

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة

العلمي والبحثي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة أبي بكر بلقايد - تلمسان

Université Aboubakr Belkaïd- Tlemcen –

Faculté des SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS

Département d'Ecologie et Environnement

Laboratoire de Biologie et Génétique moléculaire, Constantine 2

Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Constantine 1



THESE

Présentée pour l'obtention du **grade de DOCTEUR EN SCIENCES**

En : Génétique

Spécialité : Génétique moléculaire des populations humaines

Par : BOUDOKHANE Ibtissem Mouna Epouse HAMMADI

Sujet

Etude de l'implication des polymorphismes des gènes de détoxification et des récepteurs nicotiniques à l'acétylcholine dans la survenue de cancer broncho-pulmonaire dans une population de l'Est Algérien.

Soutenue publiquement, le 08 /12/ 2021, devant le jury composé de :

Mme ABDELLAOUI Karima	Professeur	Univ. Tlemcen	Présidente
Mme SATTA Dalila	Professeur	Univ. Constantine	Directrice
Mme AOUAR Amaria	Professeur	Univ. Tlemcen	Co-Directrice
Mme CHABNI Nafissa	Professeur	Univ. Tlemcen	Examinatrice
M REZGOUNE Mohamed Larbi	MCA	Univ. Constantine	Examineur

Remerciements

Je remercie Mme le professeur Karima ABDELLAOUI de l'université Abou Bakr Belkaïd Tlemcen d'avoir accepté de présider mon jury de thèse. Soyez assurée de ma considération respectueuse.

Mes remerciements vont également à Mme le professeur Nafissa CHABNI de l'université Abou Bakr Belkaïd Tlemcen ; pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant d'évaluer ce modeste travail. Veuillez recevoir mon grand respect.

J'adresse mes sincères remerciements à M. Mohamed Larbi REZGOUNE ; maître de conférences classe A au département de Biologie Animale de l'université de Constantine ; pour être examinateur de ce travail. Qu'il soit aussi remercié pour sa gentillesse, sa disponibilité permanente et pour les nombreux encouragements qu'il m'a prodigués durant tout ce temps de vie étudiante et professionnelle.

Je remercie tout particulièrement ma directrice de thèse Dalila SATTA ; professeur à l'Université de Constantine ; pour la confiance qu'elle m'a accordée. Je lui suis reconnaissante pour ses encouragements, et sa disponibilité à tout moment. Ses qualités scientifiques et humaines m'ont permis de mener ce travail à bon port. Je suis infiniment honorée de l'avoir comme directrice de thèse et je suis ravie d'avoir travaillé en sa compagnie. Merci infiniment Madame.

Je remercie chaleureusement ma co-directrice de thèse Mme Amaria AOUI, professeur à l'université Abou Bakr Belkaïd Tlemcen, pour la qualité de l'enseignement qu'elle m'a prodigué au cours de mes premières années de magister et qui a nourri ce travail. Trouvez ici mes remerciements les plus sincères.

Je remercie profondément l'ensemble des enseignants du Département d'Ecologie et Environnement de l'université Abou Bakr Belkaïd Tlemcen, spécialement Mme Wacila BENGUEDDA, M. Mohamed Anouar KHELIL et Mme Nacera DALY YUCEF pour leur contribution et leur soutien.

Mes remerciements les plus respectueux à M. Mohamed EL-HADEF EL OKKI, maître de conférences classe B à l'institut de la nutrition, de l'alimentation et des technologies agro-alimentaires, à l'université de Constantine pour ses conseils et l'aide précieuse qu'il m'a apporté pour réaliser ce travail. Trouvez ici, Monsieur le témoignage de ma sincère reconnaissance.

Je tiens à exprimer mes remerciements les plus sincères à Monsieur le professeur Norreddine ABADI, de m'avoir accepté au sein de son laboratoire.

Un remerciement chaleureux est adressé à Mme Sara BECHKRI Maître de conférences classe B à l'université de Constantine, pour son soutien et ses conseils. Veuillez accepter Madame mon plus grand respect.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude et mes remerciements les plus sincères à l'ensemble de mes collègues du laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire : Djalila CHELLAT, Warda SEMMAME, Razika GHARZOULI, Khadidja SEDRATI, Hayat BENHIZIA, Naouel CHAOUI, Hadia ZIADA je leur suis reconnaissante pour leur disponibilité et leurs conseils précieux.

J'exprime ma gratitude à Mme Yasmina DADCI pour tout ce qu'elle a apportée pour la réalisation de ce travail. Merci énormément Madame.

J'exprime mes sincères remerciements à Mme Soumia MEDJANI ainsi qu'à Mme Asma MIMOUNI doctorante à l'université de Constantine, d'avoir mis à ma disposition leurs bibliothèques d'ADN. Trouvez ici le témoignage de ma gratitude et de mon amitié.

Mes sincères remerciements à mon amie Anissa NINI du Centre national de Recherche en Biotechnologie.

Je tiens aussi à remercier chaque personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail. Plus particulièrement à : Monsieur, le professeur Taha FILALI, chef de service d'oncologie médiacale au CAC de Constantine. Madame, Sifi KARIMA professeur au service de Biochimie hormonale au CHUC. Je remercie tous ceux qui par leurs encouragements, leur aide, leurs conseils ou leurs critiques, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce travail en la mémoire de tous les patients qui nous ont quittés.

Que Dieu, le Tout Puissant les accueille dans son éternel paradis inchaALLAH.

A ma très chère maman NOURA

Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il le faut. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter tous les obstacles dans cette vie.

A mon très cher papa ABDELMADJID,

Tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'épauler, je ne te remercierai jamais assez ; que ce travail traduit toute ma gratitude et mon affection à ton égard très cher papa.

A mon mari OUSSAMA

Tu as toujours été un époux exemplaire, pour les sacrifices que tu as consentis pour moi et pour le soutien moral que tu n'as cessé de m'offrir. Merci énormément.

A mes frères ANOUAR et YAHIA

*Vous m'avez toujours soutenu et encouragé durant tout mon parcours d'études.
Merci infiniment.*

A mes enfants Nardjes, Nesrine et Wassim et Bassim.

A la mémoire de mes chers grands parents

A la mémoire de ma tante Karima et mon oncle Mohamed

A mes très chers tantes et oncles, du fond du cœur merci.

A toute ma famille, ma belle famille, mes amies, et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Ibtissem

Liste des illustrations

- **Figure 1.** Schéma des différents épithéliums des voies aériennes inférieures.
- **Figure 2.** Les différents types cellulaires de l'épithélium trachéo-bronchique humain.
- **Figure 3.** Classification histologique du cancer du poumon.
- **Figure 4.** Microphotographie d'un carcinome épidermoïde.
- **Figure 5.** Microphotographie d'un adénocarcinome.
- **Figure 6.** Microphotographie d'un carcinome à petites cellules.
- **Figure 7.** Carcinome à grandes cellules.
- **Figure 8.** Histopathogénèse des carcinomes broncho-pulmonaires
- **Figure 9.** Répartition de l'incidence standardisée du cancer du poumon par tranche d'âge
- **Figure 10.** Altérations des gènes clés et oncogènes dans les SCLC, et les NSCLC.
- **Figure 11.** Prise en charge cellulaire des xénobiotiques.
- **Figure 12.** Le cycle catalytique des CYPs P450.
- **Figure 13.** Structure générale des CYPs humains.
- **Figure 14.** Formation des conjugués Glutathione.
- **Figure 15.** Structure d'une GST cytosolique.
- **Figure 16.** Gène CYP1A1.
- **Figure 17.** Mutations du gène CYP1A1.
- **Figure 18.** Régulation de la détoxification et du catabolisme des xénobiotiques.
- **Figure 19.** Polymorphismes des GSTs affectant le risque de cancer chez les fumeurs.
- **Figure 20.** Gène GSTM1.
- **Figure 21.** Schéma du cluster CHRNA5-CHRNA3-CHRNA4.
- **Figure 22.** Gène CHRNA5
- **Figure 23.** Electrophorèse sur gel d'agarose des produits RFLP obtenus.
- **Figure 24.** Profil électrophorétique de la délétion du gène GSTM1
- **Figure 25.** Profil électrophorétique sur gel d'agarose du polymorphisme CHRNA5.
- **Figure 25.** Répartition des patients en catégories socio-économiques.
- **Figure 26.** Exemples d'agrégations familiales de cancer au sein de la population de patients étudiée.

Liste des tableaux

- **Tableau I.** Caractéristiques générales de la population d'étude.
- **Tableau II.** Habitudes toxiques chez les patients et les témoins.
- **Tableau III.** Types histologiques des malades.
- **Tableau IV.** Antécédents personnels des malades.
- **Tableau V.** Antécédents familiaux de cancers chez les malades.
- **Tableau VI.** Fréquences génotypiques et alléliques du gène CYP1A1.
- **Tableau VII.** OR ajusté (sexe, âge, tabac) CBP associé au génotype CYP1A1.
- **Tableau VIII.** OR ajusté (sexe et âge) pour le CBP associé génotype CYP1A1.
- **Tableau IX.** OR ajusté (sexe, tabac) pour le CBP associé au génotype CYP1A1.
- **Tableau X.** Types histologiques et génotypes CYP1A1.
- **Tableau XI.** Fréquences génotypiques du gène GSTM1.
- **Tableau XII.** OR pour le CBP associé au génotype GSTM1.
- **Tableau XIII.** Caractéristiques générales de la population d'étude pour le CHRNA5.
- **Tableau XIV.** Fréquences génotypiques et alléliques du gène CHRNA5.
- **Tableau XV.** OR ajusté (sexe, âge, tabac) pour le CBP associé au CHRNA5.

