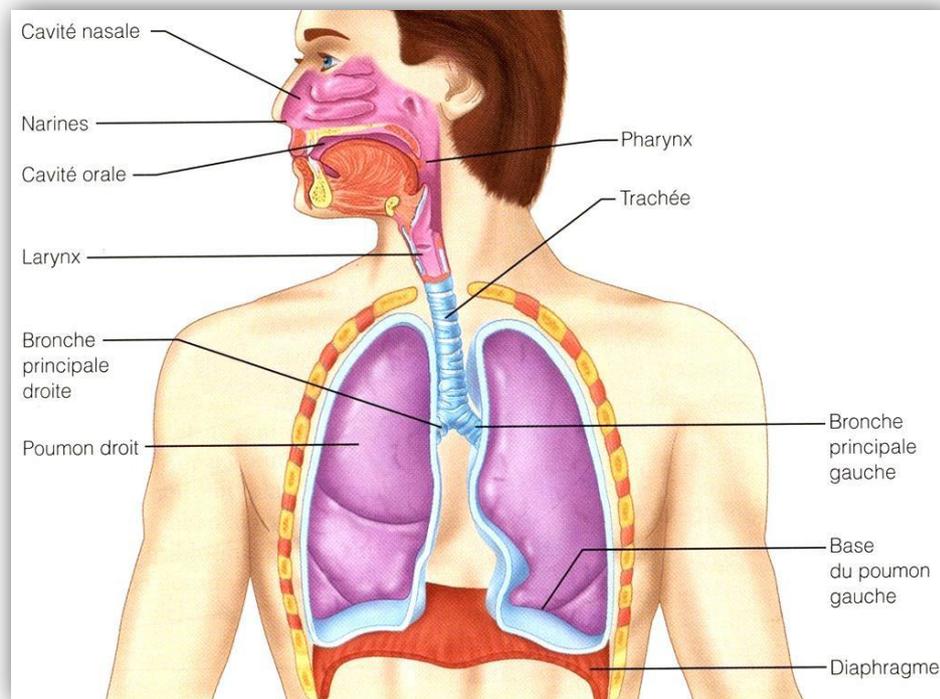


Figure 01 : Anatomie de l'appareil respiratoire [20].

I-2- Anatomie des poumons

Les poumons sont des organes pairs et asymétriques. Contenus chacun dans une cavité pleurale. Ils occupent latéralement la cage thoracique.

Les deux poumons sont situés dans la cage thoracique de part et d'autre du médiastin. Ils sont limités à l'extérieur par les côtes, en bas par le diaphragme, en haut, leurs sommets dépassent de peu la clavicule, entre le poumon droit et le poumon gauche se trouve le cœur [19].

La partie du poumon qui repose sur le diaphragme est désignée sous le terme de base pulmonaire et la partie supérieure sous le terme de sommet pulmonaire. Les bronches souches et les vaisseaux pulmonaires pénètrent dans les poumons au niveau du hile pulmonaire situé sur la face interne [21].

En raison de la position gauche du cœur, le poumon gauche est plus petit que le droit. Le poumon gauche est séparé par une scissure facilement reconnaissable en lobe pulmonaire supérieur et lobe inférieur, alors que le poumon droit est divisé en trois lobes par deux scissures, le lobe supérieur, le lobe moyen et le lobe inférieur.

Les lobes pulmonaires sont de nouveau divisés en segments pulmonaires de plus petite taille. Les poumons sont traversés par des vaisseaux de la circulation pulmonaire qui servent aux échanges gazeux. L'alimentation propre des poumons est assurée par contre par les artères bronchiques provenant de l'aorte [22].

Le hile pulmonaire, les poumons, comme tous les organes, sont traversés par des vaisseaux lymphatiques qui y pénètrent au niveau du hile pulmonaire avec les bronches souches et les vaisseaux sanguins [22].

Les deux poumons sont entourés d'une enveloppe très fine irriguée par des vaisseaux, la plèvre viscérale séparée uniquement par une mince couche de liquide, à la plèvre pariétale qui est en contact avec la paroi thoracique, le diaphragme et le médiastin et qui contient des nerfs sensitifs, transmettant des stimuli douloureux [17].

Les poumons sont divisés en lobes 3 à droite et 2 à gauche, séparés par deux sillons « scissures », chaque lobe est divisé en 3 ou 4 segments. Chaque segment se subdivise en unité fonctionnelle pulmonaire appelée « lobule pulmonaire » Chaque lobule constitue un poumon miniature qui est appendu à une bronchiole terminale [17].

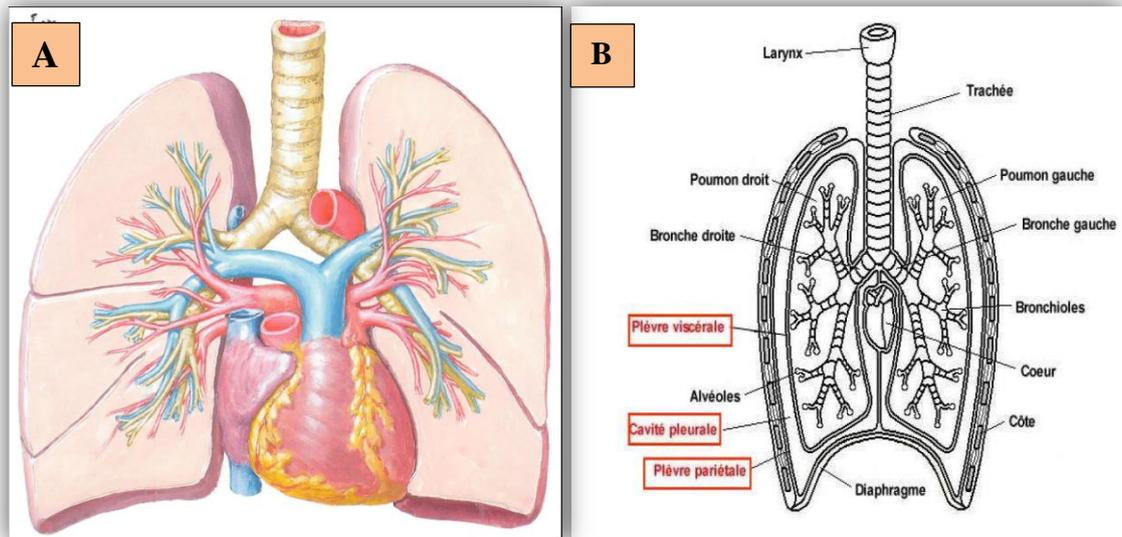


Figure 02 : Anatomie du poumon
 (A) : Schéma générale du poumon humain [23].
 (B) : Poumons humains, trachée, bronches [24].

Le lobule pulmonaire est constitué d'une série de petits sacs rassemblés en grappes : les alvéoles. Celles-ci sont entourées d'un fin réseau de capillaires permettant les échanges gazeux entre l'air et le sang.

Les alvéoles sont la structure de base du poumon. Une mince pellicule lubrifiante appelé « surfactant » tapisse la paroi de chaque alvéole, « l'épithélium » [25].

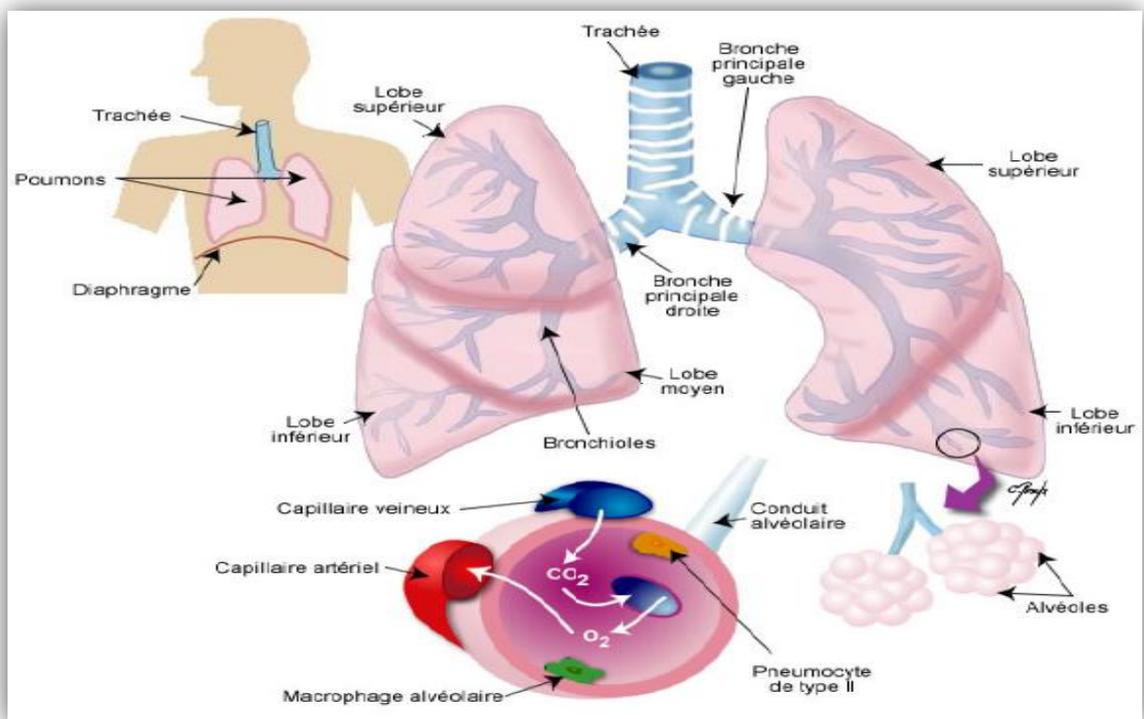


Figure 03 : Schéma générale du système respiratoire [26].

✓ Les bronches :

A son extrémité inférieure, appelée la carène, la trachée se divise pour former les deux bronches souches. La paroi des bronches souches possède une structure identique à celle de la trachée et est composée d'anneaux cartilagineux et d'une muqueuse avec un épithélium cilié vibratile.

Après quelques centimètres, chaque bronche souche se divise en de plus petites bronches :

- Bronche souche droite : Trois principales pour les trois lobes du poumon droit.
- Bronche souche gauche : Deux branches principales pour les deux lobes du poumon gauche.

Ces cinq branches principales ou bronches lobaires, se divisent ensuite, comme la ramure d'un arbre, en bronches segmentaires qui se ramifient elles-mêmes encore en plus petites branches. On obtient après plus de vingt divisions, un système très ramifié, l'arbre bronchique. Plus les bronches deviennent petites, plus leur structure est simple et plus leurs parois sont fines [18].

Les bronchioles se ramifient encore en de petites branches microscopiques qui aboutissent directement dans les alvéoles pulmonaires, regroupées comme des grappes de raisin dans le tissu pulmonaire, et qui assurent les échanges respiratoires.

Au niveau des alvéoles, l'air et le sang ne sont plus séparés que par ce qu'on appelle la barrière alvéolo-capillaire, à travers cette fine structure, l'oxygène de l'air alvéolaire peut passer rapidement dans le sang capillaire pendant que le dioxyde de carbone prend le chemin inverse [18].

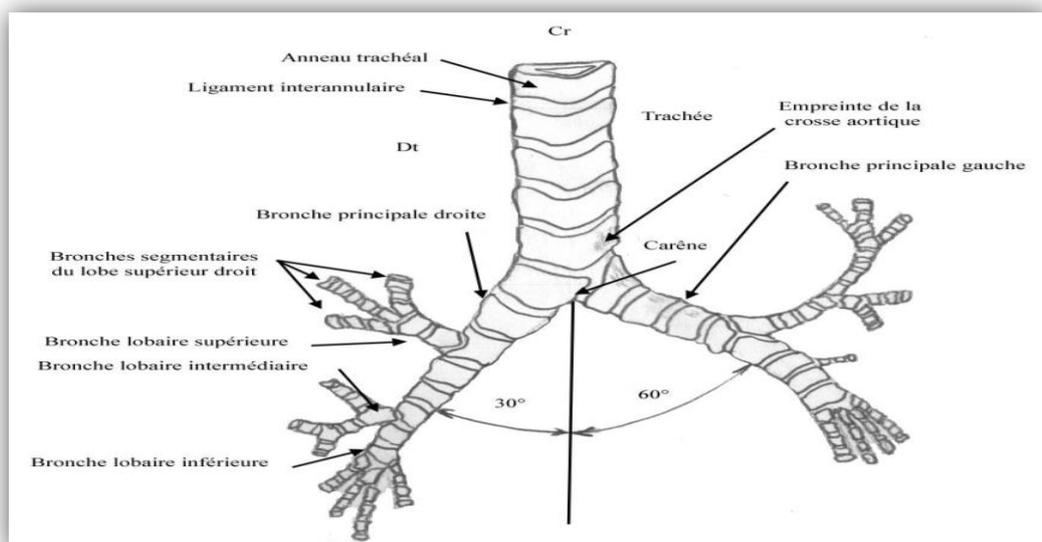


Figure 04 : La structure des bronches [27].

I-3- Physiologie des poumons

Les poumons sont les organes responsables de la respiration. Ils transmettent l'oxygène dans le sang et éliminent le gaz carbonique. L'air inspiré pénètre par la trachée et s'introduit dans les bronches puis les bronchioles, débouchant dans les alvéoles où se déroulent les échanges gazeux avec le sang [28].

Chaque alvéole est entourée de vaisseaux très fins, appelées capillaires, dont elle est séparée par une membrane. C'est à travers cette membrane que l'oxygène est transféré de l'air vers le sang, et en sens inverse, le gaz carbonique éliminé.

Les poumons jouent également le rôle de défenseur de l'organisme contre les substances nuisibles présentes dans l'air, comme la fumée, la pollution, les bactéries et les virus.

Les poumons produisent un liquide épais et visqueux appelé mucus qui peut retenir et partiellement détruire ces substances. Les cils bougent rapidement pour faire remonter le mucus dans les bronches, ou il est évacué par la toux ou la déglutition [28].

Les contractions musculaires du diaphragme et de la cage thoracique permettent aux poumons de se gonfler et de se dégonfler, par augmentation / diminution du volume de la cage thoracique [29].

I-4- Histologie des poumons

Les poumons sont des structures rose-grisâtres, très résistantes et élastiques. Ils sont séparés des organes intra thoraciques par une séreuse, la plèvre, qui permet leur glissement lors des mouvements respiratoires. Le tissu pulmonaire est macroscopiquement homogène spongieux. La teinte rose est habituellement due à la perfusion du tissu.

La partie distale terminale des voies de conduction est la bronchiole terminale, la bronchiole terminale possède un revêtement cylindrique cilié dépourvu de cellules caliciformes mêlé à de rares cellules non ciliées appelées cellules de Clara [30].

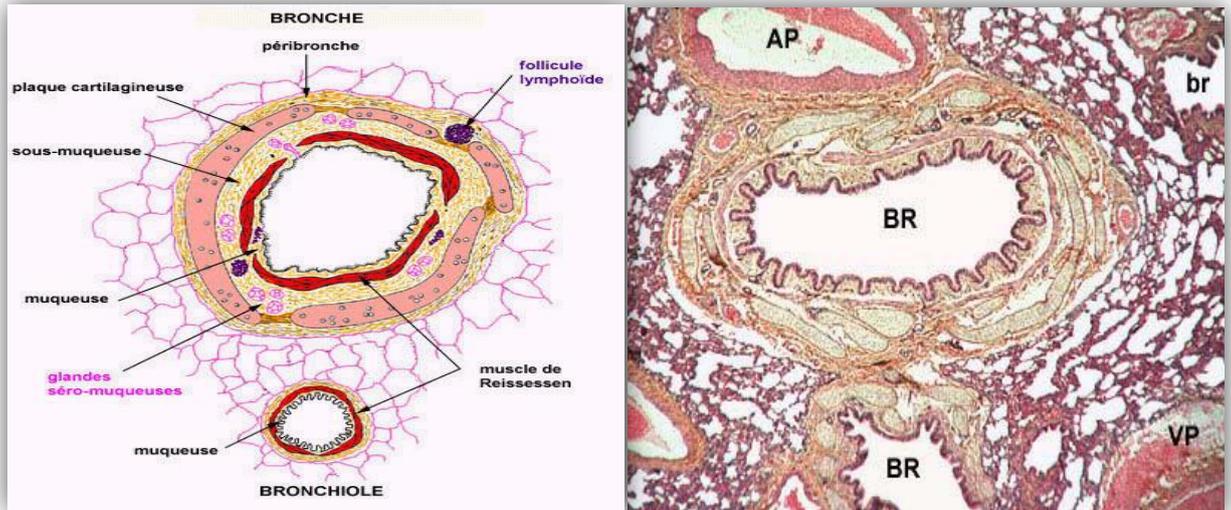


Figure 05 : Coupe transversale de la bronche et de la bronchiole.

AP : Artère pulmonaire, **BR:** deux Bronches

br : bronchioles, **VP :** Veine pulmonaire [31].

L'examen à fort grossissement en microscopie optique montre un aspect grossier des constituants des cloisons inter alvéolaires. Ces parois alvéolaires sont formées de trois constituants:

- 1) Un épithélium comportant deux types de cellules, les pneumocytes 1 et 2.
- 2) Un tissu conjonctif formé d'une fine couche de minces fibres de réticuline, de collagène et élastique.
- 3) Un riche réseau de capillaires [30].

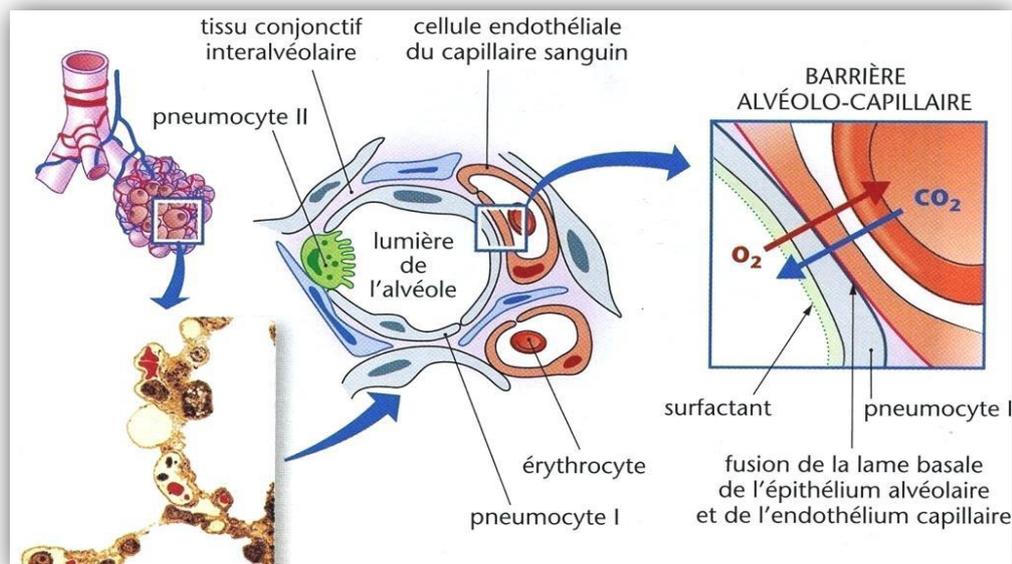
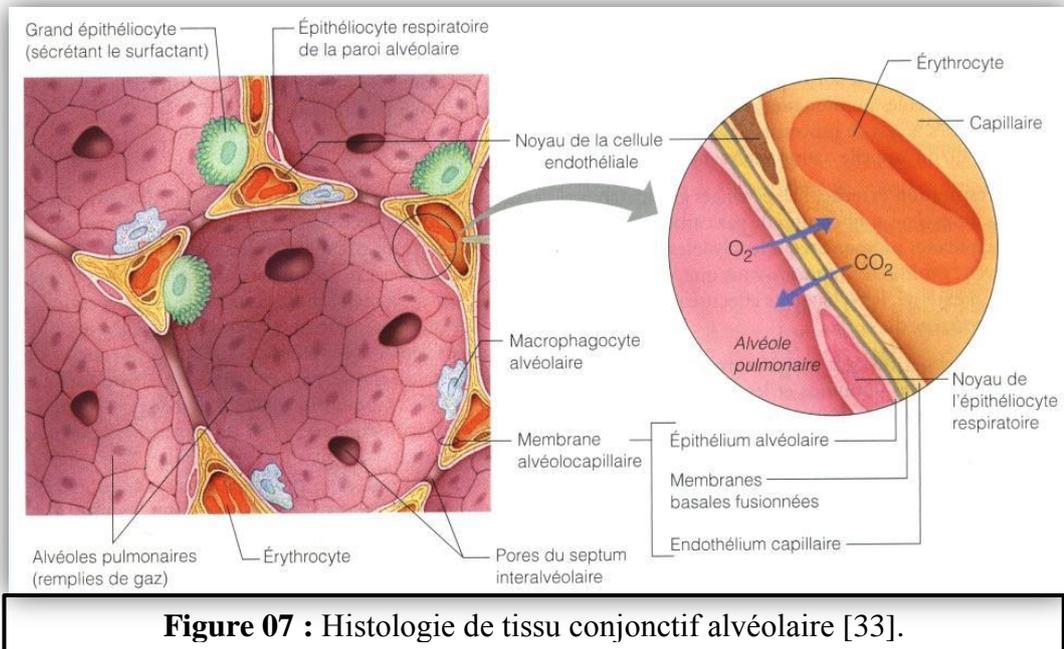


Figure 06 : Histologie de la barrière alvéolo-capillaire [32].

Il s'y associe des macrophages intra-alvéolaires qui assurent la phagocytose de petites particules qui peuvent atteindre les alvéoles. Ils sont appelés macrophages alvéolaires. Le tissu conjonctif de soutien est difficilement perçu sans coloration spéciale [30].



Les capillaires contenant des globules rouges sont délimités par le fin cytoplasme des cellules endothéliales.

- ✓ Les pneumocytes I sont des cellules très aplaties.
- ✓ Le Pneumocyte II ou cellule à surfactant se caractérise en microscopie électronique par la présence de corps multi lamellaires correspondant à l'agent tensio-actif sécrété et libéré par exocytose sur la surface de l'alvéole [30].

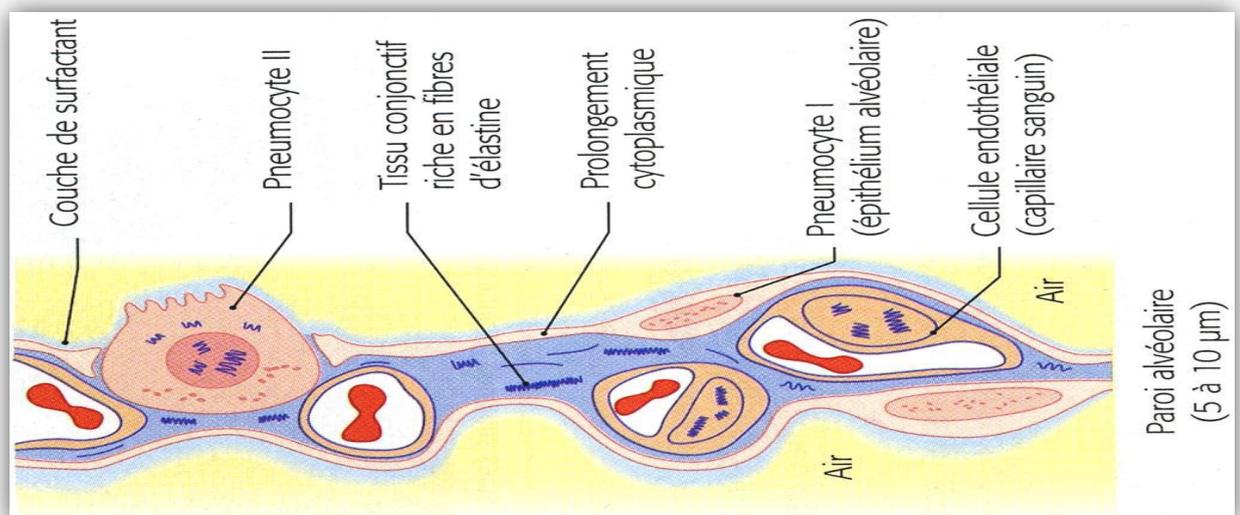


Figure 08 : Histologie d'une cloison alvéolaire [34].