Liste des abréviations

• ADC	Adénocarcinome
• AGT	O(6)-alkylguanine-DNA alkyltransferase
• AhR	Aryl hydrocarvon Receptor
• ATCDF	Antécédents familiaux
• ATCDP	Antécédents personnels
• BET	Bromure d'ethydium
• CBP	Cancer broncho-pulmonaire
• CCSP	Clara Cell Secretion Protein
• CE	Carcinome épidermoïde
• CIRC	Centre International de Recherche contre le Cancer
• CYPs	Cytochromes P450
• EGFR	Epidermal Growth Epithelial Factor
• EPHX1	Epoxyde hydrolase 1 microsomale
• FISH	Fluorescence in situ hybridization
• GSTM1	Glutathione S Transférase M1
• GWAS	Genome-Wide Association Study
• HAP	Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques
• HER2	Human Epidermal Growth Factor Receptor-2
• HNPCC	Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer
• hOGG1	human 8-Oxoguanine DNA Glycosylase
• KRAS	Kirsten Rat Sarcoma Viral Oncogene Homologue
• LINE	Long Interspersed Nuclear Elements
• LOH	Loss Of Heterozygotie
• LTR	Long Terminal Repeats
• nAChRs	n Acethylcoline recptor
• NATs	N-acetyltransferases
• NQO1	NAD(P)H quinone oxidoreductase
• NSCLC	Non Small Cell Lung Cancer
• PIK3CA	Phosphatidylinositol-3 kinases
• PPAR	Peroxisome Proliferative Activated Receptor
• PRb	Protein retinoblastome
• PXR	Pregnane X Receptor
• RCS	Registre de Cancer de la wilaya de Sétif
• RNS	Reactive Nitrogen Species
• ROS	Reactive Oxygene Species
• SCLC	Small Cell Lung Cancer
• SINE	Short Interspersed Nuclear Elements
• SNP	Single Nucleotide Polymorphism
• UGT	UDP-glucuronosyltransférase

Liste des annexes

- **Annexe 01** Publications
- **Annexe 02** Clasification anatomo-pathologie 2015
- **Annexe 03** Classification UICC stades des cancers bronchiques, 2015.
- **Annexe 04** Loci de susceptibilité au cancer du poumon.
- **Annexe 05** Principales anomalies cytogénétiques des cancers bronchiques.
- **Annexe 06** Questionnaire et fiche de consentement (Patients).
- **Annexe 07** Questionnaire et fiche de consentement (Témoins).
- **Annexe 08** Protocole d'extraction d'ADN.
- **Annexe 09** Agrégations familiales de la population d'étude

Table des matières

Introduction.....	1
1. L'appareil respiratoire	4
1.1 Les voies aériennes supérieures.....	4
1.2 Les voies aériennes inférieures	4
1.3 Histologie	5
1.3.1 Cellules alvéolaires de type I	6
1.3.2 Cellules alvéolaires de type II	6
1.3.3 Cellules de Clara.....	7
2. Généralités sur les cancers broncho-pulmonaires.....	8
2.1 Définition	8
2.2 Aspect anatomopathologique des cancers broncho-pulmonaires	8
2.2.1. Classification des cancers broncho-pulmonaires	9
2.3 Données épidémiologiques des cancers broncho-pulmonaires	14
2.3.1 Epidémiologie mondiale.....	14
2.3.2 Epidémiologie en Algérie	14
2.4 Etiologie du cancer broncho-pulmonaire	16
2.4.1 Facteurs de risque environnementaux	16
2.4.2 Facteurs intrinsèques biologiques et génétiques	17
3. Génétique des cancers broncho-pulmonaires.....	19
3.1 Prédilection génétique au cancer	19
3.1.1 Génétique des formes familiales de cancers bronchiques	19
3.1.2 Génétique des formes sporadiques des CBP.....	21
3.1.3 Cancers broncho-pulmonaires des non-fumeurs	23
3.2 Altérations génétiques courantes dans les CBP	23
3.2.1 Oncogènes.....	23
3.2.2 Gènes suppresseurs de tumeur.....	25
3.2.3 Gènes de contrôle du cycle cellulaire	26
3.2.4 Gènes de réparation d'ADN	26
3.2.5 Modifications épigénétiques.....	27
3.2.6 Anomalies cytogénétiques	28
4. Métabolisme des xénobiotiques.....	30
4.1 Enzymes de phase I : les cytochromes P450	31
4.1.1 Historique.....	31

4.1.2	Propriétés biologiques	31
4.1.3	Structure des CYPs	32
4.1.4	Classification et nomenclature	33
4.2	Enzymes de la phase II	33
4.2.1	Structure des GSTs	34
4.2.2	Classification et nomenclature des GSTs	35
4.3	Polymorphismes génétiques des CYPs et GSTs	35
4.3.1	Polymorphismes génétiques des CYPs et cancérogénèse pulmoanire.....	36
4.3.2	Polymorphisme des gènes GSTs de phase II et cancérogénèse pulmonaire	39
5.	Polymorphismes des récepteurs nicotiniques.....	41
5.1	Association entre le cancer broncho-pulmonaire et la nicotine	41
5.2	Gène d'intérêt CHRNA5	42
1.	Patients et méthodes	44
1.2.	Population de l'étude	44
1.3.	Méthodes.....	45
1.3.1.	Recueil des données	45
1.3.2.	Extraction de l'ADN.....	45
1.3.3.	Estimation de la pureté et la concentration de l'ADN	45
1.3.4.	Analyse du polymorphisme génétique CYP1A1 m1 (rs4646903)	46
1.3.5.	Analyse de la délétion GSTM1.....	48
1.3.6.	Analyse du polymorphisme CHRNA5 (rs16969968)	49
1.3.7.	Analyse statistique.....	51
2.	Résultats et discussion	53
2.1.	Caractéristiques générales de la population d'étude.....	53
2.1.1.	Aspect sociodémographique	53
2.1.2.	Habitudes toxiques	56
2.1.3.	Aspect clinique des patients.....	57
2.1.4.	Analyse du polymorphisme CYP1A1 m1	62
2.1.5.	Analyse du polymorphisme GSTM1.....	67
2.1.6.	Analyse du polymorphisme CHRNA5	68
	Conclusion et perspectives.....	72
	Références bibliographiques.....	74

Introduction

Le cancer broncho-pulmonaire (CBP) est le cancer le plus diagnostiqué au monde, et constitue la principale cause de décès liée au cancer. Il représente 17 pour cent et 9 pour cent de tous les cancers chez les hommes et les femmes respectivement, et représente 19 pour cent de tous les décès liés au cancer (Cheng et al; 2016). Plus de 1,8 million de nouveaux cas de cancer du poumon sont diagnostiqués chaque année dans le monde avec plus de 1,5 million de décès liés à ce cancer (Cagle et al; 2018).

L'Organisation mondiale de la santé (OMS), a estimé en 2018 un taux de survie de cinq ans chez 17,8 pour cent des patients, bien inférieur à celui des cancers du sein et du côlon (<http://gco.iarc.fr>). Cette situation dramatique est principalement due à l'absence d'outils de diagnostic précoce (Terlizzi et al; 2019).

Le cancer du poumon, le plus souvent associé au tabagisme, est une maladie hétérogène, avec une abondance d'altérations génétiques et épigénétiques. Ces modifications génétiques entraînent l'activation des oncogènes et/ou l'inhibition de gènes suppresseurs de tumeurs qui sont essentiels à la transformation maligne des cellules précurseurs de tumeurs (Salehi-Rad et al; 2020).

Les CBP se développent selon le processus multi-étapes, caractérisé par une progression vers le phénotype invasif d'une ou d'un petit nombre de cellules « initiées » par l'acquisition d'altérations génétiques leur conférant un avantage prolifératif. De nombreux agents cancérigènes professionnels ou environnementaux, comme ceux présents dans la fumée du tabac, peuvent induire l'initiation des cellules bronchiques ou alvéolaires et favoriser leur progression. Ces agents affectent souvent l'arbre broncho-pulmonaire dans son ensemble et peuvent initier de façon indépendante des cellules distantes les unes des autres, donnant naissance à plusieurs lésions primaires concomitantes (Baldi et al; 2008).

La présentation de ce cancer (âge, sexe, type histologique) s'est récemment modifiée, essentiellement en raison de l'évolution des pratiques tabagiques. De ce fait, il est possible de dire que les cancers observés en 2018 sont le reflet du tabagisme des années 1980 (Trédaniel 2018). Un nouveau rapport de l'OMS/Europe, "European tobacco use - trends report 2019", lancé à l'occasion de la Journée mondiale sans tabac 2019, confirme que le tabagisme reste un problème de santé publique d'une grande importance. Cela est particulièrement vrai

dans la région Européenne, qui présente la plus forte proportion de tabagisme au monde, avec un nombre de fumeurs estimé à 209 millions (soit 29 %) (<https://www.euro.who.int/>).

Le tabagisme reste sans aucun doute le principal facteur de risque de développement de CBP. Cependant, seulement 10 pour cent des fumeurs développent un cancer du poumon (Miller et Cagle 2018). De plus 10 à 15 pour cent des CBP surviennent chez des non-fumeurs, ce qui suggère l'implication d'autres facteurs environnementaux et génétiques (Tarantini 2009). Contrairement à certains autres cancers courants, le CBP ne présente pas de formes familiales héréditaires clairement établies. Néanmoins, il existe de nombreuses preuves que des facteurs génétiques influencent l'incidence du CBP chez les individus à risque (Bunz 2016).

Malgré tous les efforts déployés pour réduire le tabagisme, le nombre de fumeurs à travers le monde ne cesse d'augmenter avec 1,1 milliard de fumeurs et pourrait aller jusqu'à 1,9 milliard d'ici 2025 (Novello, Stabile, et Siegfried 2018). Les composés chimiques présents dans la fumée de tabac notamment les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) sont considérés comme une des principales familles de polluants atmosphériques, susceptibles d'entraîner des cancers. Les HAP, à l'image du Benzo[a]pyrène sont des procarcinogènes et nécessitent une activation métabolique par des enzymes pour acquérir des propriétés électrophiles et exercer leurs effets toxiques. Cette bioactivation peut transformer certaines molécules en intermédiaires réactifs pouvant interagir avec l'ADN (Tarantini 2009).

Les CBP se répartissent en deux grandes classes ; la classe des carcinomes non à petites cellules ou Non Small Cell Lung Cancer (NSCLC), qui représente environ 75 pour cent des tumeurs pulmonaires. Le quart restant des CBP sont des carcinomes à petites cellules Small Cell Lung Cancer (SCLC) (Bunz 2016).

L'Homme est constamment exposé à des molécules présentes dans l'environnement désignées sous le terme général de xénobiotiques, regroupant contaminants alimentaires, composés synthétiques, polluants environnementaux et médicaments

L'objectif principal de l'étude est l'analyse de polymorphismes génétiques de susceptibilité au CBP, les objectifs secondaires étaient de définir les caractéristiques épidémiologiques, cliniques, histo-pathologiques au moment du diagnostic dans le but d'étudier l'association de certains facteurs de risque, et ce afin de définir les caractéristiques biologiques

et cliniques de ce cancer dans une population de l'Est Algérien. Les polymorphismes explorés dans le présent travail concernent les gènes codant les enzymes de détoxification des xénobiotiques CYP1A1, GSTM1, et le gène CHRNA5 appartenant aux récepteurs nicotiques à l'acétylcholine.

D'autre part, nous avons essayé d'établir des pedigrees pour certaines formes familiales de ce cancer et de définir les hypothèses pouvant les expliquer en fonction des données de littérature disponibles.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1. L'appareil respiratoire

L'appareil respiratoire est un ensemble d'organes et de tissus qui participent à la respiration, c'est-à-dire aux échanges d'O₂ et de CO₂ entre les cellules et le milieu extérieur. Le système respiratoire chez l'être humain est composé des voies aériennes supérieures, et des voies aériennes inférieures.

1.1 Les voies aériennes supérieures

- **Les fosses nasales** filtrent (grâce aux poils) et humidifient (grâce aux cellules à cils vibratiles de la muqueuse respiratoire) l'air inhalé.
- **Le pharynx** est situé entre les fosses nasales, le larynx, la bouche et l'œsophage ; c'est un carrefour aéro-digestif. Son rôle est d'obturer la voie aérienne lors de la déglutition.
- **Le larynx** est un conduit aérien constitué de tissus cartilagineux, osseux et musculaires. L'air fait vibrer les cordes vocales au niveau des cartilages aryénoïdes (Hallouët 2010).

1.2 Les voies aériennes inférieures

- **La trachée**

Conduit aérien de 12 cm de long et de 2,5 cm de diamètre commençant au niveau de C5, constitué d'anneaux fibro-musculo-cartilagineux empilés. De chaque côté de la trachée sont répartis les nerfs récurrents du larynx, les artères carotides et les veines jugulaires. Le sternum est en avant, la crosse aortique, en arrière.

- **Les bronches**

La trachée bifurque (carène, cartilage en forme de Y) en 2 bronches souches (droite et gauche) vers le hile de chaque poumon. Elles se divisent en bronches segmentaires lobaires (supérieure, moyenne et inférieure à droite et supérieure et inférieure à gauche). Elles diminuent de calibre pour se terminer en bronchioles, puis en alvéoles.

- **Les poumons**

Organes spongieux gris rosé situés à l'intérieur de la cage thoracique, protégés par les côtes, les muscles inter-costaux et la plèvre. Ils épousent la forme du thorax, du médiastin (au centre, qui contient l'œsophage, les bronches, le cœur et l'aorte) et du diaphragme. Ils s'étendent du diaphragme aux clavicles. Leur forme est pyramidale, de base concave et dont le sommet (l'apex) est tronqué. Un hile se trouve à la face interne de chaque poumon, il forme un creux

où pénètrent : les artères bronchiques, les veines bronchiques, l'artère pulmonaire, la veine pulmonaire, un plexus nerveux (Hallouët 2010).

- La face latérale du poumon droit montre une petite scissure horizontale et une plus grande scissure verticale délimitant les 3 lobes, supérieur, moyen et inférieur. La face latérale du poumon gauche montre une seule scissure oblique qui sépare les deux lobes, supérieur et inférieur.

- La plèvre est constituée de membranes séreuses qui enveloppent chaque poumon, comprenant deux feuillets : un feuillet viscéral qui recouvre la surface externe du poumon ; et un feuillet pariétal qui tapisse la paroi interne de la cage thoracique et forme des culs-de-sac de chaque côté du cœur et au niveau des dernières côtes ; entre ces deux feuillets réside un espace virtuel soumis à une pression inférieure à la pression atmosphérique. La plèvre permet la fluidité des mouvements pulmonaires et participe aux différences de pressions intra-pulmonaires lors de la respiration.

- **Les alvéoles**

Leur nombre est de 300 à 500 millions avec une surface d'échange gazeux d'environ 200 m². La membrane alvéolo-capillaire sépare l'air du sang (provenant des capillaires et des artères pulmonaires) et permet les échanges gazeux, facilités par la présence de surfactant (Hallouët 2010).

- **Les muscles**

Représentés par le diaphragme, les muscles sterno-cleïdo-mastoïdiens et les muscles intercostaux (Hallouët 2010).

1.3 Histologie

L'appareil respiratoire humain est tapissé d'un épithélium dont la morphologie diffère selon sa position dans l'arbre bronchique. L'épithélium des voies aériennes inférieures est constitué de trois types d'épithélium :

- L'épithélium trachéo-bronchique, cylindrique pseudostratifié,
- L'épithélium bronchiolaire, composé principalement des cellules de Clara, cylindrique simple puis cubique simple au niveau des bronchioles terminales,
- L'épithélium alvéolaire simple,
- L'épithélium trachéo-bronchique est composé principalement de quatre types cellulaires qui reposent sur la lame basale, cependant toutes n'atteignent pas la lumière bronchique. Cet épithélium est composé de cellules ciliées, de cellules caliciformes

mucosécrétantes, de cellules basales et de cellules neuroendocrines , qui sont reliées les unes aux autres par des jonctions intercellulaires qui jouent ensemble un rôle de protection vis-à-vis des agents pathogènes inhalés (Medjber 2012).

- L'épithélium alvéolaire des alvéoles comprend des structures de soutien constituées de deux grands types de cellules (Zheng, Li, et Zhang 2018). Les pneumocytes de type I et de type II tapissent la surface alvéolaire des poumons. L'échange de gaz se produit dans la partie mince du septum alvéolaire, qui est composé d'un revêtement de cellules épithéliales de type I, d'une membrane basale un endothélium capillaire pulmonaire (Meyerholz et al; 2018).

1.3.1 Cellules alvéolaires de type I

La majorité de la surface alvéolaire est tapissée par ces cellules, qui sont généralement extrêmement minces (environ 0,1 μm), qui manquent de capacité de prolifération. La cellule de type I est une cellule relativement complexe, dépourvue d'organelles avec des plaques où s'effectue l'échange gazeux dans l'alvéole. L'échange d'air entre les alvéoles et les capillaires se produit en traversant au moins quatre structures, à savoir l'épithélium alvéolaire, la membrane basale épithéliale, la membrane basale endothéliale vasculaire, et les cellules endothéliales (Zheng, Li, et Zhang 2018).

1.3.2 Cellules alvéolaires de type II

Les cellules alvéolaires de type II sont cubiques ou rondes et saillissent dans la cavité alvéolaire, avec un noyau rond et un cytoplasme mousseux. Ces cellules agissent comme un "gardien" du compartiment alvéolaire. Elles réagissent aux lésions des cellules vulnérables de type I ; en effet ces cellules se divisent et agissent comme des cellules progénitrices pour les deux types cellulaires I et II. Les cellules alvéolaires de type II forment 63 pour cent des cellules de la paroi épithéliale. Ces cellules sont métaboliquement actives avec mitochondries abondantes, un réticulum endoplasmique, polyribosomes et appareil de Golgi. Toutefois, les caractéristiques les plus importantes sont les microvillosités autour de l'apex et les corps d'inclusion dans le cytoplasme. Ces corps lamellaires sont le site de stockage du surfactant pulmonaire, ainsi que les protéines et lipides qui tapissent le compartiment alvéolaire (Zheng, Li, et Zhang 2018).