- ✓ Le macrophage alvéolaire est un composant important du système de défense du tissu pulmonaire. Issu des monocytes sanguins. Il phagocyte les particules et les microorganismes atteignant les alvéoles. Chargé des phagosomes, il migre vers les voies respiratoires où il est éliminé par expectoration ou déglutition. De nombreux macrophages migrent dans le tissu conjonctif, et déversent les produits de phagocytose [30].
- ✓ La plèvre viscérale est revêtue par un mésothélium aplati reposant sur un tissu conjonctif fibreux et élastique. Ce dernier véhicule un réseau de vaisseaux lymphatiques et sanguins [30].

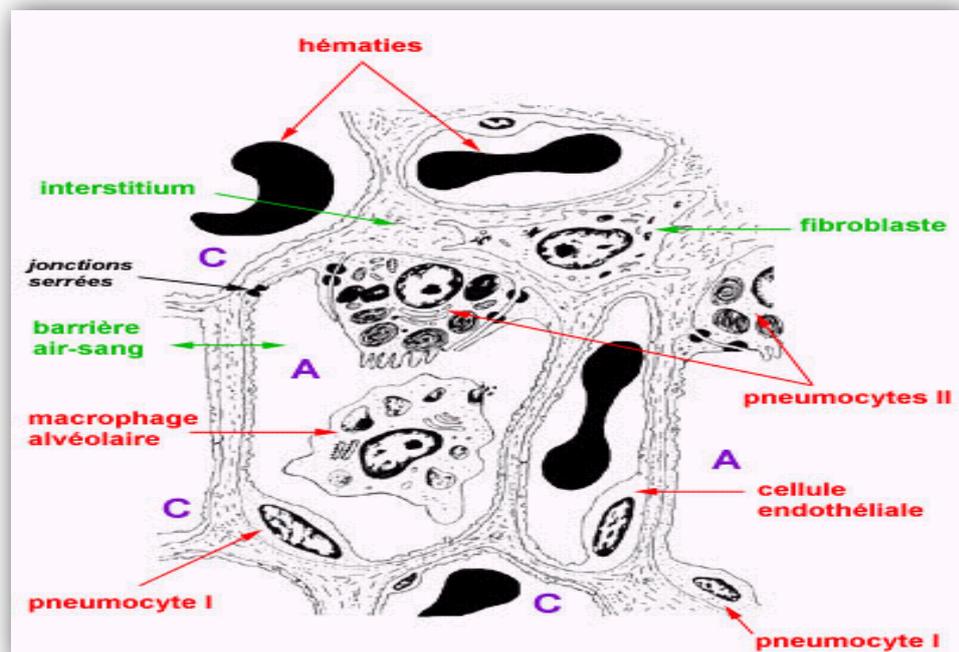


Figure 09 : Les cellules de l'alvéole pulmonaire
C: capillaire alvéolaire, A: alvéole [35].

I-5- Fonctions des poumons

I- 5-1- Les phénomènes mécaniques de la respiration

La mécanique ventilatoire, la respiration sert aux échanges gazeux entre l'organisme et l'environnement extérieur [36].

- L'inspiration : Est un phénomène actif. Le poumon se dilate et de l'air frais en provenance de l'extérieur, riche en oxygène, arrive dans les alvéoles pulmonaires [37].

- L'expiration : Est un phénomène passif. Le poumon se rétracte et de l'air, pauvre en oxygène et riche en gaz carbonique est rejeté [37].

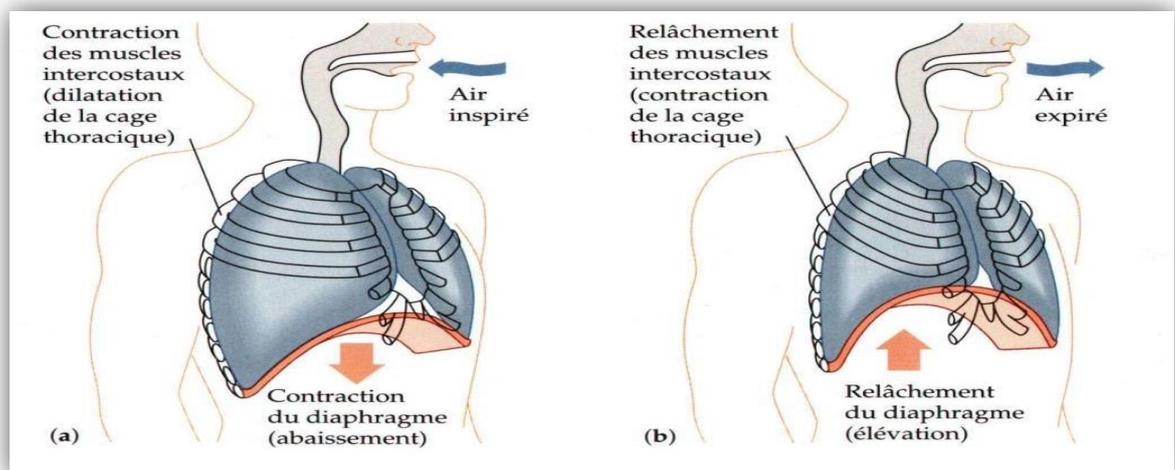


Figure 10 : Phénomènes des respirations [38].

I-5-2- Les phénomènes chimiques de la respiration

I-5-2-1- Les échanges gazeux

Les échanges gazeux se déroulent dans les alvéoles pulmonaires, ces dernières sont entourées d'un réseau réticulé de fins vaisseaux sanguins, les capillaires de la circulation pulmonaire. L'anse afférente de ces capillaires contient du sang pauvre en oxygène et riche en dioxyde de carbone qui est envoyé dans la circulation pulmonaire par les artères pulmonaires en provenance du ventricule droit pendant son passage à travers les capillaires pulmonaires.

Ce sang doit se charger en un temps très court de contact, des molécules d'oxygène qui sont concentrées dans les alvéoles, l'oxygène diffuse pour cela à travers les parois des alvéoles et des vaisseaux sanguins qui forment ensemble la barrière alvéolo-capillaire [37].

En même temps, le dioxyde de carbone diffuse en sens inverse hors des vaisseaux dans les alvéoles, d'où il pourra finalement être éliminé lors de l'expiration. Cet échange de dioxyde de carbone et d'oxygène s'appelle échange gazeux [36].

Après l'échange gazeux au niveau de l'alvéole, l'anse efférente des capillaires pulmonaires contient du sang riche en oxygène et pauvre en dioxyde de carbone. Ce sang arrive dans l'oreillette gauche du cœur après son transport dans les poumons par les veines pulmonaires et sera ensuite envoyé dans la circulation générale à partir du ventricule gauche. Le transfert de l'oxygène des alvéoles pulmonaires dans les capillaires et à l'inverse du dioxyde de carbone vers les alvéoles, se fait d'une manière passive par diffusion [36].

I-5-2-2- Le transport d'oxygène dans le sang

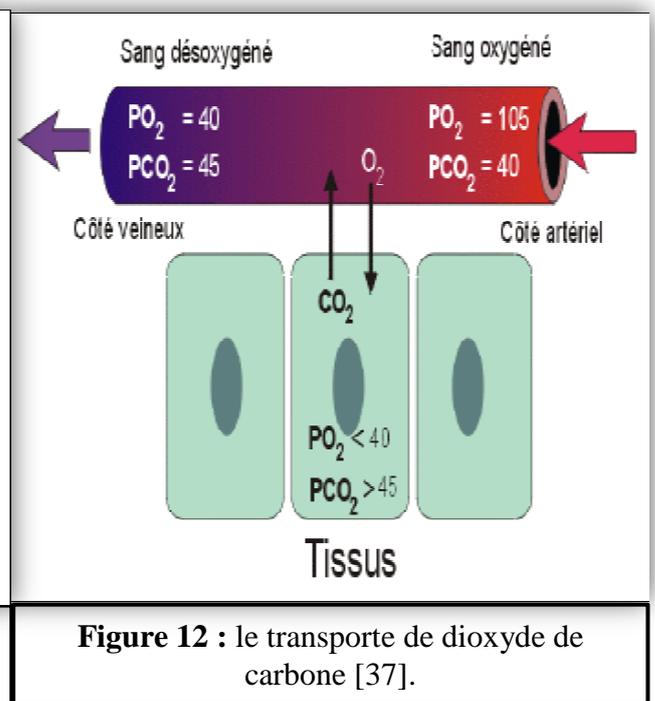
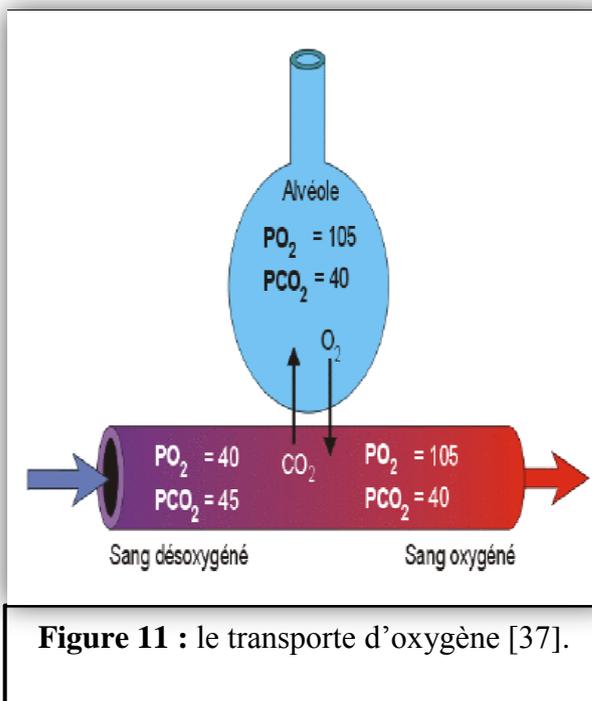
L'oxygène, dans le sang, en provenance des poumons diffuse immédiatement dans les globules rouges et se fixe sur le fer de l'hémoglobine, normalement, 97% de l'hémoglobine disponible est saturée en oxygène dans le sang artériel.

La délivrance de l'oxygène aux tissus s'effectue de nouveau par diffusion [36].

I-5-2-3- Le transport du dioxyde de carbone dans le sang

Environ 80% du dioxyde de carbone seront transformés par une réaction chimique en HCO_3 immédiatement après leur absorption. Une partie du bicarbonate ainsi formé se trouve dans le plasma le reste dans les érythrocytes.

10% du dioxyde de carbone sont directement fixés sur la molécule d'hémoglobine et transportés sous cette forme au sein des érythrocytes vers les poumons [36].



II-1-Définition de cancer du poumon

Le cancer du poumon était une maladie rare au début du 20^{ème} siècle, mais l'augmentation de l'exposition à la fumée du tabac et des autres facteurs déclenchants de la maladie ont contribué à une pandémie aux 20^{ème} et 21^{ème} siècles [39].

Il s'agit d'une pathologie qui se caractérise par une invasion de cellules cancérigènes l'organe pulmonaire et se manifeste par des difficultés respiratoires, une toux et une perte de poids [40].

Les cellules du poumon subissent parfois des changements qui rendent leur mode de croissance ou leur comportement anormal, ces changements peuvent engendrer la formation de tumeurs bénignes (voir l'annexe 01), comme l'hamartome et le papillome. Les tumeurs bénignes ne sont pas cancéreuses, mais dans certains cas, suite à des transformations peuvent causer un cancer [41].

II-2-Classification histologique

La classification anatomopathologique des cancers du poumon doit être périodiquement mise à jour en raison de l'évolution des connaissances, liée en particulier à l'apport de l'immunohistochimie et de la biologie moléculaire, mais aussi des modifications induites par le comportement des patients et leur environnement.

La classification internationale de l'OMS des tumeurs du poumon selon le type histologique repose sur une analyse morphologique. Elle propose une nomenclature standardisée [42].

Un examen des cellules cancéreuses au microscope permet de distinguer les principaux types suivants:

- > Carcinomes pulmonaires non à petites cellules (CPNPC) (environ 80%) ,
- > Carcinomes pulmonaires à petites cellules (CPPC) (environ 20%),

Le nom de ces cancers du poumon, se fonde sur le type de cellules ou du tissu dans lequel la tumeur se développe à l'origine. Les tumeurs mixtes sont rares [43].

II-2-1- Cancer du poumon non à petites cellule

Le carcinome du poumon NPC peut se développer tant à l'intérieur des voies respiratoires proprement dites (bronches) que dans le tissu pulmonaire.

- Carcinomes épidermoïdes (environ 40%).
- Adénocarcinomes (environ 30%).
- Carcinomes à grandes cellules (environ 10%) [43].

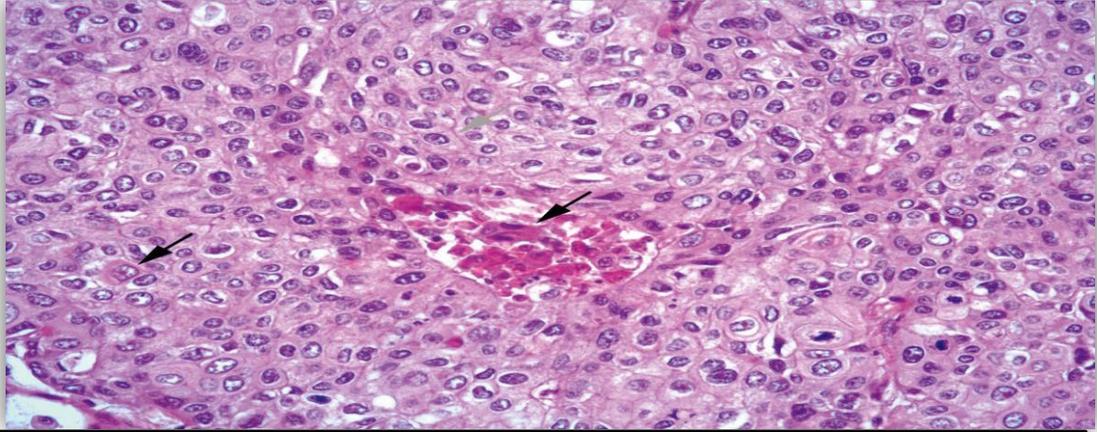


Figure 13 : Carcinome épidermoïde bien différencié
Tumeurs du poumon, primitives et secondaires [44].

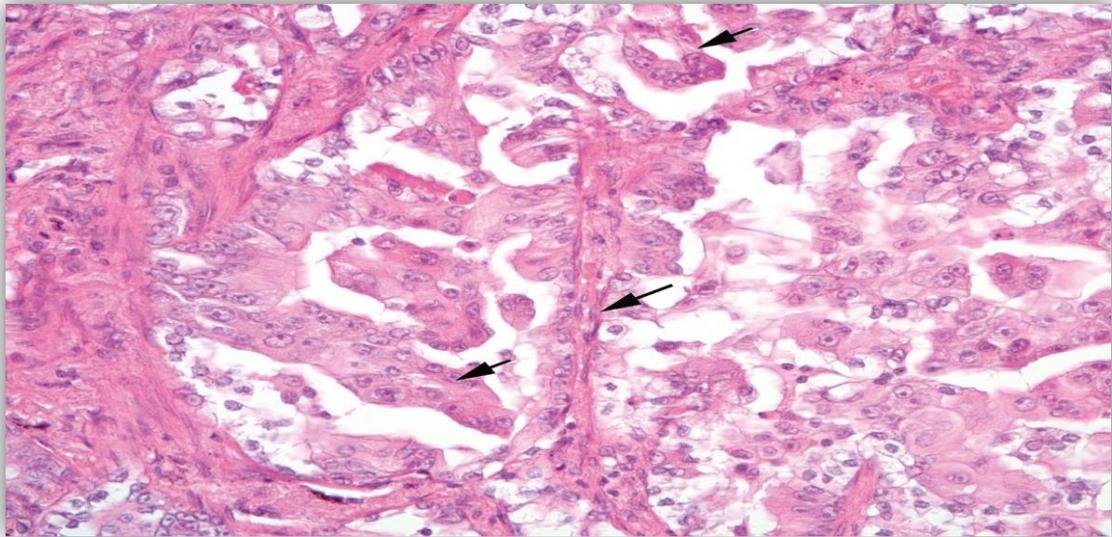


Figure 14 : Adénocarcinome bien différencié [44].

Dans le cas du CPNPC, il y a 4 stades principaux, I, II, III, IV. Les 3 premiers sont divisés en sous-groupes A et B [43, 45].

II-2-2- Cancer du poumon à petites cellules

Le CPPC représente de 10 à 15% de tous les cancers du poumon. Il prend habituellement naissance dans les bronches situées au centre des poumons.

Le CPPC est le plus agressif de tous les types de cancer du poumon. Dans de nombreux cas, il s'est déjà propagé à d'autres parties du corps au moment où il est diagnostiqué.

Le cancer du poumon à petites cellules est aussi appelé carcinome indifférencié à petites cellules [44].

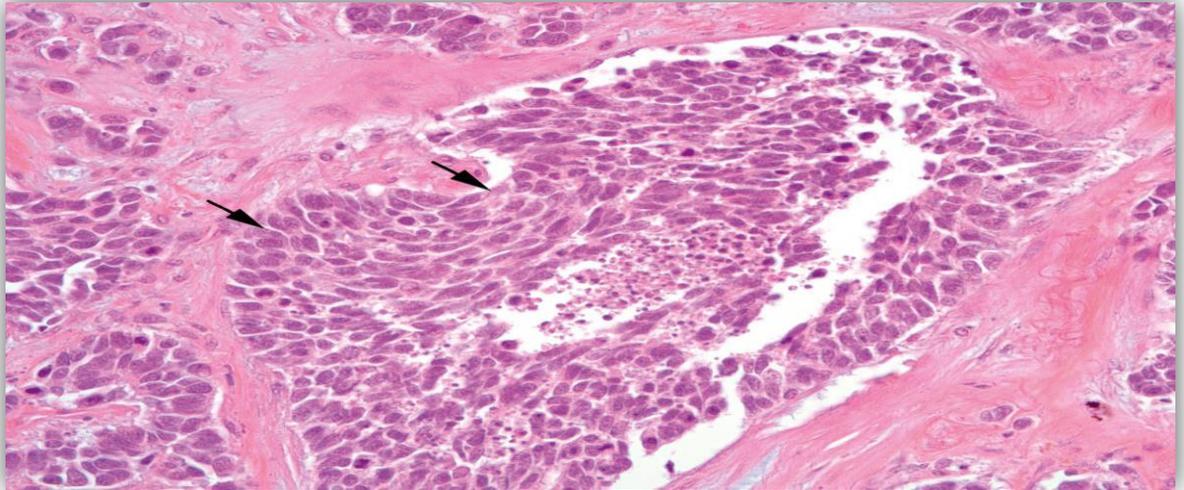


Figure 15 : Carcinome à petites cellules [44].

Pour les carcinomes à petites cellules, on ne distingue généralement que deux stades selon la classification TNM (voir l'annexe 02):

Limité : L'invasion est limitée à un côté de la cage thoracique (affection limitée).

Étendu : L'invasion s'est étendue plus loin (affection étendue) [43].

La stadification du VALCSG :

Tableau 01 : Classification du VALCSG : Cancer du poumon à petite cellules [43].	
Stade	Explication
Limité	La tumeur est présente seulement dans le thorax, et la région cancéreuse est suffisamment petite pour être traitée sans danger par radiothérapie
Étendu	La tumeur s'est trop répandue pour entrer dans un champ de rayonnement Le cancer s'est propagé à de multiples régions du corps,

II-3- Epidémiologie

Le poumon est la 2^{ème} localisation de cancer, en termes d'incidence, chez l'homme après la prostate, mais il est la localisation cancéreuse la plus meurtrière.

Chez la femme, le cancer du poumon est la 3^{ème} cause, après le cancer du sein et le cancer colorectal.

II-3-1- Epidémiologie descriptive

Le cancer du poumon survient en moyenne à l'âge de 65 ans [46].

Selon l'OMS, le cancer est une cause majeure de décès dans le monde à l'origine de 8,2 millions de décès en 2012 [47].

Epidémiologie mondiale :

- Selon le sexe :

L'incidence et la mortalité projetées en 2015 du cancer du poumon, nombre de cas et taux standardisés monde [48].

Tableau 02 : Incidence et mortalité en 2015 du cancer du poumon [48].				
	Incidence- nombre de cas	Incidence- TSM	Mortalité- nombre de cas	Mortalité- TSM
Homme	30401	52.6	20990	34.3
Femme	14821	23.4	9565	13.7

- Selon l'âge :

L'incidence et la mortalité projetées en 2015 du cancer du poumon selon la classe l'âge, nombre de cas [48].

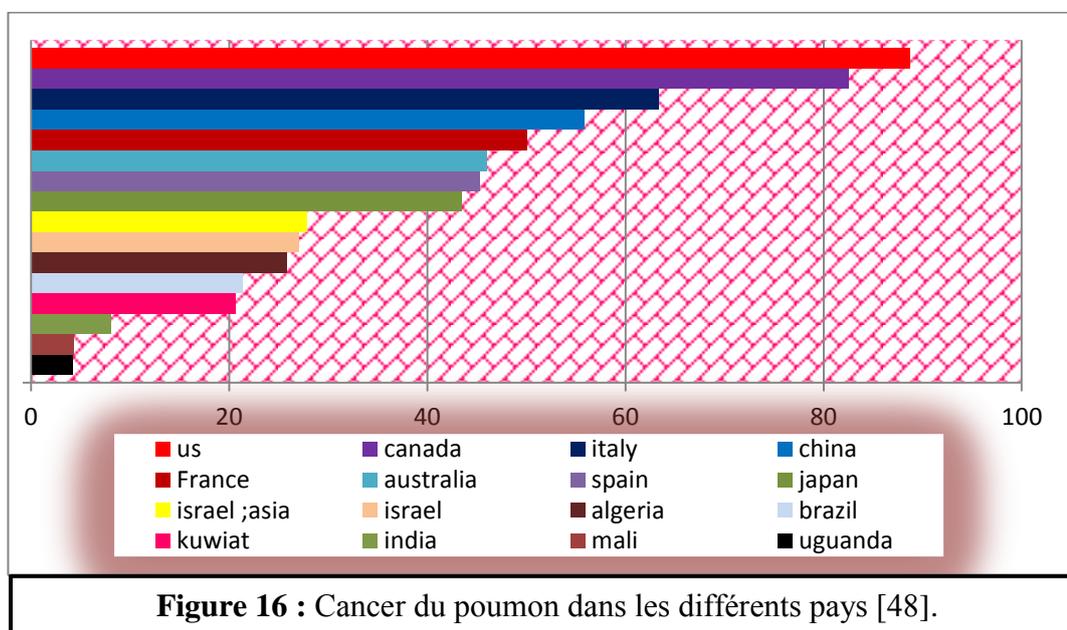
Tableau 03 : Incidence et mortalité selon l'âge [48].				
Classe l'âge	Incidence- Homme	Incidence- femme	Mortalité- homme	Mortalité- femme
0-14	2	5	0	0
15-49	1400	1099	701	510
50-64	10762	5807	6537	3351
65-74	10334	4011	6920	2392
75-84	6086	2602	4834	1914
85 et plus	1817	1297	1998	1398
Totale	30401	14821	20990	9565

➤ Selon le pays :

Comparaison de la mortalité et de l'incidence estimées du cancer du poumon chez l'homme et chez les femmes en 2008 TSM [48].

Tableau 04 : Cancer du poumon dans le monde [48].

	Pays	canada	Etats-Unis	EU27	Martinique	France
Homme	Incidence	40.3	49.5	47.6	15.0	47.7
	Mortalité	36.2	38.1	40.3	13.2	38.9
Femme	Incidence	32.4	36.2	15.6	5.0	14.7
	Mortalité	24.9	24.1	12.7	4.7	10.8



Epidémiologie en Algérie :

Selon l'OMS [47], en Algérie, le cancer du poumon occupe la 1^{ère} place chez l'homme avec 2000 cas. Il représente 15% de l'ensemble des cancers masculins. Il se situe au 3^{ème} rang de tous les cancers masculin et féminin.

La tranche d'âge 50-69 ans est la plus touchée [49].

II-3-2- Epidémiologie analytique (causale)

II-3-2-1- Les facteurs de risque

II-3-2-1-1- Les tabagismes

Une personne qui fume multiplie par 10 à 15 son risque de développer un cancer du poumon qu'une personne qui n'a jamais fumé, le tabagisme actif est responsable de 80% des cancers du poumon [50].