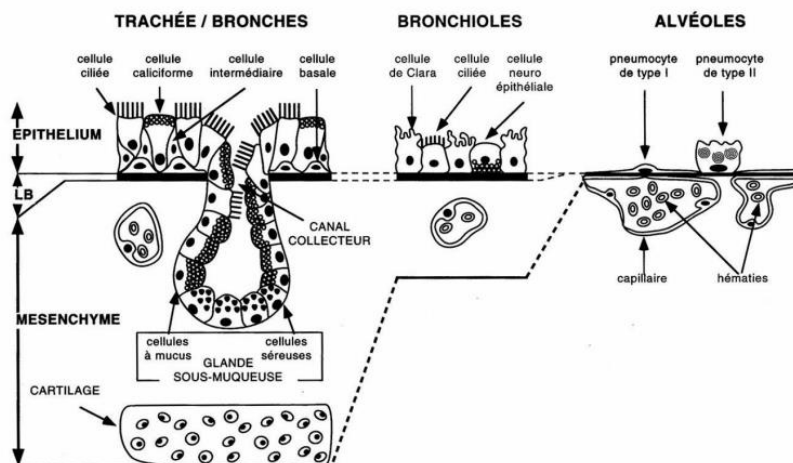


Figure 1. Schéma des différents épithéliums des voies aériennes inférieures (Medjber 2012).

1.3.3 Cellules de Clara

Dans les voies aériennes distales, des cellules de Clara sont présentes. Ces cellules sont non ciliées, sans sécrétion de mucus. Dans les poumons humains, les cellules Clara constituent 15 à 20 pour cent des cellules épithéliales des voies respiratoires distales. Au microscope optique, les cellules sont en forme de dôme, avec un cytoplasme coloré. Le microscope électronique montre qu'il existe de nombreux granules sécrétoires dans le cytoplasme, au sommet des cellules. Les cellules de Clara sont impliquées dans le processus de réparation des bronches des lésions épithéliales. La protéine de sécrétion des cellules de Clara (CCSP) est le produit de sécrétion le plus important de ces cellules. Cette protéine joue un rôle important en physiologie dans la protection des organes, le renouvellement épithélial des voies respiratoires, la réparation des dommages, la biotransformation des substances chimiques exogènes et la régulation de l'équilibre hydrique des voies respiratoires distales (Zheng, Li, et Zhang 2018).

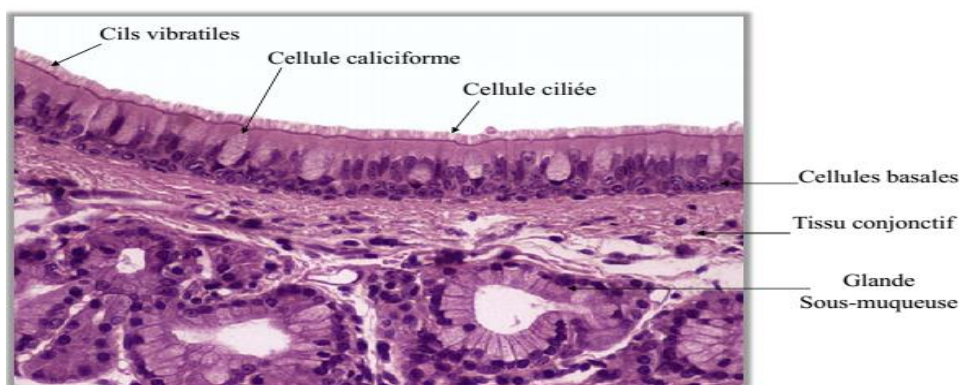


Figure 2. Les différents types cellulaires de l'épithélium trachéo-bronchique humain (Medjber 2012).

2. Généralités sur les cancers broncho-pulmonaires

2.1 Définition

La plupart des cancers du poumon sont des carcinomes (les autres types histologiques représentent moins de 1 pour cent des cas). Ces carcinomes se développent à partir de l'épithélium bronchique des voies respiratoires larges et moyennes, et des alvéoles pulmonaires (www.ipubli.inserm.fr).

Durant longtemps, le CBP a été considéré comme une maladie néoplasique touchant principalement les hommes. Cependant, au cours des 40 dernières années, l'incidence de la maladie a augmenté de manière exponentielle chez les femmes (Novello, Stabile, et Siegfried 2018).

Comme dans la plupart des cancers, les CBP acquièrent au cours de leur développement une variété d'altérations génétiques (mutations, amplifications géniques, pertes d'allèles, instabilités chromosomiques) et épigénétiques. La fréquence et le type des altérations diffèrent d'une histologie à l'autre, cependant, quel que soit le type histologique, les mêmes voies sont souvent affectées par des mécanismes différents. La conséquence biologique principale de ces altérations est que la cellule affectée devient capable de proliférer au-delà de sa limite répllicative normale. Ces effets ne sont pas propres aux carcinomes broncho-pulmonaires : les mécanismes en question sont impliqués de façon générale dans tous les types de cancers épithéliaux (Baldi et al; 2008).

2.2 Aspect anatomopathologique des cancers broncho-pulmonaires

Les CBP sont classés en deux grandes catégories : les carcinomes dits « non-a petites cellules » (Non-Small Cell Lung Carcinomas, NSCLC), qui dérivent des cellules souches épithéliales de la muqueuse broncho-pulmonaire, et les carcinomes dits « à petites cellules » (Small Cell Lung Carcinoma, SCLC) qui regroupent plusieurs catégories de cancers présentant des caractéristiques morphologiques, histologiques et ultra structurales communes, dont en particulier la présence de granules neurosécréteurs et une importante activité mitotique. Les NSCLC représentent 75 pour cent des cas, et peuvent adopter plusieurs architectures selon l'étiologie et la localisation dans l'arbre bronchique (Baldi et al; 2008).

2.2.1. Classification des cancers broncho-pulmonaires

La classification de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), actualisée en 2015 a introduit les données moléculaires intégrées aux caractères morphologiques et immuno-phénotypiques, afin de reclasser les tumeurs pulmonaires. Ces données moléculaires identifient également avec certitude des entités plus rares communes à la classification histologique tumorale d'autres organes comme les tumeurs des glandes bronchiques (Antoine et al; 2018). Plusieurs marqueurs tumoraux sont utilisés dans le diagnostic, on cite à titre d'exemple le marqueur TTF1 qui est généralement utilisé comme marqueur des cellules épithéliales dans les cancers pulmonaires, et qui est spécifiquement exprimé dans les adénocarcinomes pulmonaires et dans les carcinomes du poumon à petites cellules (SCLC pour small cell lung carcinoma) et dans les tumeurs neuroendocrines du poumon. Il est un excellent marqueur pour différencier les carcinomes métastatiques des cancers primaires du poumon.

- **Carcinomes épidermoïdes**

Les carcinomes épidermoïdes (CE) représentent 20 à 30 pour cent des cancers du poumon. Les localisations périphériques sont plus fréquentes, ces tumeurs sont caractérisées par la présence visible de kératine, «perles squameuses» et desmosomes ou ponts intercellulaires (Fig.3). Les carcinomes épidermoïdes ont tendance à se former dans les voies respiratoires relativement grandes ou proximales, segmentaires ou lobaires. La croissance de la tumeur dans la lumière bronchique, peut entraîner l'obstruction des voies respiratoires, le tabac est impliqué dans 96 pour cent des cas (Weinberger, Cockrill, et Mandel 2019).

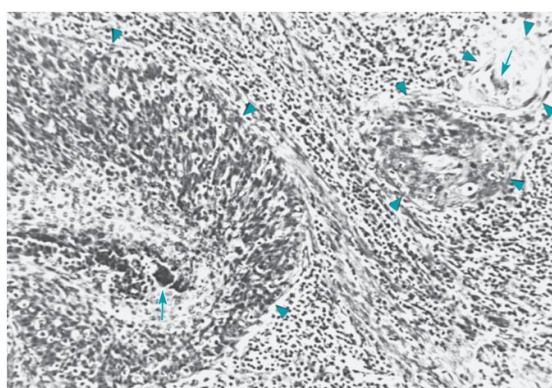


Figure 3. Microphotographie d'un carcinome épidermoïde. Trois foyers tumoraux sont indiqués dans la figure, chacun est souligné par des pointes de flèches. Les régions intermédiaires montrent le tissu conjonctif et les cellules inflammatoires. Les flèches pointent les deux zones de formation de kératine (Weinberger, Cockrill, et Mandel 2019).

La propagation du carcinome épidermoïde au-delà des voies respiratoires implique généralement une extension au parenchyme pulmonaire ou à d'autres structures voisines par l'envahissement des vaisseaux lymphatiques, avec propagation aux ganglions lymphatiques locaux dans le hile ou le médiastin (Weinberger, Cockrill, et Mandel 2019). Du point de vue moléculaire, ces cancers se développent à partir des cellules basales qui n'expriment pas le facteur de transcription TTF1. Son profil phénotypique est l'expression de p40 ou p63. Les études génomiques ont montré des altérations moléculaires spécifiques des carcinomes épidermoïdes comme : TP53, NFE2L2, PI3KCA, KEAP1, DDR2 , des mutations rares du gène EGFR et des amplifications de gènes : CCND1, SOX2, FGFR1, CCNE, EGFR, MYCL1 (Antoine et al; 2018).

- **Adénocarcinomes**

Les adénocarcinomes (ADC) représentent 50 pour cent des cancers pulmonaires. Le diagnostic d'ADC repose sur la mise en évidence d'une architecture de type glandulaire, et/ou la mise en évidence de mucosécrétion intracellulaire et/ou l'expression immunohistochimique (IHC) de TTF1 et/ou l'absence d'expression de p40 ou p63. La majorité des adénocarcinomes surviennent à la périphérie, au niveau des bronchioles ou des parois alvéolaires. L'adénocarcinome est le type le plus diagnostiqué chez les non-fumeurs. L'aspect caractéristique définissant l'adénocarcinome est la formation de glandes et la production du mucus (Fig.4) (Weinberger, Cockrill, et Mandel 2019).