La fraction des cancers bronchiques attribuable au tabac est évaluée à 91 % chez l'homme et à 57 % chez la femme. Le risque de développer un cancer du poumon chez l'homme fumeur est 24 fois plus important que chez le non-fumeur. Chez la femme, par contre, il est 9 fois plus important chez la fumeuse que chez la non fumeuse [51].

-Cannabis :

La consommation de cannabis constitue un facteur de risque. La fumée de cannabis contient 4 fois plus de goudrons que celle du tabac et plus de substances cancérigènes. Le principe actif du cannabis, le THC, dilate les bronches facilitant ainsi la pénétration de la fumée et de ses toxiques [51,52].

II-3-2-1-2- Les expositions professionnelles

Les personnes exposées pendant leur travail à certaines substances cancérigènes présentent un risque accru de cancer du poumon. L'INRS estime que 4 à 8,5% de tous les cancers seraient d'origine professionnelle, et ce chiffre atteindrait environ 15% dans le cas du cancer du poumon. Associé au tabagisme, le risque de développer ce cancer suite à une exposition professionnelle serait augmenté de 20 à 50%.

Les produits cancérigènes peuvent être de nature chimique, physique ou biologique :

- L'amiante est également responsable de l'apparition de mésothéliome pleural malin, cancer rare et très agressif qui touche la plèvre.
- Les rayonnements ionisants.
- Les goudrons.
- Les huiles de houille (charbon) et les suies de combustion du charbon. De plus certains métaux telque l'arsenic, le chrome, le nickel, la silice, le fer, ainsi que le cobalt et le tungstène, sont reconnus comme facteurs de risque du cancer du poumon d'origine professionnelle [53].

II-3-2-1-3- Les pollutions atmosphériques (environnementales):

L'effet de la pollution atmosphérique sur le risque de cancer bronchique est très important car des dizaines de millions de personnes y sont exposés. Cette pollution est due à des gaz, comme le NO₂, l'O₃, ainsi qu'à différentes particules émises, et les fumées du diesel, mais les données concernant la pollution atmosphérique et le cancer bronchique doivent être encore affinées car toute la difficulté de ces études tient au fait qu'elles visent à associer des taux de pollution mesurés à un moment précis à une affection survenant bien des années après [53].

II-3-2-1-4- Les facteurs génétiques

Expliquant que certains fumeurs ne sont jamais atteints par le cancer du poumon alors que des non-fumeurs le sont. De même, un nombre croissant de cancers du poumon, surtout chez des femmes qui n'ont jamais fumé et qui ne côtoient pas de fumeurs a été constaté [54].

Des chercheurs de l'Institut britannique ICR, ont montré que des mutations du gène BRCA2, sont associées à un risque accru de cancer du poumon les deux sexes confondus. Des mutations du gène EGFR et une anomalie particulière au niveau d'un gène appelé ALK ont été aussi retrouvées dans les cellules tumorales de patients atteints de cancer du poumon [55].

II-4- Les signes cliniques

Le cancer du poumon est parfois présent sans qu'aucun signe ne soit apparent. Il peut aussi s'exprimer par certains symptômes. Cependant, d'autres maladies peuvent causer les mêmes symptômes. C'est pourquoi plusieurs examens sont nécessaires pour vérifier s'il s'agit bien d'un cancer [56].

II-4-1- Les symptômes respiratoires

- La toux : Son aggravation ou sa modification récente, son allure quinteuse, sa résistance aux thérapeutiques habituelles doit attirer l'attention.
- L'hémoptysie : Il s'agit d'un symptôme qui, en l'absence de pathologie connue chez le patient, est une indication d'endoscopie immédiate.
- Les douleurs thoraciques : De siège variable mais fixes et tenaces, résistantes aux antalgiques habituels.
- Une dyspnée inspiratoire avec wheezing doit attirer l'attention et faire suspecter une obstruction d'un gros tronc.

- Les épisodes respiratoires aigus d'allure infectieuse constituent un mode de début fréquent [57].

II -4-2-Les signes généraux :

Ils sont fréquents,

- Fatigue anormale
- Perte récente d'appétit
- Amaigrissement [58].

II-4-3-Les signes indirects

Ce sont des ensembles de signes ou symptômes accompagnant l'apparition du cancer, observés dans 10 à 20 % des cas, regroupés sous le terme de «syndrome paranéoplasique», pouvant apparaître plusieurs années avant la tumeur du poumon :

- Déformation des dernières phalanges et des ongles des doigts des 2 mains (hippocratisme digital).
- Hypercalcémie.
- Troubles de la régulation de l'hydratation.
- Thromboses veineuses et phlébites [58].

II -4-4-Les autres symptômes :

Moins fréquents,

- Modification de la voix (dysphonie).
- Sifflement lors des mouvements respiratoires.
- Œdème du cou, de la face et des bras.
- Distension des veines jugulaires.
- Lacis veineux à la partie supérieure du thorax.
- Difficulté à avaler (dysphagie).
- Apparition d'une pleurésie ou d'une péricardite.
- Métastase cérébrale se manifestant par des maux de tête ou par une crise d'épilepsie amenant à découvrir secondairement le cancer du poumon [59].

II-5-Diagnostic

Le bilan s'attachera à préciser le diagnostic de cancer, à déterminer l'extension tumorale et à évaluer l'état fonctionnel pulmonaire et général du malade avant son traitement [60].

II-5-1- Techniques d'imagerie

Ces techniques permettent de procéder à un examen approfondi des tissus, des organes et des os. La radiographie, l'échographie, la TDM, la TEP et l'IRM sont autant de moyens permettent de montrer l'image de la tumeur et de vérifier si elle est étendue ou non. Les images peuvent également révéler une pleurésie (accumulation anormale de liquide) ou une des adénopathies [61].

II-5-2- Cytologie des expectorations

Des échantillons du flegme expulsé par les poumons (crachats) sont examinés au microscope afin de détecter la présence de cellules cancéreuses [60].

II-5-3- Biopsie

Une biopsie est habituellement nécessaire pour établir avec certitude un diagnostic de cancer. Une fibroscopie est systématiquement indiquée en cas de syndrome infectieux respiratoire chez un fumeur [60].

II-5-4- Analyses sanguines

Une analyse biochimique sanguine permet, quant à elle de mesurer le taux de certaines substances chimiques dans le sang. Elle permet d'évaluer la qualité du fonctionnement de certains organes et aussi de détecter des anomalies [62].

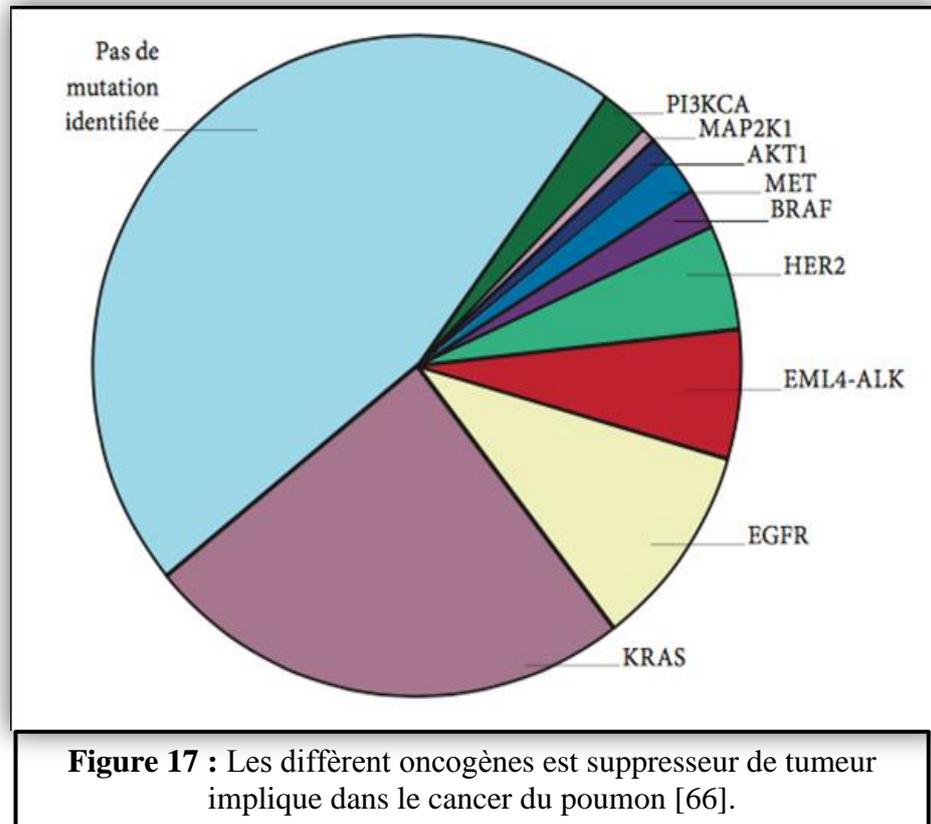
II -6-Traitement du cancer du poumon :

Trois types de traitements peuvent être proposés pour la prise en charge d'un cancer du poumon [63] :

La chirurgie, la radiothérapie et la chimiothérapie ou encore des thérapies ciblées sont utilisées (Voir l'annexe 03) [64].

III -1: Les altérations géniques :

Au cours des cancers du poumon, des altérations génétiques ont été retrouvées dans les gènes impliqués dans la progression tumorale nous citeront quelques proto-oncogènes et quelques gènes suppresseurs de tumeurs [65].



III-1-1- Les proto-oncogènes et oncogènes

❖ Les Altérations de l'EGFR

Le récepteur à l'EGF est une glycoprotéine membranaire de la famille des récepteurs à activité tyrosine kinase, permettant la transmission d'un signal extracellulaire vers le cytoplasme cellulaire. La fixation de son ligand principal, EGF, au niveau du domaine extracellulaire induit une homo ou hétérodimérisation avec un autre récepteur transmembranaire à activité tyrosine kinase, permettant l'activation par autophosphorylation du domaine intra cytoplasmique [67].

En aval, cette phosphorylation induit le recrutement en position sous membranaire de nombreuses protéines de transduction du signal qui permettent l'activation de 2 voies principales de transduction du signal: la voie RAS/MAPK, et la voie PI3K/AKT.

Ces voies permettent une régulation et une amplification du signal EGFR, et contrôlent les processus de différenciation, de prolifération, d'apoptose, et de survie cellulaire [68].

Les mutations de l'EGFR sont d'origine somatique, dominantes, et apparaissent précocement au cours de la carcinogenèse pulmonaire. Elles sont retrouvées dans les lésions pré invasives d'adénocarcinome broncho-pulmonaire comme les hyperplasies adénomateuses atypiques.

Des mutations de l'EGFR sont détectables dans près de 50 % des ADC chez les sujets non-fumeurs [70].

Ces mutations surviennent spécifiquement dans les 4 premiers exons (exons 18 à 21) du gène EGFR codant pour le domaine tyrosine, kinase. Les deux plus fréquentes sont: Celles de l'exon 19, il s'agit de délétions, intéressant la leucine en 747 et la glutamine en 749 et représentant 44 % des mutations de l'EGFR [72].

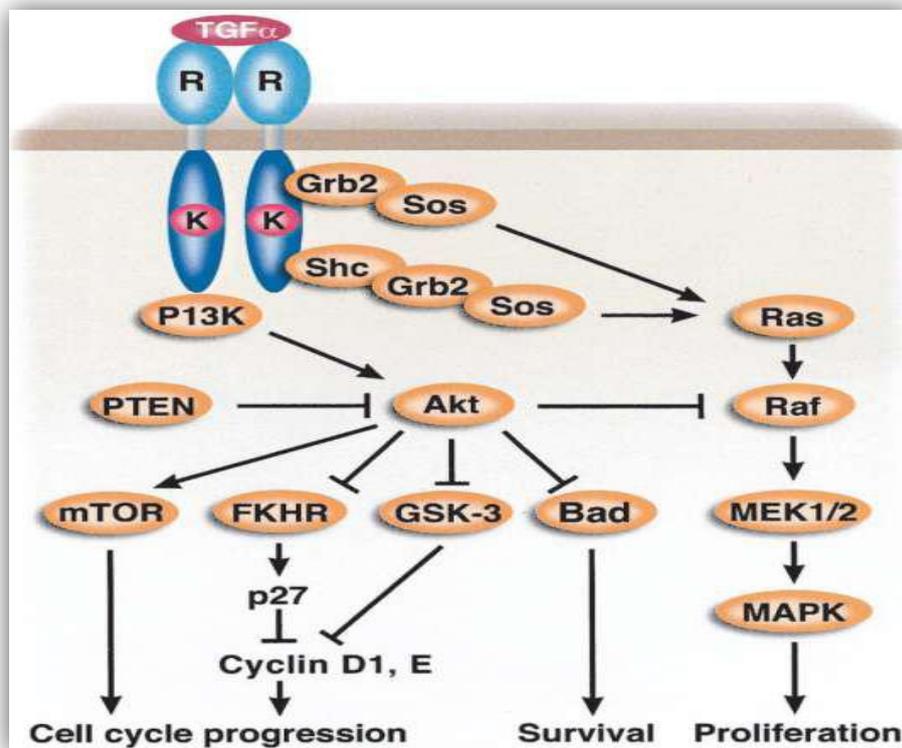


Figure 18 : Mutations de l'EGFR [69].

❖ **Les Altérations de KRAS :**

Les mutations des membres de la famille RAS (HRAS, KRAS2, NRAS) sont communes dans de nombreux types de cancers.

Dans les cancers broncho-pulmonaires, 90 % de ces mutations affectent le gène KRAS. Elles sont presque systématiquement localisées au codon 12. Cette mutation est détectable dans 20 à 30 % des ADC [67].

Dans les cellules normales au repos, RAS est présente à la face cytoplasmique de la membrane plasmique sous une forme inactive, liée au GDP. Suite à la stimulation par un signal extracellulaire, RAS est recruté au niveau du récepteur et interagit avec des facteurs d'échange de nucléotides guanidiques entraînant sa conversion en une forme active, liée au GTP [71]. L'hydrolyse du GTP ramène l'activité à un niveau de base et la répétition rapide de ce cycle permet la multiplication intracellulaire du signal généré par l'activation du récepteur.

La mutation au codon 12 bloque la protéine KRAS en configuration active, entraînant la production d'un signal constitutif, indépendant de l'activation des récepteurs en amont.

Les mutations de KRAS surviennent généralement dans les tumeurs dépourvues de mutations de l'EGFR [73]. Le type des mutations au codon 12 de KRAS diffère en fonction de l'histoire tabagique du patient: Les mutations G vers T dominent chez les fumeurs, alors que les mutations G vers A sont plus fréquentes chez les non-fumeurs. De plus, les mutations de KRAS semblent prédominer dans les ADC des fumeurs et des ex-fumeurs, à la différence des mutations de l'EGFR, que l'on trouve principalement chez les non-fumeurs [74].

❖ **Les Mutations de HER2 (erbB2) :**

Les insertions dans ce gène se voient dans l'exon 20, qui code pour une partie du domaine tyrosine kinase [71]. Cette mutation est retrouvée avec une fréquence de 2-4% dans l'ensemble des CPNPC et environ 6% des ADC non mutés pour EGFR, KRAS ou ALK [78].

❖ **Les altérations de la protéine BCL2 :**

La protéine BCL-2 a d'abord été identifiée comme proto-oncogène dans les lymphomes B folliculaires, ou une translocation chromosomique conduit à une expression constitutive de ce gène, puis il a été montré que cet oncogène était responsable d'une inhibition de l'apoptose plutôt que d'une activation de la prolifération cellulaire.

BCL2 est exprimée dans 75 à 95% des CBPC, elle est plus exprimée dans les carcinomes épidermoïdes que dans les adénocarcinomes [71].

❖ **Les altérations de la protéine BRAF :**

La mutation V600E entraîne la synthèse d'une protéine mutante BRAF à activité tyrosine kinase augmentée et une activité transformant in vitro. D'autres à l'inverse favorisent la formation de protéines à activité kinase réduite, c'est le cas des mutations G466V et Y472C [76].

❖ **L'amplification de MET:**

L'amplification de MET (7q21, 31) joue un rôle dans la résistance acquise aux inhibiteurs de l'EGFR chez les patients avec une tumeur mutée EGFR. Elle serait présente chez 5 à 20% des patients dans cette configuration et dans les tumeurs avec amplification de MET (~2-4% des CPNPC) [79].

❖ **L'amplification de FGFR1 :**

Les cellules tumorales présentant une amplification de FGFR1 sont dépendantes de l'activité du récepteur. Cette dépendance peut être mise à profit pour un objectif thérapeutique à l'aide d'inhibiteurs spécifiques du FGFR, dont les résultats précliniques sont prometteurs [67].

❖ **Les translocations impliquant ALK :**

La protéine ALK (2p23) est un récepteur à tyrosine kinase de la superfamille des récepteurs à l'insuline et dont le ligand est encore inconnu [64].

Ce récepteur est important pour le développement du système nerveux mais sa fonction est encore mal comprise [67].

Diverses altérations du gène ALK peuvent être trouvées dans les cancers. Ainsi, dans le cancer du poumon, un remaniement d'ALK est observé dans 3 à 7 % des tumeurs [71].

❖ **Les réarrangements RET :**

RET un Kinase tyrosine récepteur membranaire à activité tyrosine kinase [67].

Localisation de la mutation	Réarrangements chromosomiques impliquant le gène RET sur 10q11.2 et le gène KIF5B sur 10p11.22
Fréquence des fusions RET	Environ 1 % des cancers du poumon

❖ Les mutations de DDR2 :

La mutation S768R correspond à un changement de l'acide aminé en position 768 dans DDR2, Une sérine (S) remplacée par une arginine (R). Les protéines mutantes DDR2 ont une activité transformant *in vitro* [67].

Localisation de la mutation	Domaine kinase (exon 18)
Fréquence des mutations DDR2	Environ 3,8% des cancers épidermoïdes du poumon

❖ Les mutations du gène MYC : (Voie Wnt/Beta Catenine/MYC)

Les facteurs de la famille Wnt sont des protéines sécrétées impliquées dans la régulation de la prolifération, de la morphogénèse, de l'adhésion cellulaire, de la différenciation et de l'apoptose avec pour résultat l'augmentation de l'expression de nombreux gènes dont MYC et CCND1. Les composants de cette cascade sont aussi altérés dans la cancérogenèse pulmonaire, mais de façon très hétérogène.

En revanche, l'amplification de MYC (8q21-23) est détectée dans près de 10 % des CPPC, et est particulièrement fréquente dans les stades pré-invasifs (30 %) [69].

III-1-2- Les gènes suppresseurs des tumeurs

✚ L'inactivation de p53 :

L'altération génétique la plus fréquente est l'altération du gène suppresseur TP53 (chromosome 17p13) [67].

P53 est un médiateur essentiel de la réponse des cellules aux expositions à des agents cancérogènes, capable d'entraîner l'arrêt du cycle cellulaire, la réparation de l'ADN ou l'apoptose en fonction du type cellulaire, du degré de différenciation, de la nature et de l'intensité du stress [71].

Chez les fumeurs, la nature chimique de la mutation constitue souvent une « signature moléculaire » des agents mutagènes de la fumée du tabac, tels que le benzo(a)pyrène et d'autres hydrocarbures polycycliques aromatiques [74].

Cette « signature » moléculaire n'est pas présente dans les cancers des non-fumeurs [75].

Dérégulation de TP63, TP73 :

Les protéines TP63 et TP73, sont exprimés de façon complexe au cours de la morphogénèse et de la différenciation de l'arbre bronchique. Elles sont impliquées comme cofacteurs, dans la carcinogénèse bronchique. La protéine p63 est un facteur décisif dans la différenciation épidermoïde et son expression est indispensable à la formation de l'épithélium pluristratifié [74]. Cette protéine est surexprimée dans les métaplasies de la muqueuse bronchique et dans tous les CPPC [76].

Le rôle de TP73 est moins bien compris: la protéine joue un double rôle dans la différenciation et la réponse au stress de nombreux types cellulaires (différenciation neuronale, épithéliale). Il est possible que certaines formes mutées de TP 53 interfèrent avec les protéines TP63 et/ou TP73, modifiant leurs activités [80].

Les altérations de la P16 :

INK4 code pour p16 (9 p21), un inhibiteur des kinases cycline-dépendantes qui phosphorylent et inactivent Rb à la transition entre la phase G1 et la phase S du cycle cellulaire. La Cycline D1 est une des principales cyclines associées à ces kinases [71].

Le locus INK4 est un site fréquent de perte d'allèles. De plus, dans les CPPC des fumeurs, l'allèle résiduel est souvent hyper méthylé, entraînant une inactivation fonctionnelle de l'expression de p16 [75].

Les altérations de la voie Rb :

La protéine Rb, produit du gène du rétinoblastome RB1 (chromosome 13q14), est la clé de voûte d'une voie signalétique systématiquement altérée dans les cancers pulmonaires.

Ce suppresseur de tumeurs agit comme facteur limitant pour contrôler la progression des cellules dans les phases G1 et S du cycle cellulaire [71].

Les mécanismes les plus communs sont la perte d'expression de RB1, l'extinction du gène INK4 par méthylation de son promoteur, et la surexpression de la Cycline D1, produit du gène CCND1 (chromosome 11q13), souvent consécutive à l'amplification génique [74].

Les altérations de MEN₁ :

Le gène MEN1, localisé sur le chromosome 11 en 11q13, code la Ménine, une protéine très particulière qui fonctionne comme un modulateur de facteurs de transcription mitogéniques tels que JunD ou AP1. Des mutations somatiques et des pertes d'allèles de MEN1 sont observées dans la majorité des carcinoïdes bronchiques atypiques [74].

✚ **L'inactivation de P14ARF :**

Dans la plupart des cas, la délétion du locus INK4 inactive à la fois p16 et p14ARF. Dans d'autres cancers, l'une ou l'autre des protéines peut être inactivée de façon spécifique, suite à la méthylation différentielle des promoteurs qui gouvernent leur expression.

La protéine P14ARF interagit avec Mdm2, le principal régulateur de la stabilité et de l'activité de p53 [67].

✚ **Altération du gène FHIT:**

Le gène FHIT (3p14.2) code une protéine possédant une activité ADP-hydroxylase, dont la fonction exacte est inconnue.

Il est possible que l'altération fréquente de cette région soit une simple conséquence de l'extrême fragilité du locus FHIT sous l'effet des agents cancérigènes du tabac, et constitue en quelque sorte une « signature » moléculaire de l'exposition tabagique [74].

✚ **Des voies de transduction :**

✓ **La voie PI3K:**

La PI3K joue un rôle majeur dans le contrôle de la prolifération, de la survie cellulaire et est fréquemment dérégulée dans les cellules tumorales [67].

✓ **Les altérations du gène PTEN**

PTEN est une enzyme qui a pour fonction de contre balancer l'activité oncogénique du I3K. Dans certains cancers, il existe une mutation qui aboutit au blocage de l'expression de ce gène suppresseur de tumeur [77].

✓ **Les altérations de mTOR kinase:**

mTOR est une protéine effectrice .Elle régule la progression du cycle cellulaire de la phase G1 à la phase S et la croissance cellulaire en modifiant son statut énergétique. Elle contrôle la prolifération cellulaire et la croissance des cellules à travers deux voies de transduction intracellulaire, la protéine S6K et la protéine 4E-BP1 [77].

✚ **Les altérations de RASSF1 :**

RASSF1A est localisé en 3p21.3, une perte d'hétérozygotie à ce locus a été associée à une méthylation aberrante de ce gène sur l'autre allèle.

De nombreux gènes sont régulés de manière dépendante de RASSF1A et plusieurs de ces gènes sont également régulés par RAS activée, mais de manière opposée [77].

RASSF1A et RAS activées ont donc un effet réciproque sur l'expression de certains gènes, ce qui suggère leur implication dans la même voie mais via des effets opposés [81].

Le gène BRCA1 :

Impliqué dans la réparation des lésions de l'ADN. Des mutations perturberaient ainsi son fonctionnement et accroîtraient le risque de tumeur. Néanmoins, c'est la première fois que ce même gène soit impliqué dans le risque de cancer du poumon (25%) [84].

III-1-3- L'instabilité génétique

- **Pertes d'allèles en 3p :**

Une des altérations génétiques les plus communes dans les carcinomes broncho-pulmonaires, quel que soit leur type histologique, est la perte d'allèles dans la région p14-23 du chromosome 3, observée dans près de 80 % des CPNPC et des CPPC [71].

Cette région chromosomique contient plusieurs gènes-suppresseurs candidats, dont FHIT, RASSF1 et SEMA3B. FHIT est localisé dans une région chromosomique hautement fragile, propice à la formation de délétions sous l'effet direct des agents cancérigènes de la fumée du tabac [74].

- **Régions chromosomiques 9p21 :**

Des pertes alléliques en 9p21 ont également été rapportées dans les lésions épithéliales pré malignes et dans les cellules bronchiques normales.

La région chromosomique 9p21 contient le locus p16INK4a/p14ARF/p15INK4b, les protéines de la famille INK4 telles que p15 et p16 sont des inhibiteurs des kinases 4 et 6 cyclines - dépendantes et sont donc des suppresseurs de tumeurs qui inhibent la croissance cellulaire. P16 est inactivée dans plus de 40 % des CPNPC, soit par perte d'hétérozygotie, soit par hyper méthylation du gène [71].

Les inactivations de p16 ne sont pas significativement plus fréquentes dans les CPNPC chez les fumeurs que chez les non-fumeurs mais les inactivations par mutations ponctuelles semblent plus fréquentes chez les fumeurs [81].

- **L'instabilité chromosomique :**

Les altérations génétiques sont nécessaires à la conversion de cellules épithéliales bronchiques normales en cellules cancéreuses malignes [82]. Parmi ces altérations, beaucoup sont communes aux deux groupes histologiques principaux: les cancers bronchiques non à petite cellules et les cancers du poumon à petites cellules:

Type du cancer \ Parte ou gain	Parte des chromosomes	Gain des chromosomes
CBNPC	3p, 6q, 8p, 9p, 9q, 13q, 17p, 18q, 19p, 21q, 22q.	1p, 1q, 3q, 5p, 7p, 7q, 8q, 11q, 12q.
CBPC	3p, 4p, 4q, 5q, 8p, 10q, 13q, 17p.	3q, 5p, 8q, 19q, Xq.

Tableau 05 : les altérations cytogénétiques fréquentes dans les cancers du poumon [83].

III-1-4- Activation de la télomérase

Des anomalies de la télomérase sont fréquemment (> 50 %) retrouvées augmentées dans les CBNPC agressifs empêchant ainsi le raccourcissement chromosomique survenant au cours de la division cellulaire et donc l'apoptose [71].

III-2- Les autres facteurs de susceptibilité génétique au cancer du poumon

L'exemple du polymorphisme C677T du gène de la méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR).

La Méthylène TétraHydrofolate Réductase (MTHFR) :

La MTHFR une enzyme clé dans le métabolisme des folates, elle catalyse la conversion irréversible du 5,10-méthylène tétrahydrofolate en 5-méthyl tétrahydrofolate en utilisant le NADPH comme coenzyme [85].

Elle permet ainsi de maintenir le pool de folates et de méthionine circulants et de prévenir une éventuelle augmentation de la concentration en homocystéine.

La MTHFR assure les processus de méthylation de l'ADN, de protéines, de neurotransmetteurs et de phospholipides. En fait la méthylation de l'ADN joue un rôle primordial dans la régulation de l'expression des gènes et le maintien de la stabilité génomique. La MTHFR est également impliquée dans la production de dTMP, via la synthèse

de purines [86]. La MTHFR est donc un élément essentiel à la provision de nucléotides nécessaires à la synthèse d'ADN, et sa réparation [87].

III-2-1- Le gène de la MTHFR

III-2-1-1- Structure du gène MTHFR

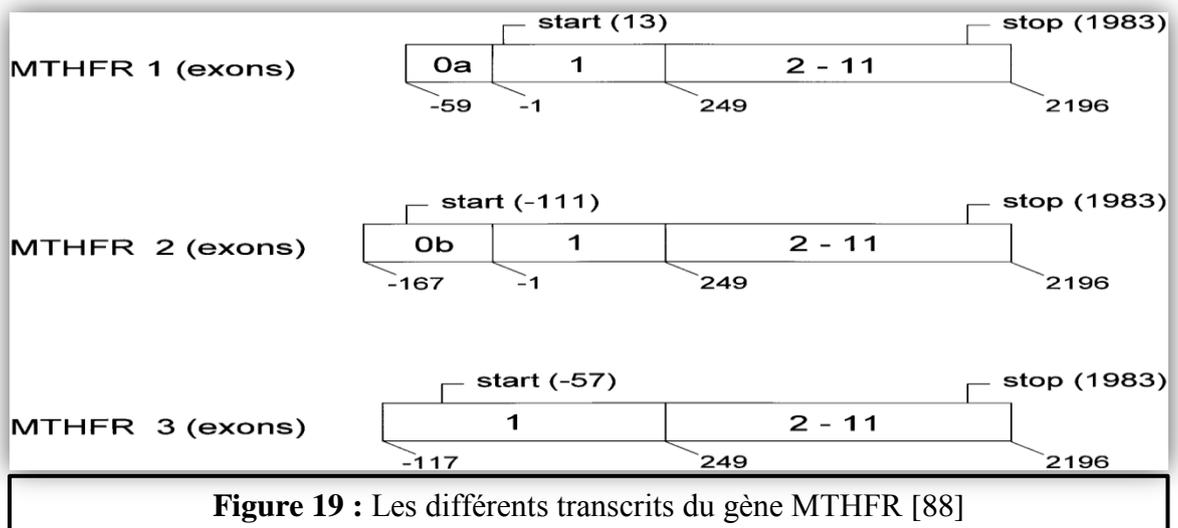
L'ADNc de ce gène fait approximativement 2.2 kb de longueur et est constitué de 13 exons rangés selon leur taille de 103 paires de bases jusqu'à 432 paires de base.

Les tailles des introns sont rangées de 250 paires de bases jusqu'à 1.5 kb avec une exception d'un intron de 4.2 kb.

Le promoteur de ce gène ne contient pas de TATA box, mais contient des îlots CpG, une région CAAT et des sites de liaison pour les différents facteurs de transcription tels que SP1, AP1 et AP2.

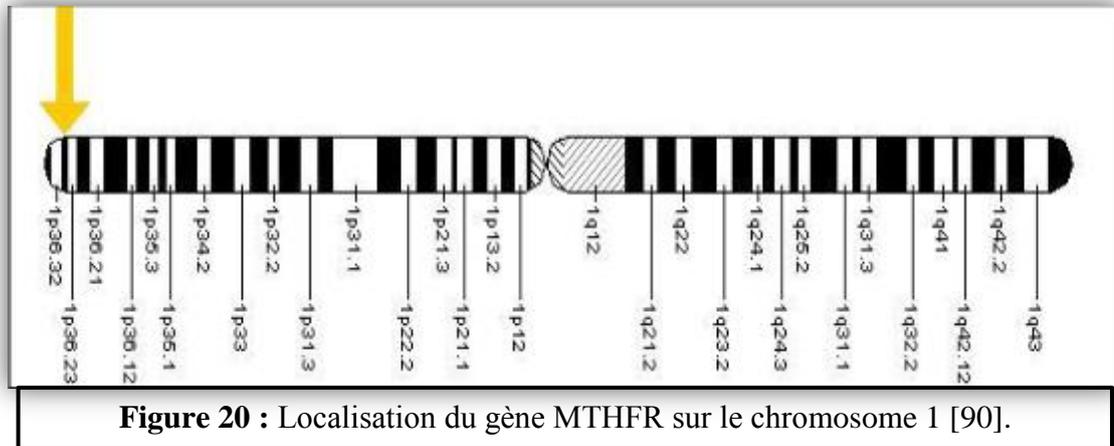
Sur l'exon 1 du gène, il y a un site d'épissage alternatif. La région UTR est longue, montrant la complexité dans la régulation de ce gène. L'exon 11 contient le codon de terminaison. L'extrémité 3' de cet exon est le siège de multiples sites de polyadénylation [87].

La transcription du gène MTHFR produit 4 variantes du transcrite du gène MTHFR, MTHFR1 qui se présente sous deux formes, MTHFR 2 et MTHFR 3 qui diffèrent par leur région 5'. La diversité de ces transcrits du gène est due à l'épissage alternatif au moment de la transcription primaire ou au cours de l'épissage des 3 premiers exons. Trois polypeptides de 657 acides aminés sont à partir de ces trois variant [87].



III-2-1-2- Localisation du gène de la MTHFR

Le gène de la MTHFR est localisé sur le bras court (p) du chromosome 1 en position 36.3 (1p36.3), Plus précisément dans la région des paires de bases 11.769.246 jusqu'à 11.788.568 du chromosome 1 [89].



III-2-2- La protéine MTHFR

C'est une protéine comportant 656 acides aminés présente dans le cytoplasme. C'est un dimère de 150 kDa comprenant deux isoformes de tailles variables: 77 kDa et 70 kDa. Son poids moléculaire exact est de 74597 Da. Elle est localisée dans la rate, les ganglions lymphatiques et la moelle osseuse [91].

III-2-2-1- Structure de la protéine MTHFR

La protéine est composée :

D'un domaine catalytique: représenté par l'extrémité N-terminale de poids moléculaire de 40 KDa, présentant un site de liaison pour le coenzyme FAD.

Un domaine régulateur: à l'extrémité C terminale de poids moléculaire de 37 KDa. Entre ces deux domaines se trouve une forte région hydrophobe avec une séquence d'acides aminés Lys-Arg-Arg-Glu-Glu constituant un site de clivage par la trypsine, où se lie l'inhibiteur allostérique, la SAM.

La protéine s'exprime fortement dans les testicules, modérément dans le cerveau et les reins et faiblement dans les autres tissus. Une isoforme plus petite de cette protéine, approximativement de 70 KDa, a été retrouvée dans certains tissus [91].

III-2-2-2- Fonction de la protéine MTHFR

III-2-3- Les polymorphismes du gène MTHFR

Il existe deux polymorphismes courants et bien décrits du gène MTHFR. Il s'agit du polymorphisme C677T et A1298C responsables de la synthèse d'une forme thermolabile de la protéine MTHFR.

Le variant génétique C677T est associé à des maladies cardiovasculaires, à des anomalies de la coagulation et à des malformations congénitales.

Les personnes avec le génotype homozygote 677TT de la MTHFR ont une activité enzymatique de moins 40 % par rapport à ceux ayant l'allèle sauvage, tandis que l'activité de l'enzyme est de moins 70 % chez les personnes homozygote T677T [94].

Un autre polymorphisme important, bien étudié dans le gène MTHFR, est le polymorphisme A1298C de l'exon 7. Le polymorphisme A1298C diminue également l'activité de la MTHFR mais pas autant que le C677T [94].

III-2-3-1- Polymorphisme C677T

Frosst P et al. (1995) ont identifié une mutation commune la C677T provenant du remplacement d'une cytosine en position 677 par une thymine, et à l'origine de la substitution d'une alanine par une valine en position 222 de la protéine. Cet allèle est communément appelée thermolabile parce que son activité diminue au-dessus de 37°C [95].

Le polymorphisme C677T provoque le changement de l'acide aminé localisé au niveau du site de liaison du cofacteur de l'enzyme MTHFR, le cofacteur FAD.

Ce polymorphisme facilite la séparation de l'enzyme de son cofacteur, et par conséquent, la diminution de l'activité enzymatique [97].

Les résultats rapportés dans diverses études se sont concentrées sur le rôle du polymorphisme MTHFR dans la susceptibilité à différents cancers. Ces études ont montré des résultats contradictoires.

L'association de ce polymorphisme C677T de la MTHFR au cancer du poumon est controversée certaines études ont démontré qu'il est associé et d'autres l'on infirmé [95]:

- Allèle normal

Séquence génétique: GCG GGA GCC GCC GAT

Séquence protéique : Ala Gly Ala **Ala** Asp

- Allèle muté

Séquence génétique : GCG GGA GCC GTC GAT

Séquence protéique : Ala Gly Ala **Val** Asp

III-2-3-2- Polymorphisme A1298C

Il s'agit d'une mutation résultant en une substitution d'un glutamate au lieu d'une alanine, au niveau du codon 429 (E429A) de la protéine MTHFR. La protéine résultante est caractérisée par une diminution modérée de son activité enzymatique (60%).

Contrairement aux individus avec la mutation C677T, les homozygotes et les hétérozygotes pour ce polymorphisme A1298C ne présentent pas des concentrations basses en folates. L'association des deux variantes génétiques C677T et A1298C chez les mêmes sujets présente un profil similaire à celui présent chez les homozygotes C677T de la MTHFR avec une élévation des concentrations d'homocystéine et une diminution des concentrations en folates. La présence simultanée des deux variantes génétiques, le C677T et A1298C, est associée à des maladies cardiovasculaires, à divers types des cancers, à des anomalies de la coagulation et à des malformations congénitales [96].

III-2-3-3- Les autres polymorphismes

Un défaut d'activité de la protéine 5,10 MTHFR avec une activité résiduelle est dû à plusieurs autres polymorphismes. La majorité d'entre eux sont découverts chez seulement une ou deux familles, il s'agit des polymorphismes T1317C, G1793A, T1081C, A983G, G1027T, T1084C et T1711C [82]. Certains de ces polymorphismes ont été décrits en association avec le polymorphisme C677T et ceux-ci diminuent l'activité enzymatique de la protéine MTHFR de façon remarquable, alors que d'autres n'altèrent pas la séquence des acides aminés et leur rôle n'est pas bien décrit [98].

III-3- La MTHFR et le cancer du poumon

La MTHFR joue un rôle central dans la fourniture de groupements méthyles par la réduction du 5,10-méthylène-tétrahydrofolate en 5-méthyl-tétrahydrofolate, la forme circulante dominante du folate qui sert de substrat pour la reméthylation de l'homocystéine en méthionine avec production subséquente de S-adénosylméthionine, le donneur universel du groupe méthyle, nécessaire pour la méthylation d'ADN [98]. Le fragment de 198 pb de la MTHFR contenant la substitution des paires de bases C >T au niveau du nucléotide 677 crée un site de restriction Hinf I. À ce jour, plusieurs études ont démontré que le polymorphisme C677T de la MTHFR est associée soit à une augmentation ou une diminution du risque de

cancer du poumon, alors que d'autres n'ont observé aucune association entre le génotype MTHFR C677T et la prédisposition génétique au cancer du poumon [99].

III-3-1- Le polymorphisme C677T de la MTHFR et l'hyperhomocystéinémie (Hcy)

Il est décrit que le polymorphisme C677T du gène de la MTHFR est associé à des concentrations élevées d'Hcy [100]. Dans la voie de la reméthylation de l'Hcy, le groupement méthyl est apporté par le 5-méthyltétrahydrofolate qui est sous la dépendance de la 5,10-MTHFR. La mutation C677T du gène MTHFR engendre une diminution de l'activité enzymatique et une augmentation de la thermolabilité de la protéine MTHFR et ainsi perturbe l'apport du groupement méthyl nécessaire pour la reméthylation de l'Hcy en méthionine et donc sera responsable d'une augmentation des taux d'Hcy.

La forme hétérozygote s'observe chez 43% de la population arabe et s'accompagne d'une hyperhomocystéinémie modérée ou de degré intermédiaire. La forme homozygote 677TT s'observe aux alentours de 10%, et entraîne une hyperhomocystéinémie sévère et des complications vasculaires redoutables et des cancers [101].

III -3-2-Le polymorphisme C677T de la MTHFR, méthylation et synthèse de l'ADN

En présence de la mutation C677T du gène de la MTHFR, l'affinité de l'enzyme pour la FAD est abaissée, et sa stabilité dégradée, entraînant une diminution de 5méthyl THF. Dès lors, une relation entre certains néoplasies et cette mutation C677T a été recherchée avec des résultats souvent contradictoires [100].

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

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

Des études diverses ont associé la MTHFR à différents type de cancers. Actuellement, les travaux ont montré qu'il semblerait qu'un déséquilibre au niveau du cycle du folate pourrait affecter la stabilité de l'ADN par les deux voies dans lesquelles il intervient. Le 5,10-méthylènetétrahydrofolate est un donneur de groupes méthyles pour l'uracile afin que celui-ci soit converti en thymine, utilisé alors pour la synthèse et la réparation de l'ADN.

Si le taux de folate est limité, un déséquilibre dans le panel des précurseurs de l'ADN pourrait mener à l'incorporation de l'uracile à la place de la thymine au niveau de l'ADN, ce qui pourrait par conséquent engendrer des cassures dans les deux brins de l'ADN, cela pourrait être à l'origine des dommages chromosomiques et du cancer.

D'un autre côté, le folate affecte l'expression des gènes par la régulation cellulaire de S- adénosyl-méthionine (SAM). Le 5-méthyl-tétrahydrofolate est un donneur de méthyle pour la reméthylation de l'homocystéine en méthionine, qui à son tour est converti en SAM.

Le SAM méthyle des cytosines spécifiques au niveau de l'ADN, régulant ainsi la transcription des gènes. Par conséquent, une diminution cellulaire de SAM, suite à une défaillance au niveau du folate, induirait une hypométhylation de l'ADN et potentiellement l'expression de proto-oncogènes responsables de la survenue du cancer. De plus, le rôle des polymorphismes du gène MTHFR dans la carcinogenèse semble dépendre des types de cellules et des organes impliqués [99].

Partie pratique

IV-1-Patients

Notre étude est de type cas témoins. Elle a été réalisée au niveau du laboratoire de biologie et de génétique moléculaire de la faculté de médecine université de Constantine 3, des services de radio et chimiothérapie, de pneumologie du CHU de Constantine durant la période Mars-Mai 2016. Elle a porté sur deux types de population: Une population de 101 témoins présumés sains et une population de 31 patients présentant un cancer du poumon.

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

IV-1-1-1- Recrutement des patients

Il s'agit de 31 patients des deux sexes atteints d'un cancer du poumon, âgés entre 42 et 82 ans, admis au niveau du CHUC essentiellement au niveau du service d'onco-radiothérapie et du service de la pneumologie. Des critères d'inclusions et d'exclusions pour les patients:

IV-1-1-1-1- Critères d'inclusions

-Pour les patients, nous avons inclus dans notre étude 31 patients de l'Est algérien, présentant un cancer du poumon prouvé histologiquement.

IV-1-1-1-2- Critères d'exclusions

Tous les patients présentant tout autre cancer, les patients ayant été transfusés et les patients ayant refusé le prélèvement

IV-1-1-2- Recrutement des témoins

Les témoins au nombre de 101 sont issus de la population générale. Il s'agit de sujets présumés en bonne santé des deux sexes, âgés de 10 à 70 ans, originaires de l'Est algérien sans antécédent personnel ou familial de cancer.

IV-1-2- Questionnaire et enregistrement des patients

✓ Questionnaire :

Un interrogatoire a été effectué pour chaque patient afin de recueillir les données essentielles à notre étude (voir le questionnaire en annexe 04).

✓ Consentement :

Afin de réaliser les prélèvements de sang des malades, chaque patient doit tout d'abord formuler son consentement (voir le consentement en annexe 05).

IV-1-3- Prélèvements sanguins

Les prélèvements ont été effectués au centre anti cancers de Constantine et au service de la pneumologie.

Le prélèvement sanguin préconisé pour l'extraction de l'ADN est recueilli stérilement dans un tube contenant de l'EDTA (une quantité de 6 à 10 ml), et nous n'avons pas prélevé sur un tube contenant de l'héparine parce que c'est un inhibiteur de la Taq polymérase.

Les différentes étapes de prélèvement :

- ♣ Choix du site du prélèvement
- ♣ Choix de l'aiguille du prélèvement (aiguille simple en cas d'un prélèvement sur veine normale, un adaptateur en cas d'un prélèvement sur cathéter)
- ♣ Mise en place d'un garrot au moment de la ponction veineuse
- ♣ Désinfection soigneuse du site de ponction
- ♣ Réalisation de la ponction veineuse
- ♣ Identification du tube (nom, prénom du sujet prélevé, type et lieu du prélèvement).

IV-2- Méthodes

Le sang ainsi prélevé, est acheminé directement au laboratoire central de biochimie, pour l'analyser.

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

Toutes les études génétiques nécessitent la disposition d'échantillons d'acides nucléiques. Les leucocytes sanguins représentent la source majeure d'ADN. Dans notre étude, l'ADN génomique a été extrait en utilisant un solvant inorganique le NaCl (annexe 03).

IV-2-1-1- Principe

L'extraction de l'ADN s'est faite en trois étapes; la préparation du culot de leucocytes, l'extraction de l'ADN proprement dit et enfin la solubilisation.

➤ Préparation des leucocytes

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

➤ Extraction de l'ADN :

- Décongeler les leucocytes.
- Centrifuger pendant 15 min à 3900 rpm
- Dilacérer le culot de leucocytes soigneusement afin de les prendre complètement et les mettre dans un tube Falcon conique de 15 ml.
- Ajouter 3 ml de tampon de lyse (NaCl 400 mM, EDTA 2mM, Tris 10mM, PH 8.2)
- Ajouter 200 µl de SDS à 10% (100 g SDS + 1000 ml H₂O)
- Ajouter 100 µl de PK à 10 mg / ml.
- Dans l'étuve, Agiter le tube sur une roue rotative à 37°C pendant une nuit.
- Le lendemain; refroidir dans la glace.
- Ajouter 1 ml de NaCl 4 M et agiter rigoureusement à la main.
- Remettre 5 min dans la glace (précipitation des protéines).
- Centrifuger 15 min à 2500 rpm.
- Transvaser le surnageant dans un tube falcon de 50 ml, ajouter 2 fois son volume d'éthanol absolu (100%) préalablement refroidi et agiter en tournant le tube plusieurs fois: la formation de la méduse visible à l'œil nu. Laisser éventuellement 30 min à -20°C si la pelote d'ADN ne se forme pas.
- Récupérer la pelote d'ADN par une pipette pasteur et la rincer 2 fois dans l'éthanol à 70% dans un tube nunc ou dans un eppendorf stérile.

➤ Solubilisation de l'ADN:

- L'ADN est réhydraté en ajoutant entre 300 et 1000 μL de TE 10:1 selon la grosseur de la pelote et la concentration souhaitée.
- Laisser une nuit sur agitateur rotateur à 37°C , puis à température ambiante jusqu'à dissolution complète (de 1 jusqu'à 3 jours).

IV-2-2- Détermination de la pureté de l'ADN

L'ADN absorbe à 260 nm alors que les protéines (témoins de contamination) absorbent à 280 nm.

-L'échantillon est dilué au 1/100 dans l'eau distillée (10 μL de l'ADN solubilisé dans 990 μL de l'eau stérile).

-Les DO sont lues à 260 et 280 nm dans le même type de cuve que celle ayant servi à faire le zéro (eau stérile).

-Par le calcul du rapport $\text{DO } 260 \text{ nm} / \text{DO } 280 \text{ nm}$, la pureté de l'ADN est déterminée indiquant ainsi si la qualité de l'ADN extrait: pure ou contaminé par les protéines ou par les ARN.

On considère que :

• L'ADN est suffisamment pur lorsque le rapport $R = \text{DO}260 / \text{DO}280$ est compris entre 1,6 et 2 ($1,6 < R \leq 2$).

• L'ADN est contaminé par les protéines si: $\text{DO}260 / \text{DO}280 < 1,6$.

• L'ADN est contaminé par les ARN si: $\text{DO}260 / \text{DO}280 > 2$.

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

IV-2-3- Détermination de la concentration de l'ADN

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

A 260 nm une unité de densité optique correspond à :

-50 mg / ml pour une solution d'ADN double brin

-250 mg / ml pour une solution d'ADN simple brin.

<p><i>1 unité de DO260 nm = 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ d'ADN double brin.</i></p>
--

Exemple :

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

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

0,139 de $\text{DO}_{260\text{ nm}}$ X

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

Considérant que l'ADN est dilué à 1/100 (10 ml de l'ADN dilué dans 990 ml d'eau stérile),

Donc $6,95 \times 100 = 695 \mu\text{g}/\text{ml}$.

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

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

IV-2-4- Génotypage de la MTHFR

Il a consisté en l'amplification d'une partie de l'ADN contenant une partie du gène, puis de différencier les génotypes par digestion par une enzyme de restriction spécifique.

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

- La PCR et contrôle de PCR sur gel d'agarose.
- La digestion du produit de PCR par l'enzyme de restriction Hinf I.
- La séparation des produits de digestion par migration électrophorétique sur un gel d'agarose et distinction des différents génotypes par transillumination sous UV.

IV-2-5- PCR ou amplification de l'exon 4 du gène de la MTHFR

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

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

Pour préparer le milieu réactionnel (voir l'annexe 06), multiplier la quantité de chaque composant par le nombre de tubes voulu plus un, c'est le tube témoin négatif dans lequel on met uniquement le mélange réactionnel sans ADN.