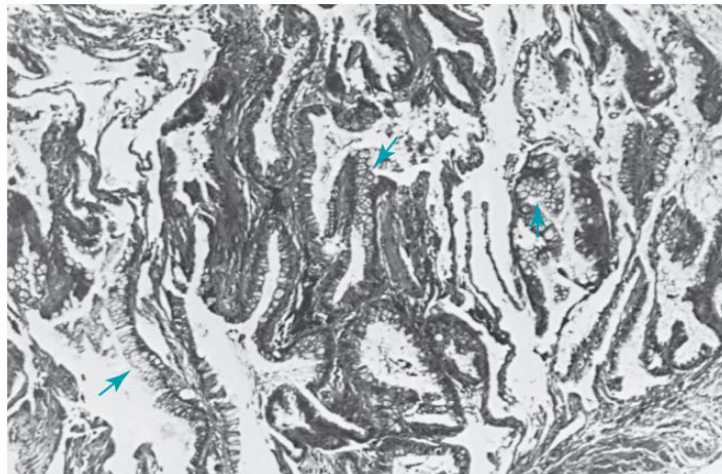


Figure 4. Microphotographie d'un adénocarcinome : les cellules malignes forment des structures ressemblant à des glandes et produisent du mucus (Weinberger, Cockrill, et Mandel 2019).

Bien que l'adénocarcinome puisse se propager localement aux régions adjacentes du poumon ou à la plèvre, il peut aussi atteindre des ganglions lymphatiques hilaires et médiastinaux et avoir des propagations métastatiques lointaines comme le foie, les os, le système nerveux et les glandes surrénales (Weinberger, Cockrill, et Mandel 2019).

- **Carcinomes adénoquameux**

Les carcinomes adénoquameux sont des tumeurs composites, qui associent une composante épidermoïde et adénocarcinomateuse, qui peuvent être de type et différenciation variable dans le même foyer tumoral, ce type exprime habituellement le TTF1. Ce sont des tumeurs plutôt de localisation périphérique. Ils ont un mauvais pronostic que les autres NSCLC (Antoine et al; 2018).

- **Carcinomes à petites cellules**

Les carcinomes à petites cellules, représentant environ 14 pour cent de tous les CBP, et étaient auparavant classés en tant que groupe séparé. Cependant, en 2015, les carcinomes à petites cellules ont été reclassés comme étant un sous-type des tumeurs neuroendocrines. Des études moléculaires et chromosomiques ont montré que plus de 90 pour cent des carcinomes à petites cellules ont des délétions sur le bras court du chromosome 3 (3p), les cellules malignes dans ce type se présentent sous la forme de petites cellules sombres (Fig.5). Ils ont une dissémination rapide, des complications précoces avec souvent des métastases cérébrales et osseuses (Weinberger, Cockrill, et Mandel 2019).

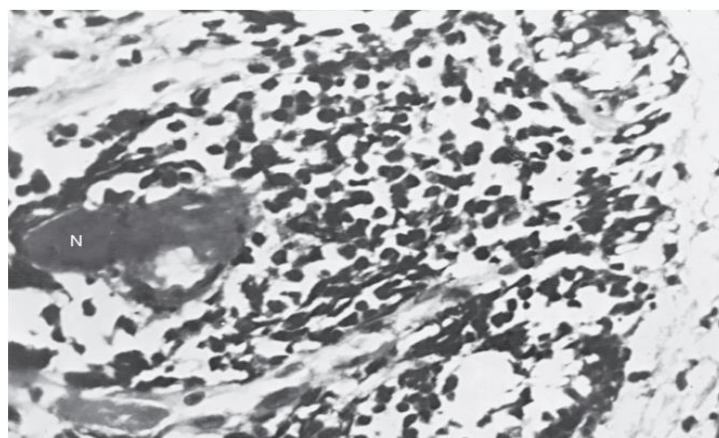


Figure 5. Microphotographie d'un carcinome à petites cellules. Les cellules malignes ont des noyaux irréguliers et foncés. (N) la zone de la nécrose dans la tumeur (Weinberger, Cockrill, et Mandel 2019).

- **Carcinomes à grandes cellules**

Les carcinomes à grandes cellules représentent environ 3 pour cent de tous les cancers du poumon. Ils constituent un diagnostic d'exclusion, c'est le carcinome le plus difficile à décrire sous microscope, il se présente sous forme d'amas de grandes cellules polygonales avec des nucléoles et un cytoplasme réduit (Weinberger, Cockrill, et Mandel 2019). L'immunohistochimie a montré que ce type histologique pouvait être reclassé en adénocarcinome solide ou carcinome épidermoïde non kératinisant selon l'expression respective de TTF1 et (ou mise en évidence d'une mucosécrétion), et p63-p40, certains de ces carcinomes à grandes cellules correspondent à des carcinomes neuroendocrines à grandes cellules avec expression des marqueurs neuroendocrines (Antoine et al; 2018).

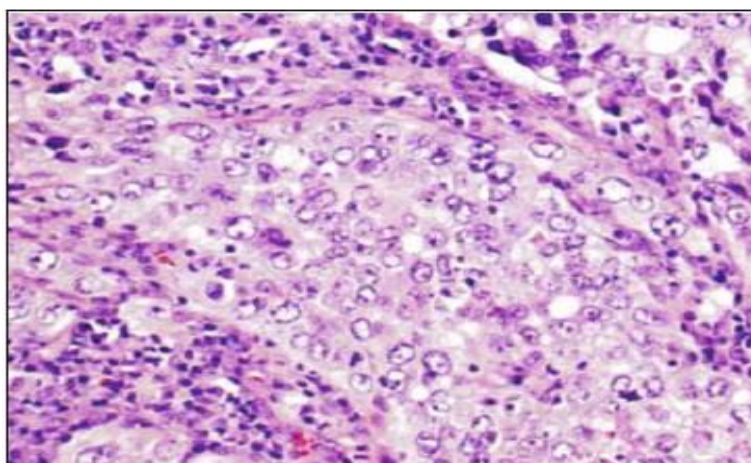


Figure 6. Carcinome à grandes cellules : ces carcinomes sont caractérisés par de grandes cellules tumorales avec un cytoplasme abondant, de gros noyaux vésiculaires et des nucléoles importants (Wistuba et Gazdar 2006).

- **Carcinomes sarcomatoïdes**

Les carcinomes sarcomatoïdes primitifs pulmonaires représentent environ 1 pour cent des NSCLC. La classification OMS 2015 a réuni sous ce terme tout carcinome ayant comme point commun de comporter des cellules d'aspect pseudosarcomateux du fait de l'aspect fusiforme ou géant des cellules. Cinq sous types sont décrits : le carcinome pléomorphe, le carcinome à cellules fusiformes, le carcinome à cellules géantes, le carcinosarcome, et le pneumoblastome. Les patients fumeurs, sont très souvent symptomatiques et présentent de volumineuses tumeurs, plutôt périphériques nécrotiques que centrales. Les métastases peuvent avoir des localisations viscérales atypiques (Antoine et al; 2018).

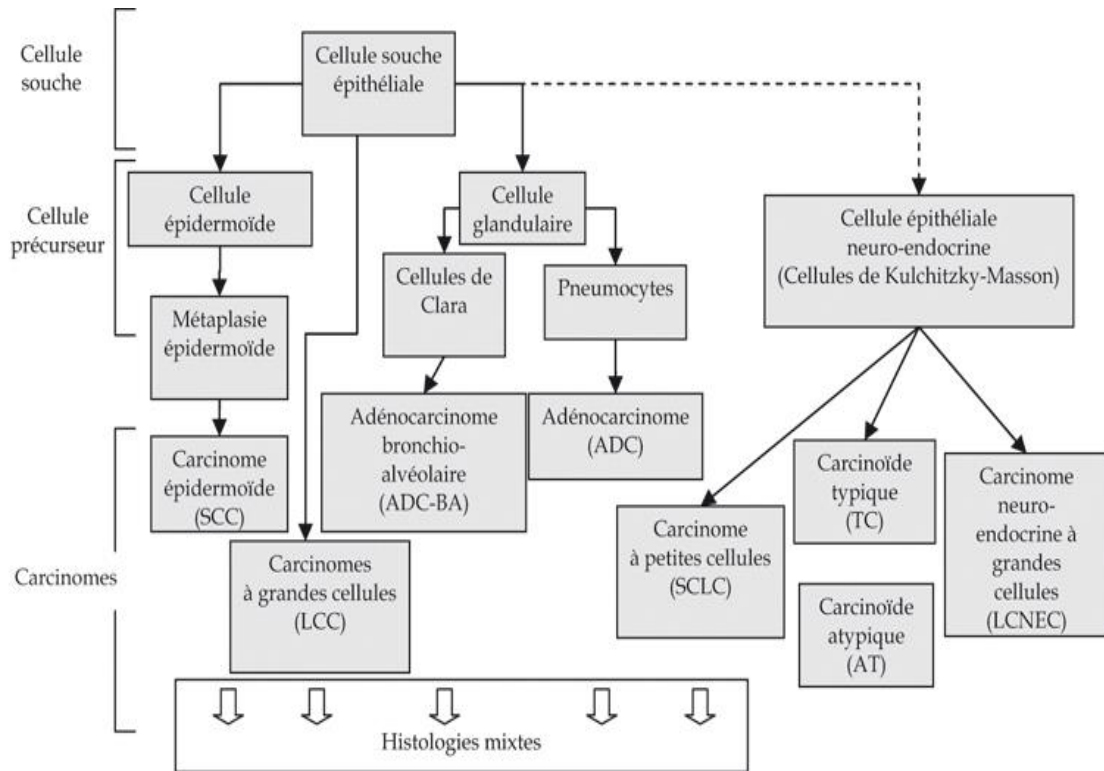


Figure 7. Histopathogénèse des carcinomes broncho-pulmonaires : ce modèle montre les filiations entre les différents types de cellules de l'épithélium broncho-pulmonaire et les carcinomes qui en dérivent. La flèche en pointillé illustre le caractère hypothétique de la filiation entre la cellule précurseur des carcinomes neuro-endocrine et les cellules souches de l'épithélium (www.ipubli.inserm.fr/bitstream/handle/10608/102/Chapitre_3.html).