L'ADN est amplifié par PCR avec deux amorces encadrant la région contenant les deux codons polymorphes correspondant à l'acide aminé 222 de la protéine MTHFR.

➤ Déroulement des cycles de la PCR

Chaque cycle de la PCR repose sur trois étapes indispensables: Dénaturation, hybridation et élongation. Les références des amorces utilisées pour l'amplification sont mentionnées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 06 : Amorces utilisées pour l'amplification de l'exon 4 de la MTHFR.

Amorces	Séquence (5'→3')	Nucléotide de départ	Taille de la région amplifiée (pb)
Forward (F)	TGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGGA	770	198
Reverse (R)	AGGACGGTGCGGTGAGAGTG	968	

Tableau 07 : Programme du thermocycleur utilisé pour l'amplification

Processus	Température (°C)	Temps	Cycles
Dénaturation initiale	94	05 minutes	1
Dénaturation	94	30 secondes	30
Hybridation	65	30 secondes	
Élongation	72	40 secondes	
Élongation finale	72	10 minutes	1

IV-2-6- Contrôle des produits de la PCR

Le contrôle de la taille des fragments amplifiés s'est effectué par une électrophorèse sur un gel d'agarose à 1,5 % additionné de 10 µL de BET. Ce dernier est un agent intercalant qui se fixe entre les bases de l'ADN à l'intérieur de la double hélice et qui rendra les ADN fluorescents par exposition aux UV (le gel est ensuite coulé sur plaque d'une cuve horizontale).

Dans chaque puits du gel, il est déposé :

-10 µL de produit d'amplification + 3 µL BBP, qui permet de suivre le front de migration.

-3 µL de marqueur de taille (PM 100pb) +10 µL H₂O +2µl BBP.

Les dépôts se font du côté de la cathode (-). Le système est soumis à une migration sous un courant de 60 à 120 volts pendant 45 min Cette analyse permet aussi, d'observer si une éventuelle contamination de l'ADN est survenue au cours de la PCR.

Après la migration, le gel est soumis au rayon UV. Les molécules de bromure d'éthidium fixées à l'ADN émettent une lumière visible et photographiable et permettent de visualiser les fragments amplifiés sous forme de bandes fluorescentes de même taille (Figure 22). Ce control permet aussi de vérifier si une éventuelle contamination de l'ADN est survenue au cours de la PCR grâce au puits contenant le blanc (témoin négatif : T).

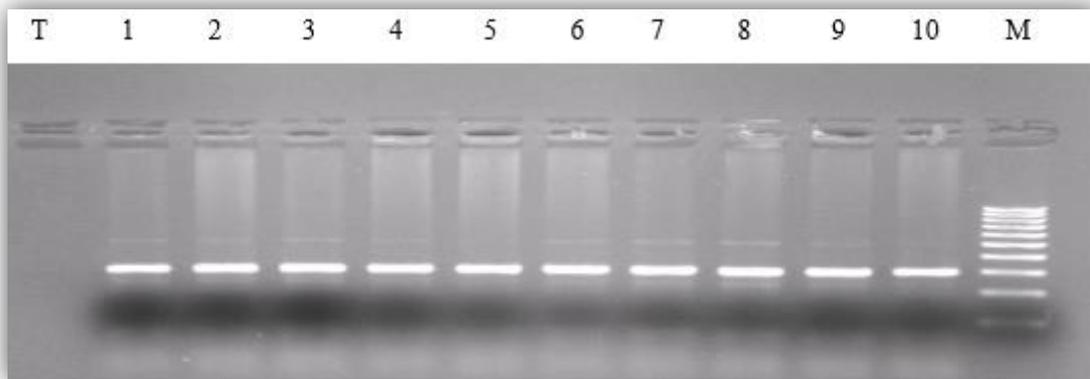


Figure 22 : Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose 1,5 % des fragments amplifiés (198 Pb) par PCR du gène MTHFR

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

L'HinfI est une enzyme de restriction produite par la bactérie *Haemophilus influenzae*. Elle reconnaît et clive la séquence G/ANTC codant pour l'Alanine en position 222.



Figure 23 : site de restriction par l'enzyme Hinf I

Les produits de la PCR sont soumis à une digestion enzymatique par HinfI. Ils sont incubés pendant une nuit dans une étuve à 37°C. Après incubation, ils sont concentrés. Une préparation du milieu de digestion par l'enzyme Hinf I pour le nombre de tubes voulu + 1 témoin (Voir l'annexe 07) ;

- Conditions de migration
 - Préparation des gels d'agarose : un gel d'agarose à 3 % a été préparé comme suit :
 - Mélanger 100 ml de tampon TBE, 1X avec 2 g d'agarose
 - Faire fondre l'agarose au four à micro-ondes pendant 4 à 6 minutes jusqu'à ce qu'il devienne homogène.
 - Ajouter 10 µL de BET,
 - Le gel est ensuite coulé lentement,
 - Il est laissé à refroidir, ensuite enlever le peigne. Le gel sera prêt ainsi pour le dépôt des échantillons.

➤ Dépôts des échantillons :

Quand le gel est polymérisé, plonger le gel dans la cuve horizontale contenant un volume (450ml) de tampon (Tris Borate EDTA (TBE 1 X)). Après avoir ôté le peigne, il faut déposer délicatement au fond de chaque puits un échantillon. Nous déposons dans chaque puits du gel 12 à 14 μ L du produit digéré et 3 μ L du bleu de Bromophénol.

➤ Migration :

La migration se fait en parallèle avec un marqueur de taille , à un voltage de 80 volts.

IV-2-8- Révélation du profil électrophorétique

Le BET fluorescent aux UV fixé sur l'ADN et va permettre de visualiser les fragments de restriction dans le gel placé sous UV.

Lorsqu'on obtient une séparation nette des différents fragments du marqueur (après 2h30 mn), le gel est photographié après transillumination aux UV.

➤ Profils RFLP obtenus :

Ce polymorphisme, noté C677T, correspond à une substitution d'une cytosine par une thymine en position 677 dans la séquence nucléotidique et qui, se traduit dans la séquence protéique par la substitution d'une alanine par une valine sur le codon 222.

La digestion enzymatique de l'amplification de la MTHFR par la Hinf I a donné des fragments; 175 pb, 198 pb et 23 pb:

Le premier apparaît sur le profil électrophorétique sous forme d'une seule bande qui correspond au type homozygote muté (TT).

Le deuxième apparaît aussi sous forme d'une seule bande, il s'agit du type homozygote sauvage (CC). Les deux bandes ensemble, correspondent au type hétérozygote (CT).

Le troisième n'est pas visible à cause de son intensité trop faible.

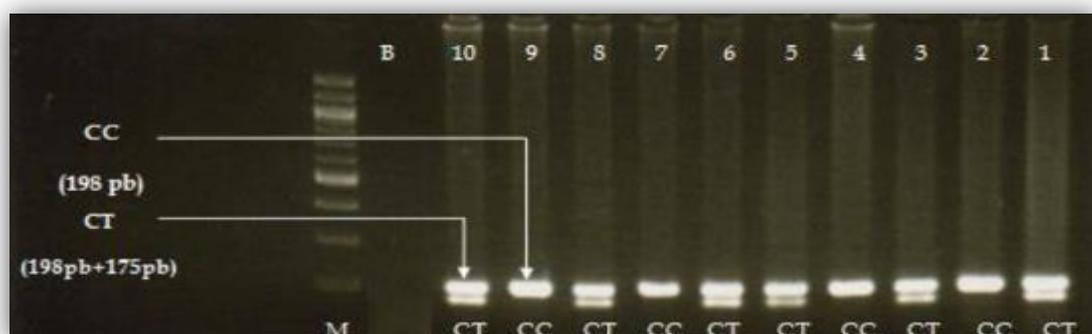


Figure 24 : Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose des fragments issus par clivage de HinfI présentant différents génotypes d'MTHFR.

IV-3- L'étude statistique

IV-3-1- Calcul des moyennes

La moyenne arithmétique \bar{X}

$$\bar{X} = \Sigma (ni xi)/n \text{ si } n > 30$$

$$\bar{X} = \Sigma (ni xi)/ (n -1) \text{ si } n \leq 30$$

IV-3-2- Calcul des écarts types

L'écart type = $\delta = \sqrt{\text{Variance}} = \sqrt{\Sigma (\bar{X}-X)^2 / N -1}$. Si $n \leq 30$

L'écart type = $\delta = \sqrt{\text{Variance}} = \sqrt{\Sigma (\bar{X}-X)^2 / N}$. Si $n > 30$

Les variables quantitatives sont décrites par la moyenne ± 1 écart type, sauf exception qu'on précisera dans le texte.

IV-3-3- Calcul des odds ratios

Pour calculer l'odds ratio, nous avons établi un tableau de contingence. Il est présenté sous forme de tableau croisé 2x2. Le statut malade/non malade des sujets de l'étude est présenté en colonne et le caractère exposé/non exposé en ligne.

	Malades	Témoins	Total
Exposée (E+)	a	b	a+d
Non exposés (E-)	c	d	c+d
Total	a+c	b+d	a+c+b+d

- Le rapport des cotes d'exposition qui est l'Odds ratio (Exposure Odds ratio)

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

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

IV-3-4- Les intervalles de confiance

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

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

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

Le seuil critique à priori est de 0.05 (risque) .Si la valeur de p calculée à postériori 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.

Le seuil 0.01 doit être choisi lorsqu'en complément d'une étude épidémiologique descriptive, on teste le lien entre deux variables sans que l'on puisse a priori argumenter quand il existe une relation logique entre ces variables.

Les résultats

V-1-Répartition des témoins

V-1-1-Selon le sexe

Tableau 09 : Répartition des témoins selon le sexe.

Sexe	Effectifs	Fréquences (%)
Masculin	52	51.49
Féminin	49	48.51
Total	101	100

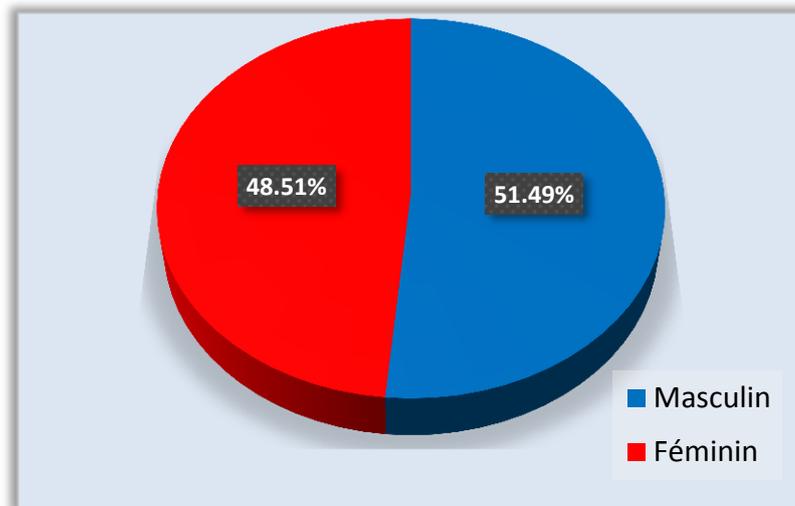


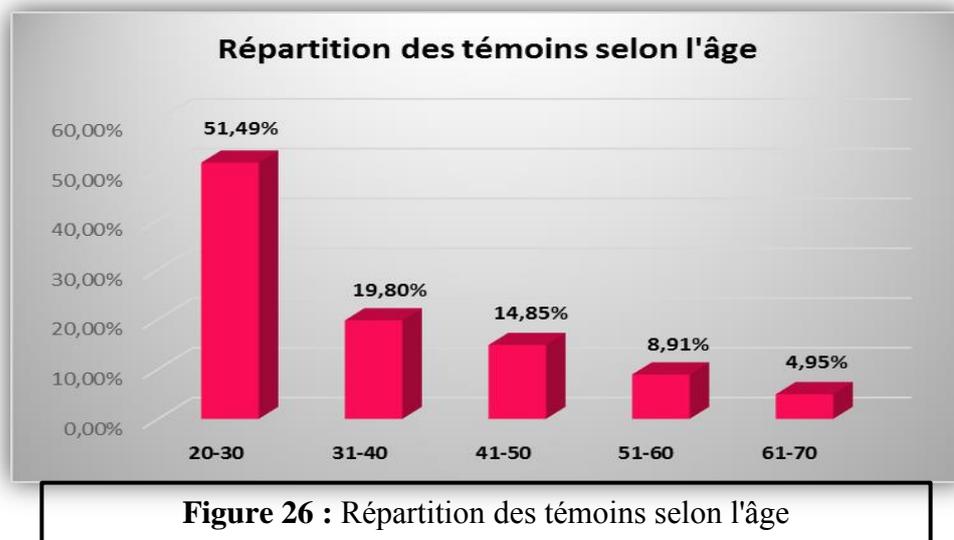
Figure 25 : Répartition des témoins selon le sexe

Les sujets témoins sont au nombre de 101 répartis en 52 hommes soit 51.49% et 49 femmes soit 48.51% avec un sex ratio H/F de 1.06
 $p=0.46$ la différence n'est pas significative.

V-1-2-Selon l'âge

Tableau 10 : Répartition des témoins selon l'âge

Tranches d'âge	Effectifs	Fréquences (%)
20-30	52	51.49
31-40	20	19.80
41-50	15	14.85
51-60	09	8.91
61-70	05	4.95
Total	101	100



La moyenne d'âge de notre population d'étude est de 34.90 ± 12.06 ans chez les femmes et 33.54 ± 13.63 ans chez les hommes.

Il n'y a pas de différence significative entre l'âge moyen des deux sexes dans notre population P-value = 0.59941.

La répartition des témoins selon l'âge montre une fréquence plus élevée de la tranche d'âge 20-30 ans suivie de la tranche d'âge 31-40 ans. Les autres tranches d'âge sont faiblement représentées.

V-1-3- Répartition des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme C677T de la MTHFR chez les témoins

V-1-3-1- Fréquences génotypique du polymorphisme C677T de la MTHFR

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

Les fréquences des deux allèles C et T et les fréquences génotypiques homozygotes C677C (Val/Val), les hétérozygotes C677T (Val/Ala) et homozygotes T677T (Ala/Ala) ont été calculées dans la population témoins.

Tableau 11 : Répartition des témoins selon le génotype.

Génotype	Effectif	Fréquences (%)
C/C	41	40.60
C/T	53	52.47
T/T	07	6.93
Total	101	100

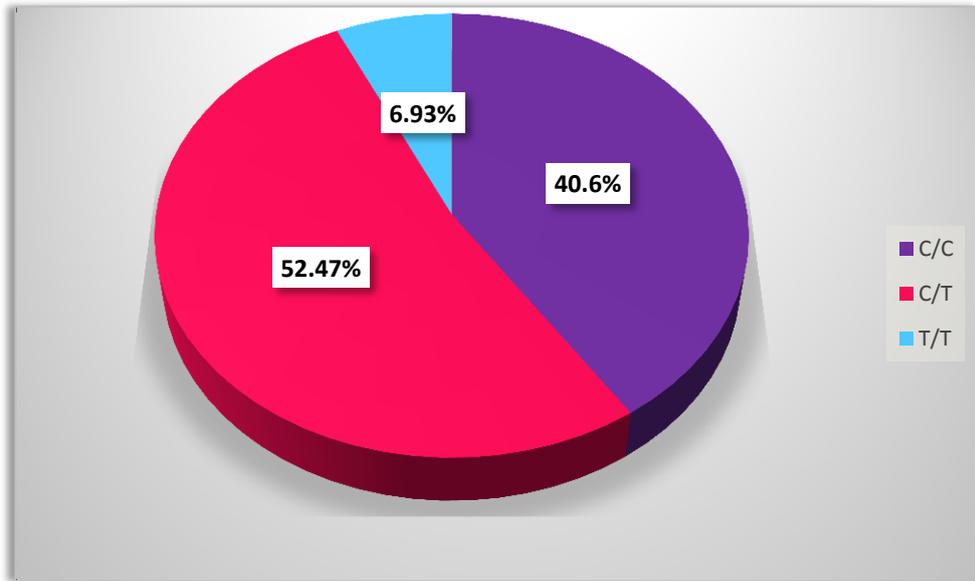


Figure 27 : Répartition des fréquences génotypiques chez les témoins.

40.60% de la population témoins sont homozygotes C/C, 52.47% sont hétérozygotes C/T et 6.93% sont des homozygotes T/T.

V-1-3-2- Fréquence allélique du polymorphisme C677T de la MTHFR

Tableau 12 : Répartition de la population selon la fréquence allélique C ou T

allèle	Effectif	Fréquences (%)
C	135	66.84
T	67	33.16
T+C	202	100%

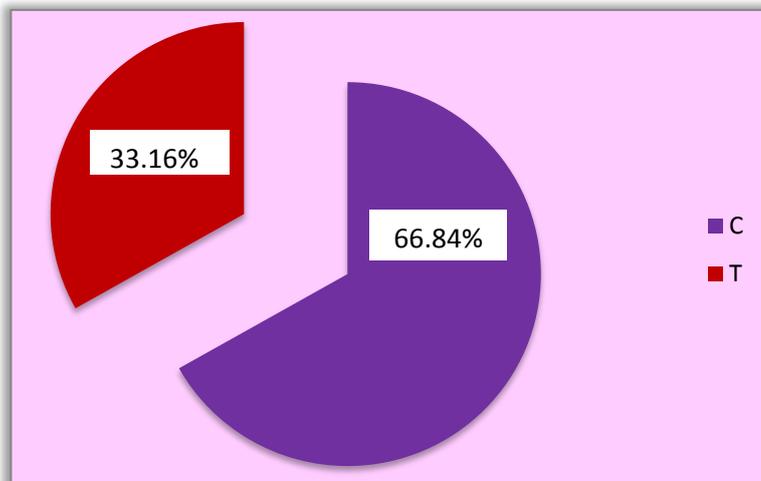


Figure 28 : Répartition de la population selon les fréquences alléliques C et T

V-2- Répartition des patients

V-2-1- Selon le sexe

Tableau 13 : Répartition des patients selon le sexe

sexe	Effectifs	Fréquences (%)
Masculin	26	83.87
Féminin	05	16.13
Total	31	100

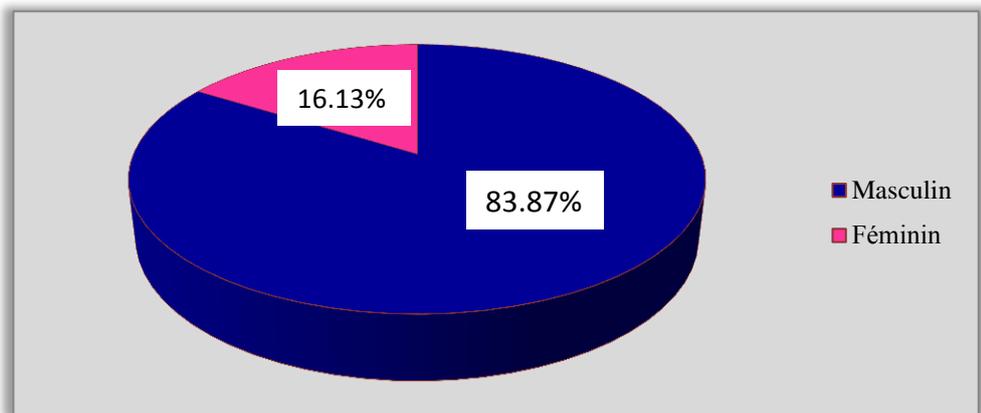


Figure 29 : Répartition des patients selon le sexe.

La répartition des patients selon le sexe a montré une prédominance du cancer du poumon chez les hommes que chez les femmes avec un sex ratio de 5.2.

V-2-2- Selon l'âge

Les patients ont été regroupés en tranche d'âge de 10 ans allant de 42 ans jusqu'à 82 ans.

Tableau 14 : Répartition des patients selon l'âge.

Tranches d'âge	Effectifs	Fréquences (%)
42-52	05	16.13
52-62	12	38.71
62-72	07	22.58
72-82	07	22.58
Total	31	100

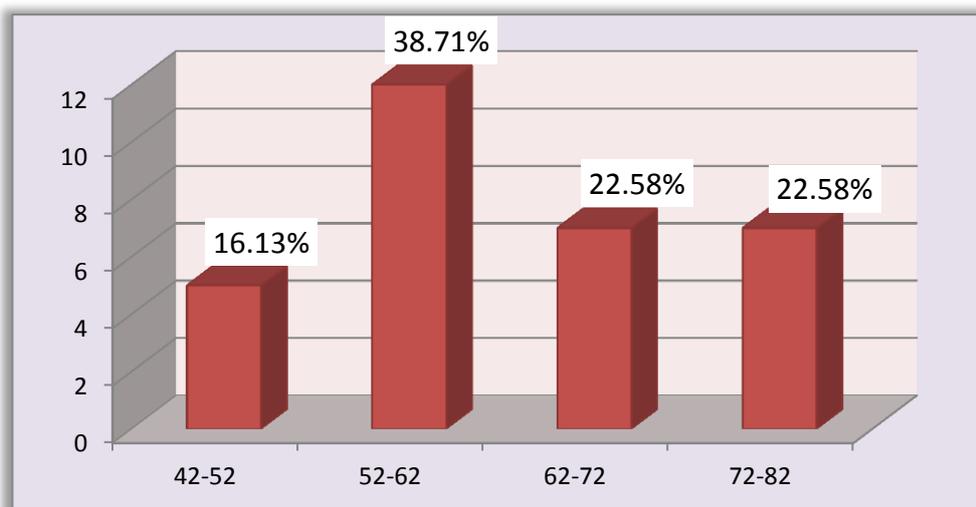


Figure 30 : Répartition des patients selon l'âge

La tranche d'âge la plus touchée est celle de 52-62 ans.

V-2-3- Selon l'âge et le sexe

Tableau 15 : Répartition des patients selon le sexe et l'âge

Age	Hommes		Femmes	
	Nombre	%	Nombre	%
42-52	04	15.38	01	20
52-62	09	34.62	03	60
62-72	07	26.92	00	00
72-82	06	23.08	01	20
Total	26	100	05	100

L'âge moyen de la population malade était de 57 ± 10.72 ans chez les femmes et de 62.54 ± 10.35 ans chez les hommes avec des valeurs extrêmes de 52 à 62 ans.

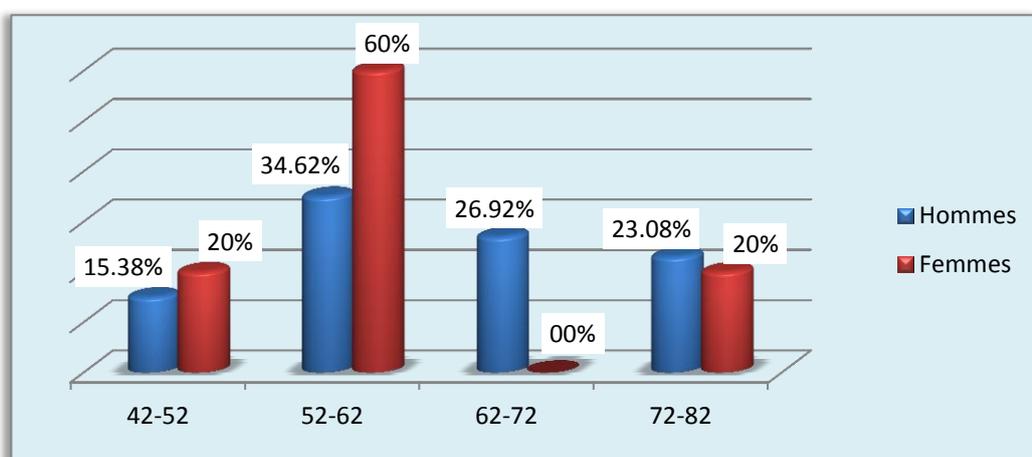


Figure 31 : Répartition des patients selon le sexe et l'âge

V-2-4- Selon la localisation du cancer pulmonaire

Tableau 16 : Répartition des patients selon la localisation du cancer du poumon

Localisation tumorale	Nombre de malades	Fréquences %
Poumon droit	17	54.84
Poumon gauche	14	45.16
Total	31	100



Figure 32 : Répartition des patients selon la localisation du cancer du poumon

Dans la population des patients, le cancer du poumon est localisé au niveau du poumon droit avec un pourcentage 54.84% et au niveau du poumon gauche avec un pourcentage 45.16%.

V-2-5- Selon le type histologique du cancer du poumon

Tableau 17 : Répartition des patients selon le type histologique

Types histologiques	Nombre de malades	Fréquence %
Adénocarcinome	20	64.52
Carcinome épidermoïde	07	22.58
Carcinome à petites cellules	00	00.00
Carcinome à grandes cellules	04	12.90
Total	31	100

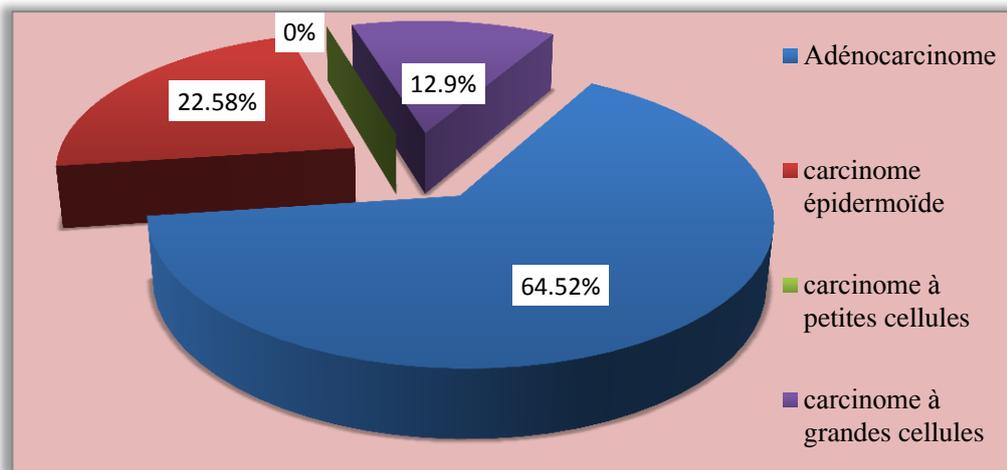


Figure 33 : Répartition des patients selon le type histologique

L'étude du type histologique de la tumeur montre que l'adénocarcinome est le plus fréquent avec un pourcentage de 64.52% des cas, suivi du carcinome épidermoïde avec une fréquence de 22.58%.

V-2-6- Selon les facteurs de risque

Tableau 18 : Répartition des patients selon les facteurs de risques

Facteurs de risques	Malades présentant un cancer du poumon		Total	
	Oui	Fréquence %	Non	Fréquence %
tabagisme	27	87.10	04	12.90
alcoolisme	02	6.45	29	93.55
Antécédents familiaux de cancer du poumon	09	29.03	22	70.97

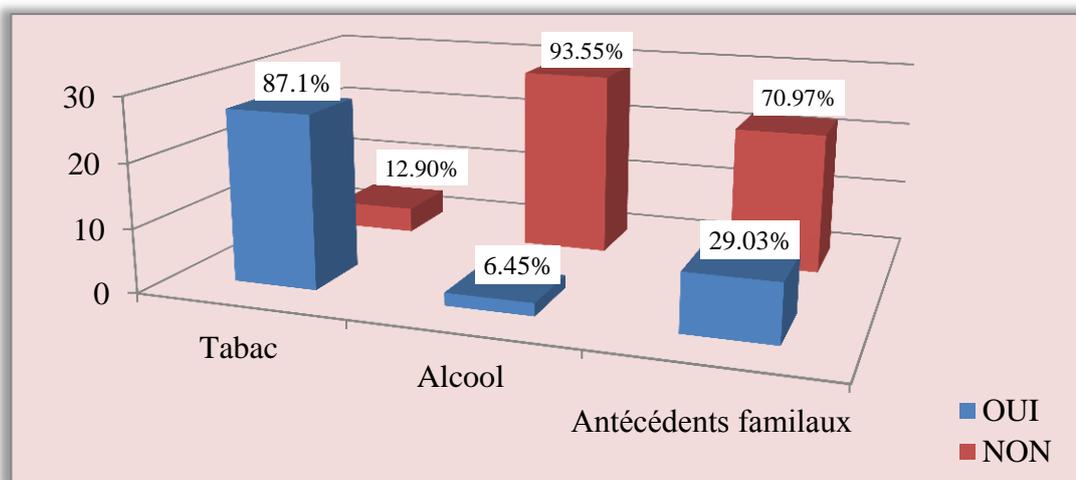


Figure 34 : Répartition des patients selon les facteurs de risques

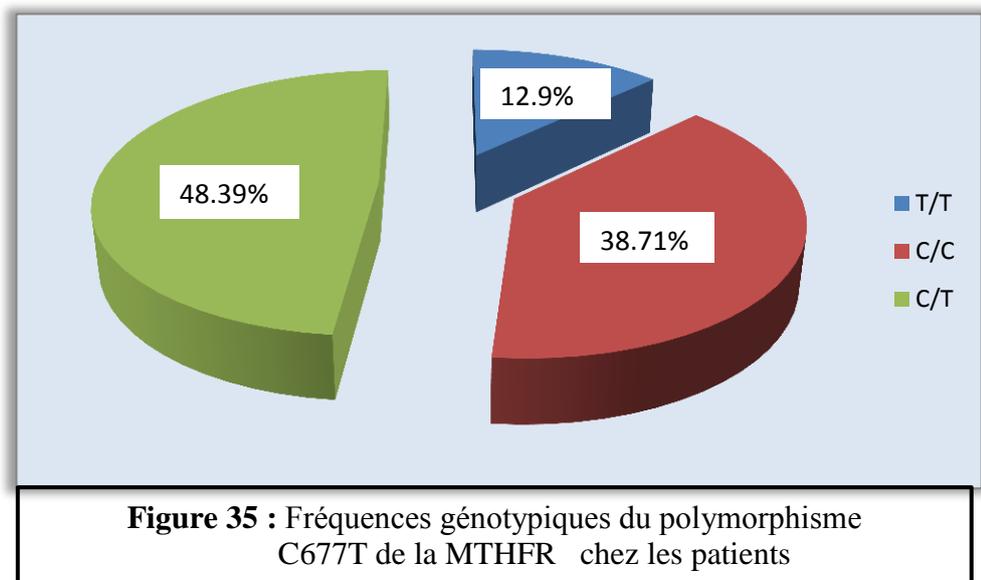
La consommation de cigarette est plus fréquente chez nos patients (87.10%) suivie des antécédents familiaux de cancer pulmonaire (29.03%).

V-2-7- Fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme C677T de la MTHFR chez les patients

V-2-7-1- Fréquences génotypiques de la mutation C677T de la MTHFR chez les patients

Tableau 19 : Fréquences génotypiques du polymorphisme C677T de la MTHFR chez les patients.

Génotypes	Effectifs	Fréquences %
C/C	12	38.71
C/T	15	48.39
T/T	04	12.9
Total	31	100

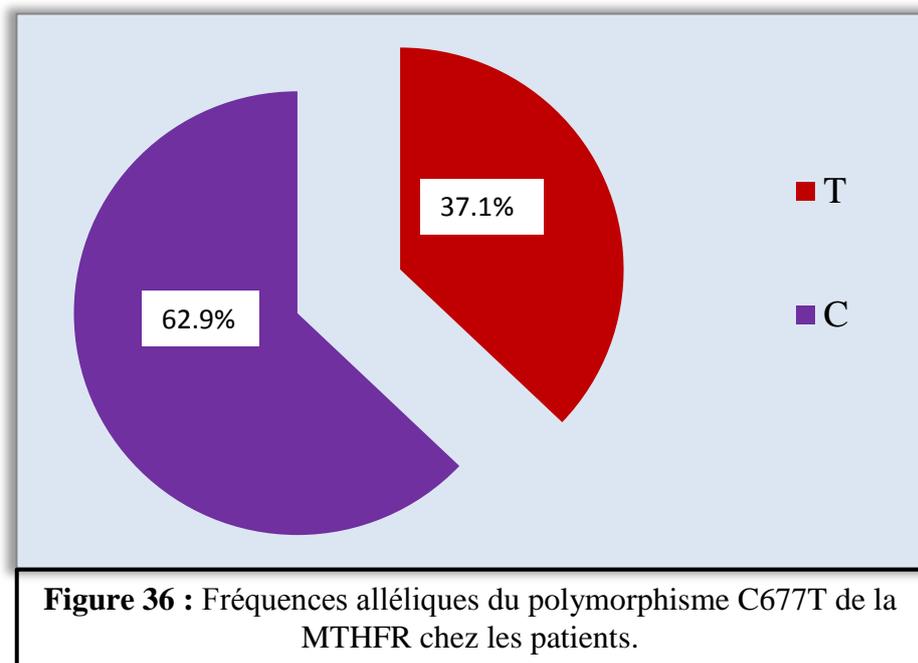


48.27 % de nos patients ont présenté le génotype C/T, 38.71 % le génotype C/C et 12.9 % le génotype T/T.

V-2-7-2- Fréquences alléliques du polymorphisme C677T de la MTHFR chez les patients :

Tableau 20 : Fréquences alléliques du polymorphisme C677T de la MTHFR des patients.

Allèles	Effectifs	%
C	39	62.9
T	23	37.1
T+C	62	100



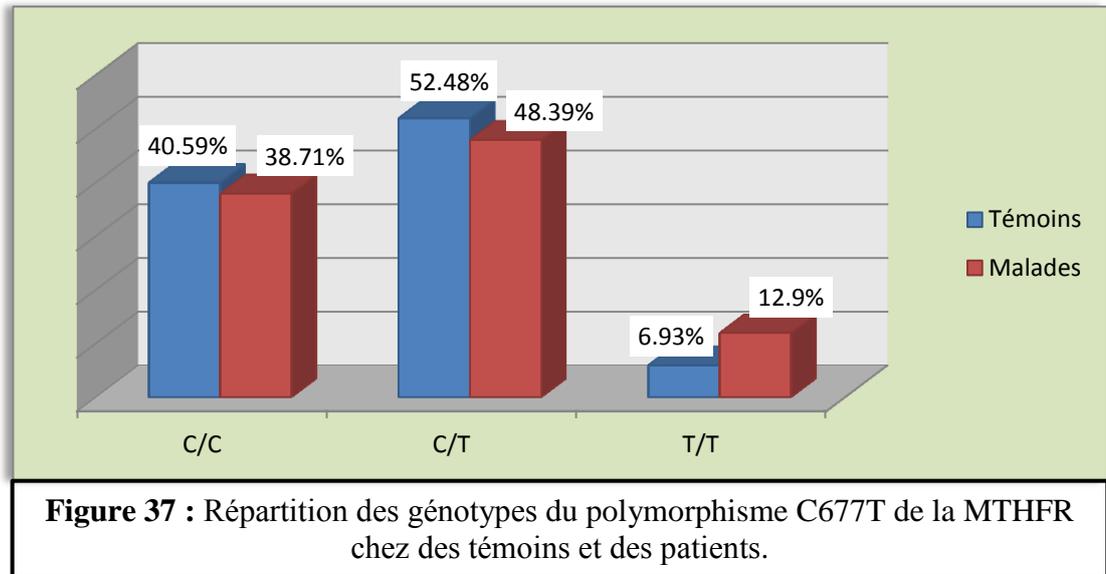
Les fréquences des allèles C et T du polymorphisme C677T chez les patients sont respectivement de 62.9% et 37.1% tout sexe confondu.

V-3- Fréquences génotypiques des patients et des témoins

Le tableau 21 et la figure 37 montrent la comparaison des fréquences entre les témoins et les malades.

Tableau 21 : Répartition des génotypes du polymorphisme C677T de la MTHFR chez les témoins et les patients.

Génotypes	Témoins		Patients	
	N	%	N	%
C/C	41	40.59	12	38.71
C/T	53	52.48	15	48.39
T/T	07	6.93	04	12.9
Total	101	100	31	100



V-4- Fréquences alléliques de la MTHFR des patients et des témoins

Tableau 22 : Répartition des fréquences alléliques du polymorphisme C677T de la MTHFR dans la population témoins et malades.

Génotypes	Témoins		Patients	
	N	%	N	%
C	135	66.83	39	62.9
T	67	33.17	23	37.1
C+T	202	100	62	100

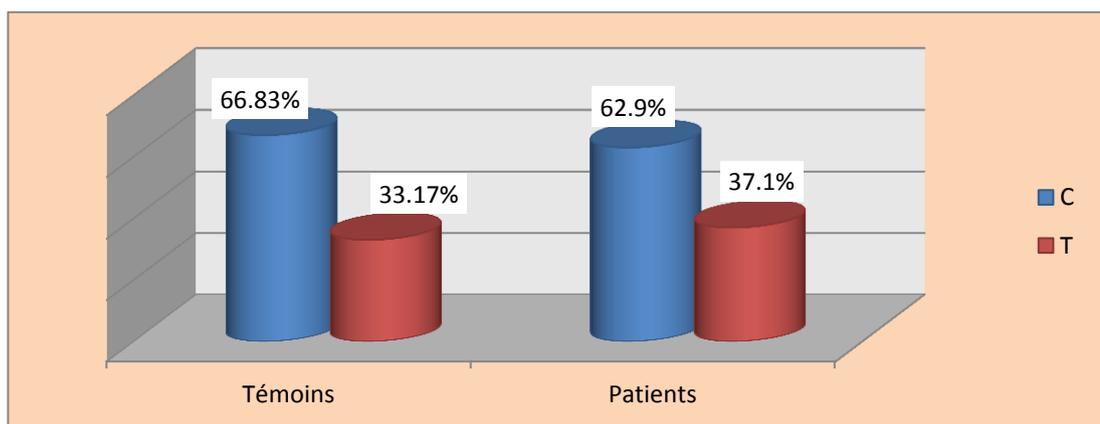


Figure 38 : Répartition des fréquences alléliques du polymorphisme C677T de la MTHFR dans les populations témoin et malade

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

- Le calcul des odds Ratios : (IC 95%)

TT vs CC: OR= 1.9524 p= 0.6944 ; NS

TT+CT vs CC: OR= 1.0819 p= 0.94 ; NS

La P-value pour les deux comparaisons est supérieure à 0.05, donc il n'y a aucune association entre le polymorphisme en question et le risque d'un cancer du poumon.

Discussion

Discussion

Dans ce travail, nous avons étudié le polymorphisme C677T de la MTHFR chez 101 témoins et 31 patients présentant un cancer du poumon

Nous avons aussi étudié et comparé les données suivantes :

- Le sexe, l'âge, les habitudes toxiques, le type histologique du cancer du poumon,
- La distribution des fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme C677T du gène de La MTHFR.

➤ **Données générales sur la population témoin**

✓ Selon le sexe :

Les témoins sont au nombre de 101 répartis en 52 hommes soit 51.49% et 49 femmes soit 48.51% avec un sexe ratio H/F de 1.06. Nous avons noté une différence non significative entre les deux sexes chez nos témoins, $P=0.46$.

✓ Selon l'âge :

Nous n'avons trouvé de différence significative entre l'âge moyen des deux sexes chez nos témoins. De plus leur distribution selon l'âge a montré une fréquence plus élevée de la tranche d'âge 20-30 ans suivie de la tranche d'âge 31-40 ans et que les autres tranches d'âge sont faiblement représentées.

✓ Selon le génotype :

La caractéristique principale de la population Algérienne est sa diversité ethnique. Cette population est subdivisée en Arabes, Berbères, Turques, Juifs et noirs sub-Sahariens. La contribution des Arabes et Berbères dans la constitution du pool génétique Algérien est certes évidente. Néanmoins, peu d'études ont été menées sur les populations Algérienne.

40.60% des témoins sont homozygotes C/C, 52.47% sont hétérozygotes C/T et 6.93% sont des homozygotes T/T.

En effet les fréquences génotypiques du polymorphisme C677T de la MTHFR sont très variables selon les différents groupes ethniques [102].

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

En Europe, la fréquence du génotype T/T est faible au Nord, elle est de 4 à 7 % en Finlande et en Russie, intermédiaire de 8 à 10 % en France et 12 à 15% en Espagne et au Nord de l'Italie et élevée au sud 20 à 26 % en Sicile. Un gradient similaire a été trouvé en Amérique du Nord,

où la fréquence du génotype T/T augmente de l'ouest du Canada (Alberta) au sud-est des Etats-Unis, pour atteindre un pic au Mexique (tableau 23) [103].

La fréquence du génotype T/T chez nos témoins est de 6.93 % ce rapport est similaire à celui retrouvé en Turquie, Tunisie, en France à Rotterdam, et est très différent de celui retrouvé au Mexique et en Italie [102, 103, 104]. Parmi 102 malades afro-américains, **Mc Andrew et al.** n'ont retrouvé aucun cas d'homozygotie TT. **Adjalla et al.** [105] ont rapporté une fréquence de 0,8 % du variant génotypique TT dans la population noire issue de l'Afrique de l'Ouest. A l'état hétérozygote (CT), cette mutation est présente chez approximativement 40 % des caucasiens, 20 % des afro-américains, et 15,9 % de la population noire africaine [106].

Les fréquences des allèles T et C chez les témoins sont respectivement de 33.16 % et 66.84, ces résultats concordent avec ceux des pays de la méditerranée.

Tableau 23 : Les fréquences génotypiques et alléliques dans différents pays et groupes ethniques

Pays	Fréquence Génotypique			Fréquence Allélique	
	T/T	C/T	C/C	Allèle T	Allèle C
Bretagne	12.1	47.2	40.7	35.7	64.3
London	13.7	39.1	37.2	33.2	66.8
Rotterdam	7.0	48.0	45.0	31.0	68.0
France	9.77	52.6	37.6	36.1	63.9
Nord de l'Italie	21.00	47.0	32.0	44.5	55.5
Centre de l'Italie	30.2	45.3	24.5	52.8	47.2
Sud de l'Italie	18.7	51.3	30.0	44.3	55.7
Yémen	2.2	30.4	67.4	17.4	82.6
Turquie	7.5	41.9	50.6	28.5	71.5
Saoudite Arabie	2.1	23.1	74.8	27.3	72.7
Mexique	32.2	49.6	18.2	57.0	43.0
Tunisie	5.4	24.9	69.7	17.8	82.2
Maroc	12.3	34.7	53.0	29.6	85.0
Notre étude Algérie	6.93	52.47	40.60	33.16	66.84

Le phénotype de ce variant génotypique, appelé « variant thermolabile » selon **Kang SS et al.** [107], est caractérisé par une diminution de l'activité enzymatique de 70 % en cas d'homozygotie, et de 35 % en cas d'hétérozygotie. Cette simple modification d'un acide

aminé entraîne un défaut de «liaison des folates» et une activité réduite de l'enzyme MTHFR [108].

Le FAD, cofacteur de la MTHFR, protège l'enzyme mutée de la déstabilisation, par conséquent, la riboflavine (vitamine B2, précurseur du FAD) peut être considérée comme un déterminant de son activité enzymatique et de l'hyperhomocystéinémie [109]. Le variant C677T accroît la tendance de l'enzyme à perdre le FAD, et les folates protègent l'enzyme en atténuant cette perte. Par conséquent, bien que l'identité des mutations sévères soit un bon indicateur de l'activité enzymatique résiduelle des patients homocystinuriques, le polymorphisme (et des facteurs externes comme l'acide folique ou la riboflavine) contribue à la complexité de la relation génotype /phénotype [109].

Depuis que **Frosst et ses collaborateurs** (1995) ont proposé la mutation C677T comme une raison possible de l'apparition de complications vasculaires, plusieurs groupes de recherche ont évalué cette hypothèse chez les patients cardiovasculaires de différents groupes ethniques [110, 111].

La mutation C677T a été retrouvée avec une fréquence plus élevée chez des sujets ayant une pathologie coronaire [112]. Cette mutation Ala => Val est considérée dans certaines études comme un facteur de risque de thromboses artérielles et veineuses [113] et notamment de maladie cardiaque coronaire [114, 115].

➤ **Données générales sur la population des patients**

✓ Selon le sexe :

Les patients sont au nombre de 31 répartis en 26 hommes soit 83.87% et 5 femmes soit 16.13% avec un sexe ratio H/F de 5.2

Nous avons noté une différence significative entre la répartition des patients selon le sexe chez nos patients, cela est expliqué par la présence de certaines habitudes toxiques utilisées beaucoup plus par les hommes que par les femmes.

Il s'agit du tabac, en effet, la consommation de la cigarette est plus fréquente chez nos patients de sexe masculin (87.10%), En effet le tabagisme est plus fréquent chez les hommes que chez les femmes. Les données nationales et internationales ont indiqué que le tabagisme chez les femmes est rare. On dit que le tabagisme féminin est décalé de 20 ans par rapport au tabagisme masculin [46, 47, 48].

De plus, le tabac est le principal facteur de risque du cancer du poumon [116].

Les risques relatifs calculés chez la femme sont effectivement souvent moins élevés que chez l'homme [117]. Le tabac provoque 9 cancers bronchiques masculins sur 10.

Le risque relatif de cancer bronchique chez le sujet fumeur par rapport au non-fumeur est de 10. La latence moyenne est estimée à 20 ans [118].

✓ Selon l'âge :

Chez nos patients, nous n'avons pas trouvé de différence significative entre l'âge moyen dans les deux sexes. Cependant la tranche d'âge la plus touchée est celle de 52-62 ans.

En l'an 2000, l'âge médian du diagnostic d'un cancer bronchique était de 67 ans chez l'homme et de 68 ans chez les femmes. L'âge de survenue des cancers bronchiques est variable d'un pays à l'autre, résultant des habitudes tabagiques des populations [119].

L'augmentation de l'espérance de vie dans la population générale associée à l'augmentation du risque de survenue d'un cancer avec l'âge ont conduit à une augmentation de l'incidence du cancer bronchique dans la population âgée. Environ 50% des nouveaux cas de CBNPC sont diagnostiqués chez des patients de plus de 65 ans et 30 à 40% chez des patients de plus de 70 ans [119].

29.03 % de nos patients ont présenté des antécédents personnels de cancer du poumon. En effet de nombreuses études épidémiologiques ont démontré l'existence d'une prédisposition héréditaire de certains types de cancer du poumon, avec un risque plus élevé chez les personnes dont les parents sont atteints de cancer du poumon.

✓ Selon le type histologique :

L'étude du type histologique de la tumeur a montré que l'ADC est le plus fréquent avec un pourcentage de 64.52% des cas, suivi du Carcinome épidermoïde avec 22.58%. Puis des autres types et de l'absence du carcinome à petites cellules.

Alors que la répartition des différents types histologiques observée dans la littérature, le type dominant est le carcinome épidermoïde suivi de l'adénocarcinome, du carcinome à petites cellules puis vient en dernière position le carcinome bronchique à grandes cellules. Ces variations sont étroitement liées aux habitudes et coutumes vis-à-vis du tabac (début, durée, quantité) [120].

Selon l'OMS , la Classification histologique du cancer du poumon est marquée par :

Le carcinome « non à petites cellules » 85% : adénocarcinome 55%, carcinome épidermoïde 20%, carcinome à grandes cellules 10%. Et carcinomes à petites cellules 15% [121].

✓ Selon le génotype :

Dans la population de patients étudiée, nous avons observé que 48.39 % ont présenté le génotype C/T, 38.71 % le génotype C/C et 12.9 % le génotype T/T.

✓ Selon les fréquences alléliques :

Les fréquences des allèles C et T sont respectivement de 62.9% et 37.1% chez ces patients.

Des odds ratios avec un intervalle de confiance ont été calculés à fin de déterminer un lien possible entre le polymorphisme C677T de la MTHFR et le cancer du poumon.

Le calcul des odds ratios obtenus:

TT vs CC : OR= 1.9524 [0,48 -7,81] ; p= 0.69 ; NS

TT+CT vs CC: OR= 1.0819 [0,47-2,46] ; P= 0.94 ; NS

Ce calcul a montré que les porteurs des génotypes T677T et C677T ne présentent pas d'association significative avec le cancer du poumon. Ces résultats impliquent l'absence d'une corrélation significative de ces génotypes et le risque de cancer poumon.

La MTHFR dirige le cycle des folates vers la méthylation de l'ADN et agit indirectement sur le niveau de synthèse de l'ADN, MTHFR est l'enzyme clé dans le métabolisme avec une activité variable selon les polymorphismes de l'enzyme et l'apport alimentaire en folates.