2.3 Données épidémiologiques des cancers broncho-pulmonaires

Les CBP sont des cancers fréquents et de mauvais pronostic. Il s'agit de la première cause de décès par cancer dans le monde. Derrière ce pronostic défavorable se cache de nombreuses disparités selon l'âge, le sexe, le niveau social et l'exposition aux facteurs de risque. La mise en évidence d'anomalies génétiques motrices de la cancérogenèse a totalement modifié la classification de ces tumeurs et leur épidémiologie (Guibert, Milia, et Mazieres 2016).

2.3.1 Epidémiologie mondiale

Le rapport publié par le Centre International de Recherche contre le Cancer (CIRC ou International Agency for Research on Cancer) en 2014, a fait état de 14 millions de cas incidents de cancers en 2012, tous sites confondus pour les deux sexes. Dans le monde, près de 1,6 million de décès ont été attribués au cancer du poumon en cette même année (1,1 million chez les hommes et près de 500 000 chez les femmes) (Miller et Cagle 2018).

Les taux les plus élevés continuent à s'observer dans les pays développés. Toutefois, on voit depuis plusieurs années l'épidémie s'étendre dans les pays moins développés, notamment Asiatiques comme la Chine. L'Afrique reste encore relativement épargnée. La prévalence du CBP suit celle du tabagisme à travers le monde (Trédaniel 2018).

2.3.2 Epidémiologie en Algérie

Le cancer en général et le CBP en particulier constitue actuellement un des principaux problèmes de santé publique en Algérie. Le registre de cancer de la wilaya de Sétif (RCS) a été mis en place depuis 1986. Le RCS a pour objectif d'établir les chiffres d'incidence, de mortalité et de survie des tumeurs malignes en vue de susciter des études épidémiologiques visant à vérifier des hypothèses étiologiques et de servir comme base de données pour le plan national de cancer et son suivi (Hamdi-Cherif et al; 2014).

Chez l'homme de 1986 à 2010, les cancers ont augmenté de façon significative ($p < 0,05$), avec un taux d'incidence qui passe de 11,2 à 20,7 pour 100 000 habitants. Chez les femmes le CBP vient en troisième position après le cancer du sein et du col de l'utérus avec une incidence plus ou moins stable de 1986 jusqu'à 2003, puis une nette augmentation ces dernières années où elle est passée de 1,7 pour 100 000 habitants en 2003 à 4 pour 100 000 habitants en 2010 (Hamdi-Cherif et al; 2014).

L'Algérie est un exemple de véritable transition épidémiologique. L'évolution démographique a entraîné un vieillissement progressif de la population. Chez l'homme l'augmentation du taux d'incidence du cancer du poumon débute dès 40 ans pour atteindre un pic à 70 ans puis diminue progressivement. Chez la femme le taux d'incidence augmente progressivement avec l'âge (Hamdi Cherif et al; 2020).

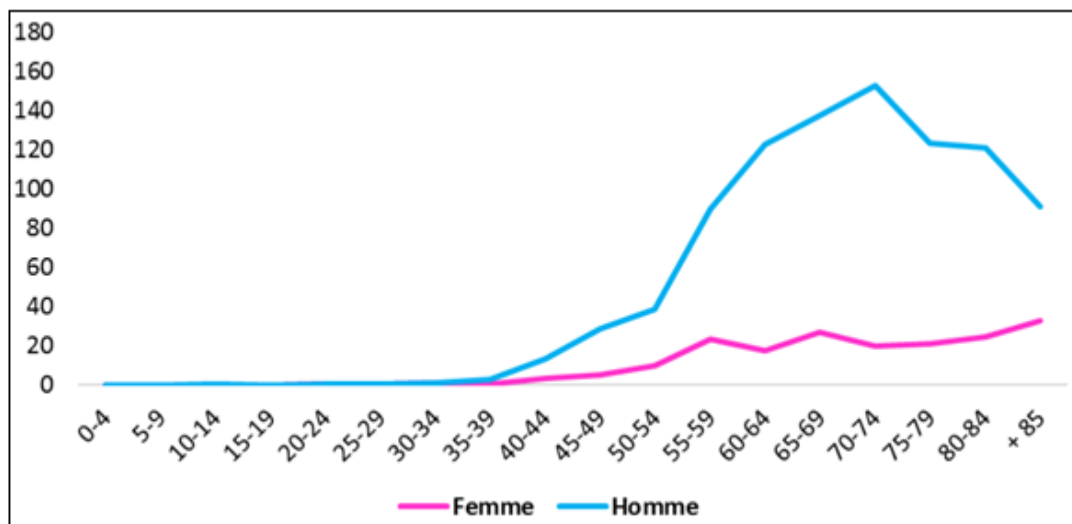


Figure 8. Répartition de l'incidence standardisée du cancer du poumon par tranche d'âge chez les deux sexes, Réseau Est et Sud Est 2017 (Hamdi Cherif et al ; 2020).

En 2014, les taux bruts et d'incidence du cancer pour 100 000 habitants, normalisés selon l'âge, étaient respectivement de 14,9 et 22,7. Ces taux d'incidence ont été modélisés à partir des données de Setif et des données des registres du cancer publiées dans Cancer in Africa, Cancer Incidence in Five Continents in the period 2000-2014, et Globocan data 2012. Selon l'étude faite par Bounedjar et al. (2020) qui s'est étendue entre Juillet 2016 et juillet 2017, l'incidence globale du cancer du poumon était de 3,4 cas pour 100 000 habitants ; l'incidence globale par sexe était de 5,8 pour les hommes et de 1,0 pour les femmes. L'adénocarcinome était le type de cancer le plus courant sur le plan histologique. La plupart des tumeurs ont été diagnostiquées au stade IV (Bounedjar et al; 2020). Les données d'incidence du CBP du réseau Est et Sud Est en l'an 2017 ont rapporté un nombre de cas de 1357 pour le poumon et les bronches, avec un taux brut de 17,2 par 100 000 habitants. Chez l'homme l'incidence la plus importante a été enregistrée au niveau des wilayas de Bejaia, de Batna et de Jijel. Chez la femme les wilayas de Jijel, de Bordj Bouariridj et de Béjaia sont les plus touchées (Hamdi Cherif et al ; 2020).

2.4 Etiologie du cancer broncho-pulmonaire

Le CBP est un cancer largement associé à l'exposition à des agents présents dans l'environnement général et professionnel. La fonction physiologique pulmonaire place le poumon comme le premier organe concerné par les substances pénétrant dans l'organisme par inhalation. Beaucoup d'études épidémiologiques se sont intéressées à la recherche de facteurs de risque des CBP. Plusieurs facteurs étiologiques environnementaux sont impliqués dans la carcinogénèse pulmonaire, comme certaines expositions professionnelles, ainsi que les polluants du tabagisme actif et passif (Anttila et Boffetta 2014).

2.4.1 Facteurs de risque environnementaux

- **Tabagisme**

L'excès de risque de CBP chez les fumeurs par rapport aux non-fumeurs a été démontré depuis les années 50. La durée du tabagisme est le déterminant le plus important du risque de CBP. Un non-fumeur est défini comme une personne qui a fumé moins de 100 cigarettes au cours de sa vie. Les autres sont soit des ex-fumeurs (arrêt depuis plus d'un an) soit des fumeurs actuels (fumant encore ou ayant cessé de fumer depuis moins d'un an). Les modifications de localisation bronchique et histologique des CBP (plus d'adénocarcinomes) ces dernières décennies semblent liées aux modifications de composition des cigarettes industrielles (Solemn et al; 2020).

La composition chimique du tabac est très complexe et contient plus de 3500 composés, dont au moins 55 ont été identifiés comme cancérigènes ou possiblement cancérigènes pour l'homme, notamment les HAP et les amines aromatiques (Munnia et al; 2017).

A côté du tabagisme actif, le rôle du tabagisme passif dans la survenue du cancer bronchique n'est pas à négliger, et tient du fait que des taux élevés de cotinine et de goudrons cancérigènes sont retrouvés dans les urines des sujets exposés au tabagisme environnemental. Ainsi, plusieurs publications ont mis en évidence un excès de risque chez les épouses de sujets fumeurs (Munoz et Albores 2011).

- **Alcool**

Selon le Centre international de recherche sur le cancer, l'éthanol a été reconnu « agent cancérigène avéré pour l'homme » (groupe 1) en 2012, ce qui explique le lien de causalité avec de nombreux cancers, comme le précise l'OMS (Arvers 2018).