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

La MTHFR intervient dans le métabolisme de l'acide folique et des nucléotides nécessaires à la synthèse et la réparation de l'ADN. Des variations dans les fonctions de la MTHFR jouent probablement un rôle dans l'étiologie du cancer du poumon. Jusqu'à présent, plusieurs études sur le polymorphisme C677T de la MTHFR et le cancer du poumon ont montré des résultats contradictoires ou non concluants.

Afin de mieux évaluer la relation polymorphisme C677T de la MTHFR et le cancer du poumon, une méta-analyse réalisée par **Hou XH et al.** [125] ayant porté sur de 14 publications [125], a estimé les OR avec des IC à 95% obtenus lors de ces études pour évaluer cette association. Les résultats de cette méta-analyse n'ont montré dans l'ensemble, aucune association significative entre le polymorphisme C677T de la MTHFR et de risque de cancer pulmonaire ce qui est en accord avec nos résultats.

Cependant, dans cette même étude, l'évaluation du risque de ce polymorphisme en fonction des types histologiques du cancer du poumon, a montré une association du polymorphisme C677T de façon significative avec le risque de cancer du poumon non à petites cellules (CPNPC), odds ratios très significatifs.

Les patients fumeurs qui portaient allèle T (TT + CT) avaient montré un risque de cancer du poumon diminué de 10% par rapport aux porteurs du génotype CC. Cette étude a démontré que l'allèle T677 de la MTHFR peut augmenter le risque CPNPC, cependant, il peut aussi protéger sans cesse les fumeurs contre les risques de cancer du poumon. Les études futures à grande échelle sont nécessaires pour évaluer d'avantage cette association de manière plus détaillée.

Les résultats de cette étude concordent aussi avec ceux de **Zhang, et al. SAZCI. A, et al. 2003** [126, 127]. Qui ont suggéré que le polymorphisme C677T n'est pas significativement corrélé avec le risque de cancer du poumon, et que seules les variantes T677T pourraient diminuer le risque de cancer du poumon chez les femmes [126, 127]. Et que polymorphisme C677T du MTHFR ne joue pas un rôle important dans l'étiologie du cancer du poumon [127].

Des études cas-témoins réalisées aux Pays-Bas par **Heijmans et al.** Ainsi que d'autres telles que celles réalisées en Chine, au Japon, en Europe du Nord et aux Etats-Unis ont montré que les génotypes CT ou TT du polymorphisme C677T de la MTHFR par rapport génotype CC semblent avoir un risque plus faible pour le cancer du poumon [128].

D'autres travaux ont mis en évidence le rôle important de la MTHFR dans la carcinogénèse. L'étude réalisée par **Zdenko Herceg** [129] a indiqué qu'une haute fréquence de l'hypométhylation dans des tumeurs du poumon a été retrouvée [129].

Kiyohara, et al. Siemianowicz et al ont récemment rapporté dans leurs travaux que le génotype TT du polymorphisme C677T était significativement associé à un risque accru de cancer du poumon [130, 131]. Les résultats d'une étude Taiwanaise ont montré que le polymorphisme C677T de MTHFR peut être associé à l'apparition d'un cancer du poumon [132]. Un pourcentage statistiquement plus élevé du génotype T677T de la MTHFR a été vu chez des patients atteints de cancer du poumon par rapport aux témoins [133].

Dans cette même étude les génotypes CT et TT en association avec le tabagisme confèrent à une diminution du risque de cancer du poumon [132].

Bingham S, Riboli et al. Ont Révélé une réduction importante du risque de cancer du poumon chez les personnes dont le bilan en folate était le plus élevé [134].

Conclusion

Conclusion

CHAPIRE VII : Conclusion

Les résultats de notre étude ont montré que le cancer du poumon est plus fréquent chez les hommes que chez les femmes. La tranche d'âge des patients la plus touchée est 52-62 ans. Le tabac est le premier facteur de risque du cancer du poumon.

L'adénocarcinome est la forme histologique la plus fréquente et que les porteurs du génotype C677T ne présentaient pas d'association significative avec le cancer pulmonaire, ce qui est en accord avec de nombreuses données de la littérature.

Ce pendant ce travail doit de poursuivre sur un nombre plus élevé de patients pour confirmer ces résultats et de tenir compte de l'origine ethnique et du statut du métabolisme des folates en interaction avec des facteurs génétiques et environnementaux.

Les références

Références bibliographiques

- [1] M, Hmdi Cherif, Z, Zaidi et al. (2010). *Registre du cancer de Sétif (Algérie) : incidence, tendance et survie, 1986–2005*. J Afr. Cancer, 2, 245-258.
- [2] Dela Cruz CS, Tanoue LT, Matthay RA. (2011). *Lung cancer: epidemiology, etiology, and prevention*. Clin Chest Med, 32, 605–44.
- [3] Krajcinovic M, Lamothe S, Labuda D, Lemieux-Blanchard E, Theoret Y, Moghrabi A and Sinnott D. (2004) *Role of MTHFR genetic polymorphisms in the susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia*. Blood, 103, 252-257.
- [4] Jeng YL, Wu MH, Huang HB, Lin WY, You SL, Chu TY, Chen CJ and Sun CA. (2003). *The methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and lung cancer risk in a Chinese population*. Anticancer Res, 23, 5149-5152.
- [5] Lv L, Wang P, Sun B, Chen G. (2013). *The polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase C677T but not A1298C contributes to gastric cancer*. Tumor biology: the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine, 35, 1-227.
- [6] Aparicio T, Yacoub M, KarilA-Cohen P et Renne. (2004). *Adénocarcinome gastrique: notions fondamentaux; diagnostic et traitement*. EMC-chirurgie, 1, 47-66.
- [7] Kang SS, Wong PWK, Susmano A, Sora J, Norusis M, Ruggie N. Themolabile. (1991). *methylenetetrahydrofolate reductase: an inherited risk factor for coronary artery disease*. Am J Hum Genet, 48, 536-45.
- [8] Frosst P, Blom HJ, Milos R, et al. (1995). *A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase*. Nat Genet, 10, 111-3.
- [9] Engbersen AMT, Franken DG, Boers GHJ, Stevens EMB, Trijbels FJM, Blom HJ (1995) *Themolabile 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase as a cause of mild hyperhomocysteinemia*. Am J Hum Genet, 56,142-150.
- [10] Friso S, Choi SW. (2005). *Gene-nutrient interactions in one-carbon metabolism*. CurrDmgMetab, 6(1), 37-46.
- [11] Z Jerbi, M. Abdennebi H, Douik H, Ben Romdhane L, Harzallah F, Guemira, A Ghanem. (2005). *Étude du polymorphisme C677T du gène du méthylène tétrahydrofolate réductase dans la population tunisienne*. Ann Biol Clin, 63(5), 487-91.
- [12] Torrisani J. (2003). *Méthylation de l'ADN et régulation épigénétiques des cancers*. (14) Hépatogastro, 10(6), 455-67.
- [13] Kang SS, Wong PW. (1996). *Genetic and nongenetic factors for moderate hyperhomocysteinemia*. Atherosclerosis, 119, 135-8.
- [14] Jacques PF, Bostom AG, Williams RR, Ellison RC, Eckfeldt JH, Rosenberg IH, Selhub J, Rozen R. (1996). *Relation between folate status, a common mutation in*

methylenetetrahydrofolate reductase, and plasma homocysteine concentrations. Circulation, 93,7-9.

[15] Krajinovic M, Lamothe S, Labuda D, Lemieux-Blanchard E, Theoret Y, Moghrabi A and Sinnott D. (2004). *Role of MTHFR genetic polymorphisms in the susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia.* Blood 103, 252-257.

[16] ELISABETH, Le Rumeur. *Physiologie de la respiration.* Consulté le 12/2011.

[17] BLAIVE, Bruno. *Rappels anatomiques et fonctionnels de la respiration Faculté de Médecin Université Nice-Sophia Antipolis*, 08/2008.

[18] BAMMAS, T, TENBNER, VOSS. *Cours d'anatomie, Trachée et branches, des études médicales*, 1^e cycle, Belgique, 2008, 456p (212 -216).

[19] SCHUNKE, M, SCHULTE, E. et al. *ATLAS d'anatomie, Prométhée ; cou et organes internes ; Poumons*, France, 2007,370p (78- 89).

[20] JEROME, Harlé. *Anatomie de l'appareil respiratoire*, vue générale. Consulté le 03/12/2009

[21]SCHUNKE, M, SCHULTE, E. et al. *ATLAS d'anatomie, Prométhée ; cou et organes internes ; Diaphragme*, France, 2007 ,370p (90).

[22] PEBRET, François. *Anatomie, physiologie, pharmacologie générale*, 6^e édition, Heures de France, 2003, 621 p (278-280).

[23] APRIPPINE Basset. *Anatomie des poumons, service de réhabilitation respiratoire CH des pays de morlaix marc, beaumont loic pérán philippe daniellon*, 2008.

[24] Archives du Blog. *Fonctionnement normal des voies respiratoires.* 04/2013.

[25] ELAINE, N.Marieb. *Principes d'anatomie et de physiologie*, 8^e édition, Paris, 2008, 631p. (468- 472).

[26] Pr ANNICK, Clement. *Le poumon normal et les maladies respiratoires rares de l'enfant.* Consulté le 2010.2014.

[27] H NETTER, Frank, KAMINA, Pierre. *Atlas d'anatomie humaine*, 4^e édition, 2007, atlas d'anatomie du thorax, planches anatomiques légendées. Consulté le 05/08/2010.

[28] AME, schaffler, NICOLE, Menche. *Anatomie, Physiologie, Biologie, Agrégé d'enseignement pour les professions de santé*, 2^e édition, paris, 2004, 455p (304 -313).

[29] DEE UNGLANB, Silverthorn. *Physiologie Humaine, une approche intégrée*, 1^{er} édition-4^e édition, paris, 2007,936p (532- 533).

[30] ABRAHAM, L, KIERSZEN, Baum. *Histologie et Biologie Cellulaire, une introduction à l'anatomie pathologique*, 1^{er} édition, paris, 2002, 619p (339 – 340).

[31] Auxiliaires Médicaux en Anesthésie Réanimation de Constantine, *système respiratoire.* Consulté le 02/02/2015.

[32] Cours evele respiration, *histologie de la barrière alvéolo-capillaire*, ST2S, 2012-2013.

- [33] Eberly college of science biol T41 introduction to physiology Breathing or pulmonary ventilation. (2016). *the pennsylvania state university privacy and legal statements*.
- [34] Anatomie et histologie de l'appareil respiratoire, assistance scolaire personnalisée lycée.2000-2016.
- [35] DE SCHUYTENEER, Vincent. *Sciences biologiques, biologie animale ou zoologie, organogenèse complet, Organogenèse vertèbres, Poumons*.12/06/2015.
- [36] SHERWOOD. *Physiologie Humaine, Mécanique respiratoire et échanges gazeux pulmonaires*, 2^e édition, Paris, ARS, 2006, 629 p (369 -386).
- [37] SCHUNKE, M, SCHULTE, E. et al. *ATLAS d'anatomie, Prométhée ; cou et organes internes ; Mécanique ventilatoire (inspiration et expiration)*, France, 2007, 370p (92 -93).
- [38] LAFAY, Olivier. *Diaphragme, muscles et santé*. 26/02/2014.
- [39] ELF european lung foundation. *Le cancer du poumon* (2013-2016).
- [40] DRA, Marnet. *L'internaute Dictionnaire Définition Cancer Du Poumon*, Journal des Femmes Santé. Consulté le 30/01/2013.
- [41] Société canadienne du cancer. «Qu'est-ce que le cancer du poumon?», *Information sur le cancer, Types de cancer, Poumon, Cancer du poumon*. Consulté le 30/11/2005
- [42] Agency for Healthcare Research and Quality. *Guide to Clinical Preventive Services, Cancer - Screening for lung cancer*, AHRQ. Consulté le 09/05/2015. www.ahrq.gov.
- [43] Ligue suisse contre le cancer, Berne. *Le cancer du poumon Carcinome bronchique*, Une information de la Ligue contre le cancer pour les personnes concernées et leurs proches (2007).www.liguecancer.ch
- [44] Item 306. *Tumeurs du poumon, primitives et secondaires*, collège français des pathologistes (capath), université médicale virtuelle francophone. 2013
- [45] Société canadienne du cancer. *Encyclopédie canadienne du cancer - Cancer du poumon*, Société canadienne du cancer. Consulté le 13/07/2010.www.scdc.cancer.ca.org
- [46] Institut curie. *Les signes cliniques divers, cancer du poumon*. Consulté le 08/04/2014. www.curie.fr
- [47] Organisation mondiale de la Santé (OMS), *The Tobacco Atlas - Passive Smoking*. Consulté le 13/07/2014. www.who.int.
- [48] National Cancer Institute. *Cancer Topics - Lung Cancer Prevention*, National Cancer Institute. Quelques chiffres. Consulté le 2014 en France www.cancer.gov
- [49] HASHIBE, M, STRAIF, K, et al. *Epidemiologic review of marijuana use and cancer risk, Alcohol*. Consulté le 04/2005.

- [50] MORRISON, BJ. *Interventions autres que l'abandon du tabac pour prévenir le cancer du poumon*, Le rôle du médecin dans la prévention du tabagisme, Chapitre 64 du Guide canadien de médecine clinique préventive. Consulté le 2001. www.hc-sc.gc.ca
- [51] BREITKREUZ, M-Garry, MELVILLE, Yorkton, PCC. *Comité permanent de la sécurité publique et nationale, témoignage, Cancer du poumon et la cigarette parlement du Canada Publications*. Consulté le 12/03/2008. www.parl.gc.ca
- [52] American cancer society. *Prevention and Early Detection - Questions about Smoking, Tobacco, and Health*, American Cancer Society. Consulté le 02/05/2013. www.cancer.org.
- [53] Futura-Sciences. L'actualité des sciences et technologies (2001-2016) (synthèse de l'ensemble des sujets des magazines de Futura-Sciences), *Cancer, environnement ; les facteurs de risque*. Consulté le 27/11/2006 www.futura-sciences.com
- [54] Futura-Sciences L'actualité des sciences et technologies (2001-2016) (synthèse de l'ensemble des sujets des magazines de Futura-Sciences), *Le cancer du poumon en détail*. Consulté le 29/01/2010. www.futura-sciences.com
- [55] Futura-Sciences L'actualité des sciences et technologies (2001-2016) (synthèse de l'ensemble des sujets des magazines de Futura-Sciences), *Le Cancer*. Consulté le 15/06/2010 www.futura-sciences.com
- [56] Futura-Sciences L'actualité des sciences et technologies (2001-2016) (synthèse de l'ensemble des sujets des magazines de Futura-Sciences), *Pneumologie*. Consulté le 17/08/2013 .www.futura-sciences.com
- [57] STANISLAS, Lechevallier. Gentside, *Cancer du poumon : symptômes, traitement*, «de quoi s'agit-il ?». Consulté le 23/12/2015. www.gentside.com
- [58] Association pulmonaire du Canada. (2015). *Énoncé de confidentialité et avis de non-responsabilité*. Consulté le 20/08/2014. www.e-cancer.fr
- [59] National Cancer Institute. Accélérations les progrès face aux cancers, *symptômes cancer du poumon*. Consulté le 2013 www.e-cancer.fr
- [60] LEE, Goldman, PIERRE, L-Masson. Goldman's Cecil Medicine Cancérologie, toutes les informations sur l'épidémiologie, *les manifestations cliniques, le diagnostic différentiel, le traitement, le pronostic*. Elsevier Health Sciences, 24^e édition, 19/06/2013, 324p.
- [61] M. Aubier. *Traité de pneumologie, L'imagerie et en particulier de la tomodensitométrie et de la TEP*, 2^e édition, Lavoisier, 2009, 1139p.
- [62] Lung Disease, *Lung Cancer – Understanding Lung Cancer*, American Lung Association. Consulté le 9 juillet 2010. www.lungusa.org
- [63] TAULELLE, Marc, LEMARIE, Etienne. *Le dépistage du cancer bronchique, de l'espoir à la réalité, les traitements*, Springer Science et Business Media, 2006, 119 p.
- [64] Algorithmes d'investigation de traitement et de suivi cancer du poumon, institut national d'excellence en santé et en services sociaux Québec. Consulté le 07/2014.

- [65] Dr SALMERON, Sergio, Pr TREDANIEL, Jean. *Cancer bronchique primitif, données épidémiologiques récentes*, Service de pneumologie et oncologie thoracique, Groupe Hospitalier Paris Saint Joseph, Université Paris Descartes, 2000-2010.
- [66] DIFIORE, PP, PIERCE, JH, FLEMING, TP. *Overexpression of the human EGF receptor confer an EGF dependent transformed phenotype to NIH 3T3 cells*, Cell 1987, p1063-1070.
- [67] BENOIT, Busser. *Indentification et caractérisation d'un nouveau mécanisme de résistance au gefitinib dans le cancer du poumon non à petites cellules*, role de l'amphiréguline université Joseph Fourier, Français, P107. Consulté le 07/12/2010.
- [68] TANG, X, SHIGEMASTSU, H, BEKELE, BN, et al. *EGFR tyrosine kinase domain mutation, are detected in histologically normal respiratory epithelium in lung cancer patients*. Consulté le 2005.
- [69] HOFFMONN, F, LTD, La Roche. *Les diffèrent oncogènes est suppresseur de tumeur implique dans le cancer du poumon, Les principales mutations du CBNPC*, 2015.
www.roche.fr
- [70] LEE, S, KIM, Y, SUN, J-M, et al. *Molecular profiles of EGFR, K-ras, c-met, and FGFR in pulmonary pleomorphic carcinoma, a rare lung malignancy*. Consulté le 08/ 2011.
- [71] CHATER, Asma. *Cancer broncho-pulmonaire et thérapeutique*, université Abou Bekr BelKaid Tlemcen, Algérie, 2014, p129.
- [72] JORISSEN, RN, WALKER, F, POULIOT, N. *Epidermal growth factor receptor, mechanisms of activation and signalling*, Exp cell Res 2003, p284 (31-53).
- [73] PAOWI, Miller. *Va_ epidermal growth factor receptor mutations, small-molecule kinase inhibitors, and non-small cell lung cancer, current knowledge and future direction*, Jclin on col 2005, p2556-2568.
- [74] K HUYNH, A, DUNANT, A. «Multi drug resistance proteins don't predict benefit of adjuvant chemotherapy in patients with completely resected non – small cell lung cancer», international adjuvant lung cancer trial biologic program, Clin cancer Rec 2007, p 3892-3898.
- [75] LE CALVEZ, F, MUKERIA, A, HUNT, JD, KELM, O, HUNG, RJ. «Tp53 and KRAS mutation load and types in lung cancers in relation to Tobacco smoke», distinct patterns in never former and current smokers, cancer Rec 2005, p5076-5083.
- [76] LUNCH, TJ, BELL, DW, SORDELLA, R, GURUB HAGAVATULA, S, OKIMOTO, RA. «Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsive Ness of non – small cell», lung cancer to gefitinib, N Engel J Med 2004, p 2129-2139.
- [77] BENNETT, WP, HUSSAIN, SP, VAHAKANGAS, KH, KHAN, MA, SHIELDS, PG, HARRIS, CC. *Molecular epidemiology of human cancer risk, gene environment interactions and p53 mutation spectrum in human lung cancer*, J Patchouli, 1999, P178.

- [78] ROCKS, N, PAULISSEN, G, ELHOUR, M, QUESADA, F, CRAHAY, C, GUEDERS, M, FOIDART, JM, NOEL, A, CATALDO, D. *Emerging roles of ADAM and ADAMTS metalloproteinases in cancer biochimie*, University of Liege and CHU of liege, Belgium, 2008.
- [79] MOUNAWAR, M, MUKERIA, A, LE CALVEZ, F, HUNG, RJ, RENARD, H. «Patterns of EGFR, HER2, Tp53 and KRAS mutations of p14 arf expression in non – small cell lung cancers in relation to smoking history», *cancer Res* 2007, p 5667-5672.
- [80] ARNAUD VANDEN, Broeck. *Aspects épigénétiques des cancers broncho-pulmonaires et implication de l'histone Acétyle transférase Tip 60*, université Joseph Fourier, Français, p254. Consulté le 03/09/2009.
- [81] PFEIFER, GD, DENISSENKO, MF, OLIVIER, M, TRETYAKOVA, N, HECHT, SS, HAINAUT, P. « tobacco smoke carcinogens, DNA-damage and p53 mutation in smoking-associated lung cancers», *oncogene* 2002, p7435-7451.
- [82] YAKOTA, J, KAHNO, T. molecular footprints of human lung cancer progression *cancer Sci* 2004, p797 – 804.
- [83] BEAN, J, BRENNAN, C, SHIH, J-Y, et al. *MET amplification*, occurs with or without T790M mutations in EGFR mutant lung tumors with acquired resistance to gefitinib. Consulté le 2007.
- [84] PAUL SCULIER, Jean. Service des soins intensifs et urgences oncologiques, Oncologie Thoracique. Institut Jules Bordet, ULB, *le cancer broncho-pulmonaire*. Consulté le 2008. www.oncorea.com et www.pneumocancero.com
- [85] GWERDER, Christoph, STEIN, Robert. *Le cancer du poumon, Carcinome bronchique*, Une information de la Ligue contre le cancer pour les personnes concernées et leurs proches. Consulté le 03/2007
- [86] MASSACESI, C, TERRAZZINO, S, MARCUCCI, F. Uridine diphosphate glucuronosyl transferase XA1 promoter polymorphisme predicts the risk of gastrointestinal, toxicity and fatigue induced by irinotecan- based chemotherapy, *cancer* 2006.
- [87] ABDENNEDI, M. *Etude du polymorphisme C677T du gène du méthylène tétrahydrofolate réductase dans la population tunisienne*, Tunis, P491. Consulté le 09-10/2005.
- [88] PELLETIER, Anne Laure. *Thèse sur le Role des déterminants nutritionnels et génétiques du cycle des folates dans la carcinogenèse hépatique*, université Henri Poincaré Nancy1, p57. Consulté le 10/10/2005.
- [89] L'institut National du Cancer est l'agence nationale sanitaire et scientifique chargée de coordonner la lutte contre le cancer en France. *MTHFR*, 07/2010.
- [90] LECHERC, Daniel, ROZEN, Rima. *Génétique moléculaire de MTHFR les polymorphismes ne sont pas tous bénins*, P302. Consulté le 2007.

- [91] PASTERNAK, Jack J. *Génétique moléculaire humaine, Une introduction aux mécanismes des maladies*, Sciences médicales, Série Claude Bernard, De Boeck Supérieur, 13 mars 2003, 522 p
- [92] MORERE, Jean-Francois, LE CHEVALIER, Thierry. *Les cancers intra thoraciques, l'oncologie thoracique, Les principaux aspects épidémiologiques, étiologiques et biologiques sont abordés*, Springer Science et Business Media, 2004, 251 p
- [93] MILLY, Ryan, HARSHMAN, ph DRD. *Génomique nutritionnelle*, revue sur la nutrition et la santé V21 canada. Consulté le 2012.
- [94] MARCOTTE, Johanne, OUIOMET, Renée. *Les nouvelles connaissances usuelles*, Le cancer Bibliothèque nationale du Québec, 2002.
- [95] SAZCI, A, ERGUL, E, KUCUKALI, I, et al. Association of the C677T and A1298C polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase gene with schizophrenia, association is significant in men but not in women, *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. Consulté le 2005.
- [96] BENNOUAR, N, ALLAMI, A, AZEDOUG, H, et al. *Thermolabile Methylene tetrahydrofolate Reductase C677T Polymorphism and Homocysteine Are Risk Factors for Coronary Artery Disease in Moroccan Population*, *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, vol 2007, Article ID 80687, 9 p.
- [97] BOUCHER, Zahira. «Facteurs nutritionnels homocystéine et poly morphisme C677T du gène du méthylène tétrahydrofolate reductase dans la population algérienne», Université Ferhat Abbas Sétif, P 155. Consulté le 22/11/2012.
- [98] PALUKU THEY-THEY, Thierry, HAMZI, Khalil, MAZABRAUD, André, NADIFI, Sellama. *Fréquence du polymorphisme C677T du gène du méthylène tetrahydrofolate réductase (MTHFR) dans les populations arabe et berbère du Maroc*. Paluku et al, 2009. *Antropo*, p20 (11-17).
- [99] LEWIS, SJ, EBRAHIM, S, SMITH, GD. *Meta-analysis of MTHFR 677C->T polymorphism and coronary heart disease*, «does totality of evidence support causal role for homocystéine and preventive potential of folate? ». Consulté le 2005.
- [100] ALESSANDRO, P, ELLEZABETTA, D, SILVANA, A et al. *Plasma homocysteine Concentration, C677T MTHFR genotype and 844ins68pb CBS genotype in young Adults with spontaneous cervical artery dissection and atherosclerosis*. Consulté le 2009.
- [101] AL HABBOUBI, H, TAMMIM, H, AMMEN, G, AL MAWI, WY. *C677T and A1289C single nucleotide polymorphisms in the MTHFR gene among Bahraini arabs*, *Thromb Haemost*. Consulté le 2004.
- [102] Özer I, Özçetin M, Karaer H, Kurt S, and Şahin Ş. (2011). *Retrospective Approach to Methylenetetrahydrofolate Reductase Mutations in Children*. *Pediatric Neurology*, 45, 34-38.
- [103] Wilcken, B, Bamforth, F, Li, Z, Zhu, H, Ritvanen, A, Redlund, M, et al. (2003). *Geographical and ethnic variation of the 677C>T allele of 5, 10 methylenetetrahydrofolate*

reductase (MTHFR), findings from over 7000 newborns from 16 areas worldwide. *J Med Genet*, 40, 619-625.