- **Expositions professionnelles**

Les expositions professionnelles à des produits cancérogènes sont des facteurs de risque importants. Parmi les cancérogènes professionnels on peut citer à titre d'exemple l'amiante, la silice cristalline. Des risques accrus de CBP ont été aussi rapportés avec la production d'aluminium, la gazéification du charbon, le brai de goudron de houille, la production de coke, les suies, les fonderies d'acier, la production de caoutchouc, la distillation du goudron. La peinture est classée par le CIRC comme carcinogène humain pour le cancer bronchique (Quoix et Lemarié 2011), (Urban et al; 2018).

- **Métaux lourds**

Une relation dose-effet a été montrée chez les sujets exposés aux composés du nickel avec un risque accru de CBP. Un risque de CBP a été aussi rapporté en cas d'exposition importante à l'arsenic inorganique, au cadmium et béryllium (Urban et al; 2018).

Radiations ionisantes

L'exposition à certaines radiations est considérée comme un facteur de risque de CBP, comme le plutonium, les radiations X et gamma (Urban et al; 2018).

- **Pollution domestique**

La pollution domestique est considérée comme un facteur de risque démontré de CBP chez les femmes Asiatiques non-fumeuses. On parle surtout de l'exposition au charbon domestique, et au radon-222 produit par la décroissance radioactive de l'uranium (Quoix et Lemarié 2011), (Urban et al; 2018).

2.4.2 Facteurs intrinsèques biologiques et génétiques

- **Stress oxydatif**

La respiration aérobie conduit à une augmentation de la production d'énergie, avec la génération de radicaux libres comme sous-produit de ce processus. Les enzymes oxydantes sont situées sur les membranes mitochondriales ; les électrons sont transférés à l'oxygène pendant la respiration aérobie, ce qui entraîne la génération de radicaux libres ou d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et d'espèces azotées réactives (RNS) entraînant des dérèglements dans le milieu intracellulaire, qui peuvent évoluer vers un processus tumoral (Jindal et Singh 2014).

- **Hormones**

La prédominance féminine chez les patients non-fumeurs a fait évoquer un facteur lié au sexe. Le rôle des œstrogènes dans le développement de nombreux adénocarcinomes féminins dont les cancers du sein, de l'endomètre ou de l'ovaire est bien documenté. La présence de récepteurs aux oestrogènes a été mise en évidence sur des cellules tumorales bronchiques avec une expression plus fréquente chez les femmes. Les oestrogènes pourraient jouer le rôle de promoteurs tumoraux, au travers d'un mécanisme médié par les récepteurs, ils sont aussi des carcinogènes directs qui, après une activation en catéchol-oestrogènes, peuvent former des adduits d'ADN et induire des mutations génétiques à l'origine des adénocarcinomes (Quoix et Lemarié 2011).

L'expression des gènes de métabolisation des carcinogènes exprimés dans le poumon est régulée par des facteurs liés au sexe. Il est intéressant de noter que les gènes CYP1A1 et GSTM1 ne métabolisent pas seulement les carcinogènes du tabac, mais jouent également un rôle dans le métabolisme des œstrogènes hautement oxydatif qui est une cause connue de dommage de l'ADN (Stabile et Burns 2016).

- **Infections**

Les patients atteints de bronchopathies chroniques pourraient avoir un risque accru de CBP indépendamment du tabagisme. La présence d'autres antécédents pulmonaires comme la tuberculose, l'asthme et la fibrose pulmonaire ont aussi été associés à un risque de développer un cancer du poumon (Lester 2014), (Urban et al; 2018).

- **Facteurs de risque génétiques**

Une minorité de fumeurs développant un CBP, une susceptibilité génétique est possible. La plupart des CBP sont liés au tabagisme, qui altère les voies respiratoires et les expose à de nombreux agents pro-carcinogènes. Environ 15 pour cent des CBP chez les hommes et 50 pour cent des CBP chez les femmes ne sont pas liés au tabagisme. La susceptibilité génétique explique pourquoi certaines personnes développent un CBP alors que d'autres non, ajoutant à cela les interactions gène-environnement qui peuvent entraîner une sensibilité différente aux différents facteurs de risque en passant d'un individu à un autre (Cagle et al; 2018).

3. Génétique des cancers broncho-pulmonaires

Le concept de carcinogenèse par étapes successives « multistep carcinogenesis », établi initialement dans la carcinogenèse colique, s'applique aussi au CBP. La vie de la cellule épithéliale bronchique normale, nécessite l'expression équilibrée des proto-oncogènes, et de gènes suppresseurs de tumeur. Le cancer bronchique, première cause de mortalité par cancer chez l'homme, résulte de la transformation de cette cellule épithéliale bronchique, sous l'effet des carcinogènes présents surtout dans la fumée de tabac, et entraîne la rupture de cet équilibre physiologique (Madelaine et Zalcman 2005).

L'analyse génomique a révélé que les poumons accumulent de grandes quantités d'altérations génétiques et épigénétiques, y compris des mutations de gènes, des réarrangements, des pertes d'hétérozygotie, et une expression et modification du nombre de copies de certains gènes (Hashimoto, Sato, et Hasegawa 2018).

L'analyse histologique systématique des prélèvements autopsiques de patients décédant d'un CBP, ou des pièces opératoires de CBP, a permis de confirmer l'existence d'un véritable continuum lésionnel au niveau de l'épithélium bronchique, allant de la métaplasie malpighienne au carcinome invasif, en passant par des stades de dysplasie légère, modérée et sévère puis de carcinome *in situ*. Ainsi l'accumulation d'altérations géniques accompagne l'augmentation du potentiel prolifératif des cellules (Madelaine et Zalcman 2005).

3.1 Prédilection génétique au cancer

La prédisposition génétique au cancer peut être représentée par des cancers rares et syndromes héréditaires se transmettant selon les lois de Mendel comme le rétinoblastome, ou des agrégations familiales comme par exemple les atteintes tumorales liées au syndrome de Lynch HNPCC (Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer), ou bien une susceptibilité génétique au cancer en l'absence d'agrégation familiale évidente (Bylicki et al ; 2017).

3.1.1 Génétique des formes familiales de cancers bronchiques

L'existence d'une composante génétique et héréditaire a été suggérée et confirmée par de nombreuses études épidémiologiques. Les antécédents familiaux sont depuis longtemps considérés comme un facteur de risque pour le cancer du poumon. Les registres de cancer Suédois et Islandais ont montré des agrégations familiales de cancer du poumon avec une augmentation du risque allant de 1,9 à 2,7 fois chez les personnes dont un parent au premier

degré est atteint d'un cancer du poumon (Koeller, Chen, et Oxnard 2018). On considère généralement que 5 à 10 pour cent des cancers se développent dans un contexte de prédisposition héréditaire. Ainsi, un facteur héréditaire est soupçonné devant une agrégation familiale de cancers : le plus souvent d'apparition précoce, multifocale, une bilatéralité des atteintes ou l'existence de tumeurs primitives multiples (Bylicki et al ; 2017). Des études sur des familles de patients atteints de cancer du poumon qui étaient non-fumeurs ou nettement plus jeunes que la moyenne ont montré un risque familial accru de cancer du poumon, ce qui soutient l'hypothèse de la susceptibilité génétique au cancer du poumon (Allen 2018).

Par ailleurs, la majorité des gènes associés à la prédisposition au cancer du poumon, correspondent à des gains de fonction des oncogènes. Ces oncogènes affectent le processus de tumorigenèse, en interférant avec la croissance et la prolifération cellulaires, l'angiogenèse, l'inhibition de l'apoptose et la motilité des cellules tumorales ainsi que l'adhésion (Koeller, Chen, et Oxnard 2018).

Le syndrome de Li-Fraumeni qui est un cancer héréditaire lié aux mutations germinales du gène suppresseur de tumeur p53 et qui pourrait avoir plusieurs atteintes y compris des tumeurs pulmonaires, n'était pas fréquent et représentait de 4 à 6 % des cancers pulmonaires familiaux. La mutation germinale EGFR T790M a été signalée comme une autre forme héréditaire de cancer du poumon (Hashimoto, Sato, et Hasegawa 2018).

Il existe des déterminants génétiques pouvant favoriser le développement du CBP. L'identification de ces polymorphismes a pour intérêts une meilleure compréhension des mécanismes d'oncogenèse et le ciblage des populations à risque pour un dépistage précoce. A l'heure actuelle, il n'existe pas de recommandations de dépistage familial pour les CBP ni d'indication de consultation oncogénétique systématique. Il faut néanmoins, toujours garder à l'esprit cette possibilité de susceptibilité génétique en cas d'agrégations familiales et consulter au moindre doute (Bylicki et al; 2017), par exemple les polymorphismes hérités dans les gènes de réparation de l'ADN et les gènes des enzymes métabolisant les xénobiotiques pourraient expliquer le risque élevé, tout comme l'influence génétique de la dépendance à une substance donnée, y compris la dépendance à la nicotine. De multiples loci génétiques peuvent être liés à la dépendance à la nicotine (Allen 2018), y compris le gène nAChR qui a fait l'objet d'une partie de cette étude.