[104] Chillemi, R, Angius, A, Persico, I, Sassu, A, Prodi, DA, and Musumeci, S. (2006). *Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) from Mediterranean to Sub-Saharan Areas*. *J. Biol. Sci*, 6 (1), 28-34.

[105] Adjalla et al (Adjalla CE, Amouzou EK, Sanni A, Abdelmouttaleb I, Chabi NW, Namour F, et al. (2003). *Low frequency of mutated methylenetetrahydrofolate reductase 677C → T and 1298A → C genetics single nucleotide polymorphisms (SNPs) in Sub-Saharan populations*. *Clin Chem Lab Med*, 41, 1028-32.

[106] McAndrew PE, Brandt JT, Pearl DK, Prior TW. (1996). *The incidence of the gene for thermolabile methylene tetrahydrofolate reductase in African Americans*. *Thromb Res*, 83, 195-8.

[107] Kang SS, Wong PW, Zhou JM, Sora J, Lessick M, Ruggie N, et al. (1988). *Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase in patients with coronary artery disease*. *Metabolism*, 37, 611-3.

[108] Vesin C, Horellou MH, Mairesse S, Conard J, Safar M, Blacher J. (2007). *Homocystéine et risque cardiovasculaire*. *STV*, 19 (3), 143-149.

[109] Jaimie D, Vaughn LB, Bailey KP. (2004). *Methionine synthase reductase 66AG polymorphism is associated with increased plasma homocysteine concentration when combined with the homozygous MTHFR 677CT variant*. *J Nutr*, 134, 2985-2990.

[110] Mogk RL, Rothenmund H, Evans JA, Carson N, Dawson AJ. (2000). *The frequency of the C677T substitution in the methylenetetrahydrofolate reductase gene in Manitoba*. *Clin Genet*, 58(5), 406-8.

[111] Esfahani ST, Cogger EA, Caudill MA. (2003). *Heterogeneity in the prevalence of methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms in women of different ethnic groups*. *Am Diet Assoc*, 103(2), 200-7.

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

[113] Arruda VR, vonZuben PM, Chiaparini LC, Annichino-Bizzacchi JM, Costa FF. (1997). *The mutation Ala 677 => Val in the methylene tetrahydrofolate reductase gene: a risk factor for arterial disease and venous thrombosis*. *Thromb Haemost*, 77, 818-21.

[114] Gallagher PM, Meleady R, Shields DC, Tan KS, McMaster, Drozen R, Evans A, Graham IM, Whitehead AS. (1996). *Homocysteine and risk of premature coronary heart disease. Evidence for a common gene mutation*. *Circulation*, 94, 2154-8.

[115] Morita H, Taguchi J, Kurihara H, Kitaoka M, Kaneda H, Kurihara Y, Maemura K, Tayayuki S, Minamino T, Yamaoki K, Ogasawara K, Aizawa T, Suzuki S, Yazaki Y. (1997). *Genetic polymorphism of 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) as a risk factor for coronary artery disease*. *Circulation*, 95, 2032.

- [116] Beck F, Guilbert P, Gautier A. Baromètre santé 2005, Attitudes et comportements de santé Saint-Denis.
- [117] Graham Hp Inpes, *Smoking prevalence among women in the European Community* (2007), p 76-110 and p1950-1990 Soc Sci Medp
- [118] Greaves L, Hemsing Np Women and tobacco control policies: social-structural and psychosocial contributions to vulnerability to tobacco use and exposurep Drug Alcohol Dependp 2009 ;(104) Suppl 1:S121-30
- [119] Fraser et Pare. (1989). *The solitary pulmonary nodule. In diagnosis of diseaseof the chest.* Saunders Compagny, Philadelphia, 3d Ed, 1383-1411.
- [120] Stewart BW, Kleihues P. (2003). WHO (World Cancer Report. Lyon), service de pneumologie Belgique.
- [121]. Béatrice bouffard, Julie debrre. (avril 2013). *Le cancer broncho-pulmonaire, incidence et mortalité des cancers*, registre des cancers Poitou-Charentes.
- [122] ÉMELINE FERARD, *Hérédité et cancer, Facteurs de risque héréditaires*. Consulté le : 02 juin 2014.
- [123] Alain Depierre. (2006). *Cancers broncho-pulmonaires: mise au point*, John Libbey Eurotext.
- [124] Nicolas Girard. (2008). *Cancers broncho-pulmonaires*, Hôpital Louis Pradel, Lyon. français, v336.
- [125] Hou XH, Huang YM, Mi YY. Methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T polymorphism and lung cancer: an updated meta-analysis. Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP. 2012;13(5):2025-9.)
- [126] ZHANG XM, MIAO XP, TAN W, et al. (2005). *Association between genetic polymorphisms in methylenetetrahydrofolate reductase and risk of lung cancer.* Acta Academiae Medicinae Sinicae, 27,700-3.
- [127] SAZCI, A., ERGUL, E., GUZELHAN, Y., et al. (2003). *Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms in patients with schizophrenia.* Brain Res Mol Brain Res 117, 104-7.
- [128] Christine Zeindler, Organisation. *Relations publiques et Communications*, CUSM. (7 Mai 2003). La corrélation des polymorphismes et le cancer du poumon gène III enzyme de réduction du groupe du tétrahydrofolate de méthylène.
- [129] LUI H, JIN G, WANG H, et al. (2008). *Association of polymorphisms in one-carbon metabolizing genes and lung cancer risk.* À case-control study in Chinese population. Lung Cancer, 61, 21-9.

- [130] PETO R, DOLL R, BUCKLEY JD, SPORN MB. (1981). *Can dietary β -carotene materially reduce human cancer rates?* Nature, 290, 201-208.
- [131] SHEN M, ROTHMEN N, BERNDT SI, et al. (2005). *Polymorphisms in folate metabolic genes and lung cancer risk in Xuan Wei, China.* Lung Cancer, 49, 299-309.
- [132] CUI LH, SHIN MH, KIM HN, et al. (2011). *Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism in patients with lung cancer in a Korean population.* BMC Med Genet, 12, 28.
- [133] SIEMIANOWICZ K, GMINSKI J, GARCZORZ W, et al. (2003). *Methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T and A1298C polymorphisms in patients with small cell and non-small cell lungcancer.* Oncol Rep, 10, 1341-4.
- [134] Noam Ami, Mark Bernstein, François Boucher, Michael Rieder, Louise Parker. (2016). *Société canadienne de pédiatrie Comité de pharmacologie et des substances dangereuses Paediatr Child Health, 21(3), 150-54.*

Les annexes

Annexe 01 :

Tumeurs bénignes du poumon :

Une tumeur bénigne du poumon est une masse non cancéreuse qui ne métastase pas et ne met habituellement pas la vie en danger. Les tumeurs bénignes du poumon sont rares.

Types de tumeurs bénignes du poumon :

Hamartome : est le type le plus courant de tumeur bénigne du poumon. Il est fait de cellules semblables à du cartilage qui se développent exagérément. Sa taille peut lentement augmenter, mais il ne cause habituellement pas de symptômes.

Papillome : est une tumeur bénigne qui se développe en s'éloignant de la surface des tissus. Le type le plus courant de papillome est fait de cellules squameuses. Le papillome a tendance à se développer dans les bronches. Il peut causer des symptômes lorsqu'il bloque la circulation d'air.

Adénome : plusieurs types d'adénomes peuvent apparaître dans un poumon. On nomme les adénomes selon les types de cellules dans lesquels ils prennent naissance :

- Adénome alvéolaire
- Adénome pléomorphe, Les adénomes sont très rares.

Léiomyome : est une tumeur bénigne faite de cellules musculaires lisses

Annexe 02:

La stadification :

Est une façon de décrire ou de classer un cancer selon l'étendue de la maladie dans le corps. Le système de stadification auquel on a le plus souvent recours dans le cas du cancer du poumon non à petite cellules est la classification TNM. L'UICC utilise ce système pour décrire l'étendue de nombreuses tumeurs cancéreuses solides.

La classification TNM prend en compte :

Les différents examens permettent d'évaluer l'extension de la maladie, c'est-à-dire de déterminer le stade auquel elle se trouve; on parle également de «staging». Pour ce faire, on a recours à la classification internationale TNM :

✓ T = taille, extension (volume) de la tumeur. Elle est exprimée par des chiffres de 0 à 4, plus le chiffre est élevé, plus la tumeur est étendue/de grande taille.

T1 La tumeur a un diamètre inférieur à 3 cm; il n'y a pas d'envahissement des bronches principales.

T2 La tumeur a un diamètre supérieur à 3 cm ou a pénétré dans une des bronches principales de plus de 2 cm à partir du milieu du corps.

T3 La tumeur a envahi la paroi thoracique, la plèvre ou le diaphragme ou a pénétré plus profondément dans une bronche principale. il n'y a pas de signe de métastases dans la trachée.

T4 La tumeur s'est étendue aux parties voisines du corps, comme la trachée ou l'œsophage, la cavité thoracique, les grands vaisseaux sanguins, le cœur.

Remarque: Aux stades T3 et T4, la taille de la tumeur n'est pas forcément significative, de petites tumeurs peuvent elles aussi envahir les organes mentionnés.

✓ N = ganglion lymphatique («nodus» = nodule en latin).

N0 Pas d'atteinte des ganglions lymphatiques régionaux.

N1 Atteinte des ganglions lymphatiques situés du même côté.

N2 Atteinte des ganglions lymphatiques de la paroi thoracique du même côté et des ganglions situés dans la partie centrale, à la jonction entre les bronches principales.

N3 Atteinte des ganglions lymphatiques de l'autre poumon ou des ganglions plus éloignés.

✓ M = métastases

M0 Pas de signe de métastases.

M1 Mise en évidence de métastases, en particulier dans le foie, les surrénales, les os, le cerveau ou les reins ou dans d'autres lobes du poumon non touchés par la tumeur primaire.

Annexe 03 :

Les traitements

1- Chirurgie : Le traitement chirurgical convient seulement lorsque la tumeur cancéreuse est de petite taille et circonscrite à un seul poumon, à condition que l'autre poumon soit suffisamment sain pour assurer la fonction pulmonaire à lui seul.

Lorsque le chirurgien enlève tout le poumon, l'intervention est appelée pneumonectomie et lorsqu'il enlève une partie seulement du poumon, on parle de lobectomie.

C'est pendant l'intervention chirurgicale que le médecin décide de l'étendue de l'exérèse pulmonaire. Même si 10% à 35% des tumeurs cancéreuses du poumon peuvent être éliminées chirurgicalement, le traitement chirurgie ne guérit pas toujours le cancer. La chirurgie est recommandée seulement pour les personnes dont l'état de santé est bon et qui ne présentent aucun signe de métastases. En présence d'un trouble cardiaque ou d'un autre trouble pulmonaire grave, la chirurgie n'est pas une option.

2- Radiothérapie : La radiothérapie permet de traiter le cancer du poumon qui a envahi d'autres tissus ou qui siège trop près de la trachée. La radiothérapie externe par accélérateur linéaire de particules permet de délivrer des doses de 50 à 65 grays en fonction du type histologique en fractions de 1,8 à 2 grays sur 5 à 6 semaines.

Chez les patients qui sont gravement atteints, la radiothérapie a pour but d'empêcher la croissance de la tumeur plutôt que d'essayer de la détruire complètement.

La radiothérapie peut aider à maîtriser la douleur osseuse, le syndrome de compression de la veine cave supérieure et la compression des nerfs dans la moelle épinière, attribuable à la croissance des cellules cancéreuses.

3- Les traitements médicaux :

Chimiothérapie : La chimiothérapie, qui est un traitement composé de médicaments anticancéreux, peut s'utiliser pour prolonger la vie des personnes atteintes d'un cancer du poumon métastatique (propagé à d'autres régions du corps) ou en association avec une radiothérapie pour prendre en charge un cancer du poumon qui n'a pas encore envahi d'autres régions du corps.

- ✓ Les drogues principales sont les suivantes :

- les sels de platine sont encore les drogues «pivots » des cancers bronchiques. Les effets secondaires sont essentiellement rénaux, neurologique, auditifs, digestifs et hématologiques. Le carboplatine permet de limiter la toxicité neurologique et rénale.
- le vépéside est un inhibiteur de la topoisomérase II et a une toxicité essentiellement neurologique.
- la vinorelbine est un poison du fuseau ayant une toxicité essentiellement neurologique et hématologique.
- Les taxanes ont montré leur intérêt et ont des effets indésirables à type d'allergie et de neuropathie.
- Les anthracyclines sont plus rarement utilisées La surveillance d'un patient sous chimiothérapie est clinique et biologique.

Biothérapies ciblées : A la différence des molécules de chimiothérapie classique qui agissent sur toutes les cellules qui se divisent, les biothérapies ciblées bloquent un mécanisme de croissance propre aux cellules cancéreuses. Cela entraîne donc une moindre toxicité pour les autres cellules de l'organisme. Pour autant, ces traitements ne sont pas dénués d'effets secondaires. Trois molécules ont actuellement une AMM:

- *Erlotinib (en comprimé)
- *Bévacizumab (en injection)
- *Gefitinib (en comprimé)

4- Les autres traitements (symptomatiques) :

Les médecins disposent aujourd'hui de médicaments antalgiques puissants et bien tolérés pour lutter contre la douleur.

Le maintien de voies aériennes perméables (pour lutter contre l'asphyxie), lorsqu'il devient nécessaire (ce qui est rare) est possible grâce à la mise en place de prothèses dans les bronches ou la trachée ou encore grâce à la désobstruction des bronches par le laser.

Thérapie photodynamique : ce type de traitement consiste à injecter dans le sang un médicament spécial qui est absorbé par les cellules cancéreuses lorsqu'il est exposé à une lumière laser de haute énergie, le médicament devient actif et détruit les cellules cancéreuses, la thérapie photodynamique peut être utilisée pour traiter certains cas de cancer du poumon de stade précoce ou pour soulager les symptômes associée au blocage des voies aériennes.

Annexe 05 :

Centre hospitalier universitaire BenBadis de Constantine

Laboratoire de biologie et génétique moléculaire

Laboratoire de biochimie

Indentification du paient Nom : Prénom : Date de naissance	N du prélèvement : Adresse : Tel :
---	--

CONSENTEMENT

Je soussigné(e), sus nommé, reconnais avoir été informé(e) par le sur les examens des caractéristiques génétiques qui seront réalisées, dans un but diagnostic et/ou de recherche, à partir :

- Du prélèvement qui m'a été effectué A visée diagnostique
 A visée de recherche

Pour :

.....

Je donne mon consentement pour ce prélèvement et je reconnais avoir reçu l'ensemble des informations, permettant la compréhension de cet acte biologique et sa finalité.

Fait à....., le.....Signature

ATTESTATION

Je certifie avoir informé le (ou la) patient(e) sus nommé(e) sur les caractéristiques de la maladie recherchée, les moyens de la détecter, les possibilités de prévention et de traitement, et avoir recueilli le consentement du (ou de la) patient(e)	Signature et cachet
---	---------------------

Un document de ce type doit accompagner la prescription – et les documents cliniques indispensables- pour chacune des analyses demandées.

Le médecin prescripteur doit conserver le consentement écrit, les doubles de la prescription et de l'attestation, et les comptes rendus d'analyses de biologie médicale commentés et signés.

Annexe 06 :

Préparation du milieu réactionnel du PCR pour MTHFR

PCR	MIX		Quantité
H ₂ O	35.2µL	X Nombre d'ADN	
Tampon 10x sans Mg Cl ₂	5µL		
dNTP	5µL		
MgCl ₂ Mm (1,5mM)	3µL		
Oligo F (100 pmol/µl)	0.2µL		
Oligo R (100pmol/µl)	0.2µL		
Taq polymérase	0.4µL		

Dans l'épendorf : 2µl ADN + 49 µL Mix, puis dans le thermocycleur et appliquer le programme du MTHFR.

✓ Oligo nucléotides utilisés :

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

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

✓ Dilutions des solutions mères utilisées

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

Oligo F solution fille : 37,28 ml d'Oligo F solution mère + 62,72 ml H₂O distillé.

- Oligo R solution mère 333ml

Oligo R solution fille : 30 ml d'Oligo R solution mère + 69,97 ml H₂O distillé.

- dNTP solution mère

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

- MgCl₂ solution mère

50ml MgCl₂ + 50ml H₂O distillé

Annexe 07 :

Préparation du milieu de digestion par l'enzyme Hinf I

Milieu de digestion	Quantité en μL
Tampon de Hinf I	5
Hinf	1
H ₂ O	4
BSA (Bovine sérum albumine)	0.2

X (nombre de produit de PCR) 30 ml produit PCR +10 ml de Mix

-le BSA est un activateur.

✓ Préparation du gel d'agarose:

1, 5 g d'agarose + 100 ml TBE 1X + 10 ml BET (Bromure d'éthidium)

✓ Dépôts des échantillons :

-15 μL de produits de digestion + 2 à 3 μL de Bleu de promo phénol

-3 μL de marqueur (PM 20pb LADDER ref.018206) + 2 à 3 μL de Bleu Bromophénol.

✓ Préparation de Bleu de Bromophénol(BBP) : BBP 20mg

[(Tris 0.5M: 2ml + Glycérol: 5ml) PH 7.5] Qsp 10 ml H₂O

✓ Préparation de TBE 10X: Tris 108g

-Acide borique 55g

-Ajuster le PH à 8.3 avec l'acide acétique glacial

-EDTA 9.3g

-QSP 1L H₂

Résumés

ملخص

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

وكان الهدف من دراستنا اكتشاف الارتباط المحتمل بين التنوع C677T من الجين MTHF, و سرطان الرئة بين المرضى الذين تم ادخالهم إلى قسم علم الأورام الطبية المضادة للسرطان و قسم علم الأمراض الصدرية بالمستشفى الجامعي بقسنطينة.

-المصابين و الطرق:

تم استخراج عينات DNA من الدم المحيطي ل 132 شخص, 31 مريض يعانون من سرطان الرئة و 101 شخص سليم. في أنابيب EDTA بتقنية كلوريد الصوديوم. تم اجراء الكشف عن تعدد الأشكال MTHFR بواسطة تقنية PCR-RFLP, و ذلك باستخدام انزيم القص HinfI

-النتيجة:

النتائج تشير إلى عدم وجود علاقة بين العامل الخطر المحتمل دراسته و ظهور سرطان الرئة عند سكان الجزائر و لذلك فإن هذه النتائج لا تسمح بالتأكيد على وجود هذا الارتباط.

كلمات مفتاحية : سرطان الرئة, تعدد الأشكال, طفرة C677T, MTHFR.

Résumé

Plusieurs études épidémiologiques ont montré que la déficience en folates peut provoquer des lésions de l'ADN conduisant à une instabilité génétique et l'augmentation du risque de plusieurs cancers, notamment le cancer du poumon.

La MTHFR est une enzyme clé dans le métabolisme des folates, le statut cellulaire en folates dépend non seulement de l'apport alimentaire en folates mais aussi de déterminants génétiques. Le polymorphisme de la gène C677T de la MTHFR peut conduire à une activité réduite et être un facteur de risque.

L'objectif de notre travail était d'explorer l'association possible entre la variante du gène de la MTHFR C677T, et la survenue du cancer du poumon chez des patients admis aux services d'Oncologie médicale du Centre Anticancéreux et de pneumologie du CHU de Constantine.

-Patients et méthodes :

L'ADN génomique a été extrait à partir du sang total périphérique de 132 sujets, 31 patientes atteintes d'un cancer du poumon et 101 témoins présumés sains, sur des tubes à EDTA, suivant la technique au NaCl.

La détection du polymorphisme de la MTHFR a été réalisée par PCR-RFLP, en utilisant l'enzyme de restriction Hinf I.

-Résultats :

Nos résultats suggèrent l'absence d'association entre le facteur de risque potentiel étudié (MTHFR C677T) et l'occurrence du Cancer du poumon dans la population Algérienne. Cependant, ces résultats ne permettent pas d'infirmer avec certitude la présence de cette association.

Mots clés : Cancer du poumon, MTHFR, polymorphisme, mutation C677T

Abstract

Several epidemiological studies have shown that folate deficiency may cause DNA damage leading to a genetic instability and increased risk of several cancers, including Pulmonar cancer.

MTHFR is a key enzyme in folate metabolism , the cell folate status depends not only on the dietary intake of folate but also genotypic determinants. The discomfort C677T MTHFR polymorphism may lead to reduced activity and be a risk factor.

The aim of our study was to explore the possible association between the gene variant of MTHFR C677T, and lungs cancer occurred among patients admitted to the Medical Oncology Service Anticancer Center and pneumology service Constantine.

-Patients and methods:

Genomic DNA was extracted from whole peripheral blood of 132 subjects, 31 patients with pulmonar cancer and 101 healthy temoins, on EDTA tubes following the technique NaCl.

Detection of MTHFR polymorphism was performed by PCR-RFLP, using the Hinf I restriction enzyme

- Our results suggest the lack of association between (MTHFR C677T) studied potential risk factor and the occurrence of the CP in the Algerian population. However, these results do not rule out with certainty the presence of this association.

Keywords: pulmonar cancer, polymorphism, mutation C677T, MTHFR.

Le polymorphisme C677T de la méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR) chez des patients présentant un cancer du poumon

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

Plusieurs études épidémiologiques ont montré que la déficience en folates peut provoquer des lésions de l'ADN conduisant à une instabilité génétique et l'augmentation du risque de plusieurs cancers, notamment le cancer du poumon.

La MTHFR est une enzyme clé dans le métabolisme des folates, le statut cellulaire en folates dépend non seulement de l'apport alimentaire en folates mais aussi de déterminants génotypiques. Le polymorphisme de la gène C677T de la MTHFR peut conduire à une activité réduite et être un facteur de risque.

L'objectif de notre travail était d'explorer l'association possible entre la variante du gène de la MTHFR C677T, et la survenue du cancer du poumon chez des patients admis au service d'Oncologie et radiothérapie du Centre Anticancéreux et du service pneumologie du CHU de Constantine.

✓ Patients et méthodes :

L'ADN génomique a été extrait à partir du sang total périphérique de 132 sujets, 31 patients atteints d'un cancer du poumon et 101 témoins présumés sains, sur des tubes EDTA, suivant la technique au NaCl.

La détection du polymorphisme de la MTHFR a été réalisée par PCR-RFLP, en utilisant l'enzyme de restriction Hinf I.

✓ Résultats :

Nos résultats suggèrent l'absence d'association entre le facteur de risque potentiel étudié (MTHFR C677T) et l'occurrence du CP dans la population Algérienne. Cependant, ces résultats ne permettent pas d'infirmier avec certitude la présence de cette association.

Mots clés : cancer du poumon, MTHFR, polymorphisme, C677T

Laboratoire de recherche de biologie et de génétique moléculaire de la FMC UC3

Jury d'évaluation :

Président du jury : *REZGOUNE-CHELLAT D* (MC, Université des Frères Mentouri Constantine)
Rapporteur : *SIFI Karima* (MCA Faculté de médecine UC3)
Examineurs : *CHAOUI N* (MC, Université des Frères Mentouri Constantine)
HANNACHI S (MCA Faculté de médecine UC3)

Date de soutenance : 16/06/2016