3.1.2 Génétique des formes sporadiques des CBP

Il est important de comprendre que toutes les altérations génomiques ne contribuent pas au cancer. En fait, seul un très petit nombre d'événements mutationnels favorisent réellement la tumorigénèse, ceci dépend du type du gène muté, de la nature de la mutation et du potentiel de réplication global de la cellule dans laquelle la mutation s'est produite (Bunz 2016). Les mutations somatiques multiples au sein des gènes suppresseurs de tumeur, des oncogènes et des gènes liés à la réparation de l'ADN peuvent fonctionner de façon concertée, pour conférer un avantage prolifératif aux tumeurs. Des mutations au niveau chromosomique sous forme de perte d'hétérozygotie, de translocations, de délétions et de mutations ponctuelles ont toutes été bien décrites dans le cancer du poumon (Nana-Sinkam et Powell 2013).

- **Altérations génétiques des formes sporadiques des CBP**

Le séquençage du génome humain et les nouvelles technologies de génotypage à haut-débit ont révélé l'abondance de la variation génétique depuis la substitution d'un nucléotide à un locus donné (Single Nucleotide Polymorphism [SNP]) jusqu'à des altérations chromosomiques de grande taille (Benhamou 2010).

Le projet de séquençage de l'ADN des tumeurs a pu identifier des mutations communes notamment celles de l'EGFR, p53, et K-ras et de nombreuses autres mutations moins bien décrites au niveau d'autres gènes tels que NEK9 et MUC16. En plus de l'identification des mutations survenant dans des régions non codantes du génome (Nana-Sinkam et Powell 2013). Si l'on prend l'exemple des types de cancer du poumon les plus répandus,

- L'adénocarcinome pulmonaire est le sous-type le plus courant des NSCLC, et est caractérisé par un profil génétique complexe défini par plusieurs types de mutations, et certains réarrangements de gènes. Alors que les mutations des TP53 et LRP1B sont courantes dans tous les NSCLC, les adénocarcinomes semblent avoir des taux plus élevés de mutations somatiques au niveau des gènes KRAS, l'EGFR, KEAP1, STK11, MET et BRAF par rapport aux SCLC. Les délétions du chromosome 9p21.3 contenant les gènes CDKN2A et CDKN2B, sont aussi couramment rencontrées dans les adénocarcinomes, elles entraînant une dysrégulation du contrôle du cycle cellulaire (Suster et Mino-Kenudson 2020).

- Le carcinome épidermoïde est le deuxième type histologique le plus courant des NSCLC, tout comme l'adénocarcinome, ce type histologique partage de nombreuses caractéristiques moléculaires avec l'adénocarcinome, avec cependant des altérations propres à

ce type de cancer. De nombreuses mutations somatiques ont été identifiées, impliquant principalement TP53, LRP1B, CDKN2A, PTEN, PIK3CA, KEAP1, MLL2, HLA-A, NFE2L2, NOTCH1, RB1 et PDYN. Le carcinome épidermoïde présente des événements d'amplification plus fréquents, en particulier dans la région chromosomique 3q26-3q29, sachant que cette région comprend les gènes SOX2, PIK3-CA, TP63, MAP3K13, et KLH6, et montre un taux plus élevé de délétions au niveau du chromosome 9p21.3 contenant les gènes CDKN2A et CDKN2B (Suster et Mino-Kenudson 2020).

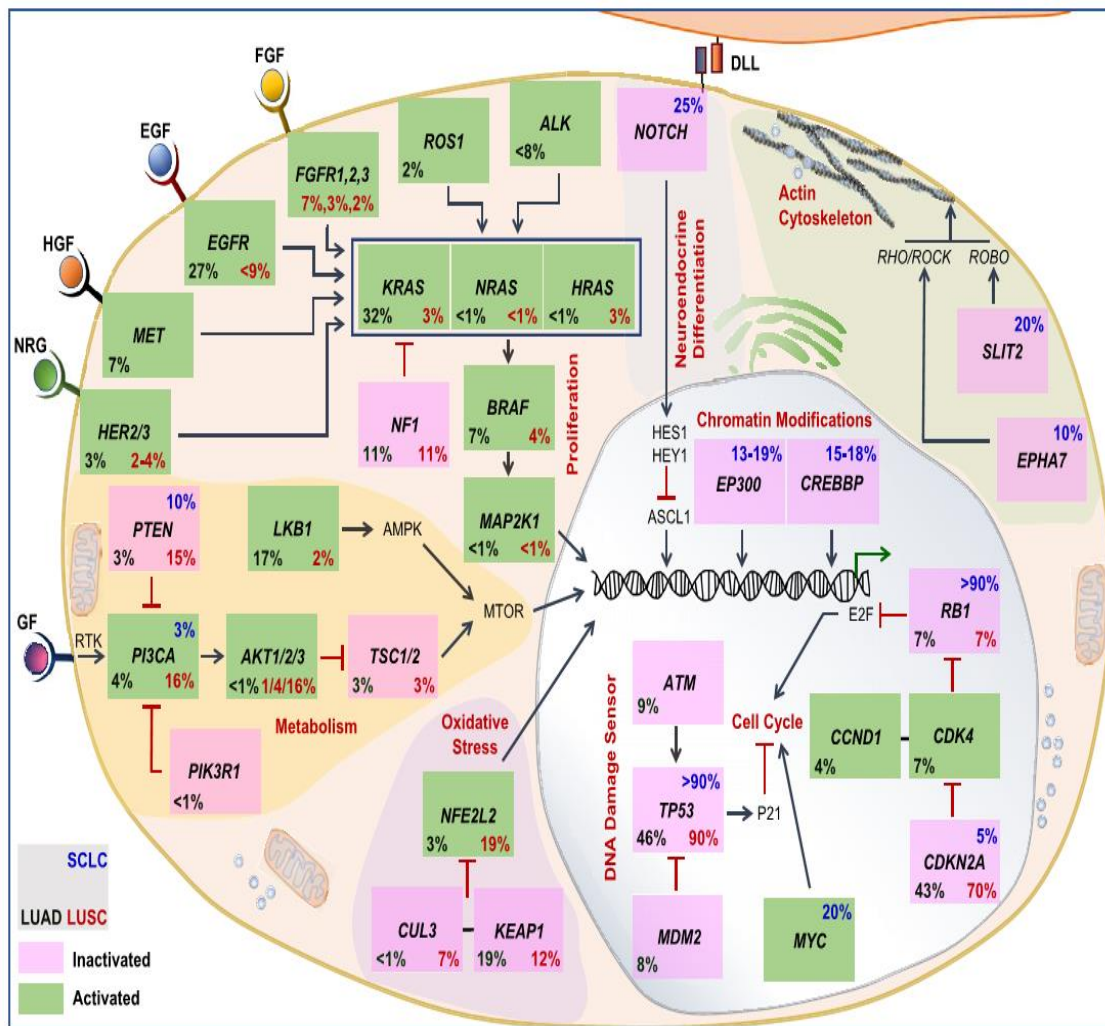


Figure 9. Altérations des gènes clés et oncogènes dans les SCLC, et les NSCLC. Les chiffres dans chaque case indiquent les fréquences des altérations génomiques DLL, deltalike ; EGF, facteur de croissance épidermique ; FGF, facteur de croissance des fibroblastes ; GF, facteur de croissance ; HGF, facteur de croissance des hépatocytes ; NRG, neuroréguline ; RTK, récepteur tyrosine kinase (Salehi-Rad et al; 2020).

3.1.3 Cancers broncho-pulmonaires des non-fumeurs

Les altérations moléculaires de CBP des personnes n'ayant jamais fumé sont possiblement dues à d'autres types d'exposition environnementale comme l'exposition professionnelle et le tabagisme passif. Parmi les altérations moléculaires spécifiques aux non-fumeurs on peut citer la fusion génique entre EML4- ALK résultant d'un réarrangement au niveau du chromosome 2, l'hyperméthylation de MGMT, la mutation de l'EGFR, des mutations spécifiques dans TP53b (G:C à A:T sur les sites non-CpG), et la perte allélique de FHIT (Anttila et Boffetta 2014).

3.2 Altérations génétiques courantes dans les CBP

Les avancées technologiques en biologie moléculaire ont fourni des moyens pertinents de recherche moléculaire et d'identification des altérations géniques des cancers notamment oncogènes et gènes suppresseurs de tumeur (Voir les principaux loci de susceptibilité génétique aux cancers bronchiques en annexe 04).

3.2.1 Oncogènes

Les oncogènes codent généralement des protéines qui régulent plusieurs processus cellulaires, notamment la prolifération et la survie. Les réarrangements et l'amplification des gènes représentent les aberrations génétiques les plus courantes qui pourraient activer un oncogène, entraînant une dérégulation de l'expression et/ou de la fonction du gène (Zito et al; 2019).

Les oncogènes les plus couramment mutés dans les adénocarcinomes sont le KRAS et l'EGFR, qui sont impliqués dans le déclenchement de la tumorigenèse. Parmi les autres oncogènes activés dans les adénocarcinomes, on peut citer le récepteur 2 du facteur de croissance épidermique humain (HER2), le proto-oncogène MET (MET) et le proto-oncogène RET (RET). Des oncogènes de fusion impliquant la kinase du lymphome anaplasique (ALK) et le proto-oncogène ROS1 sont également observés dans les adénocarcinomes (Salehi-Rad et al; 2020).

KRAS

Le KRAS représente le gène le plus souvent muté dans les adénocarcinomes, les mutations touchant ce gène se concentrent principalement au niveau des codons 12, 13 et 61.

Elles comprennent des substitutions, des insertions et des délétions et elles sont plus fréquemment observées chez les fumeurs (Cagle et al; 2018).

EGFR

Le récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR), également connu sous le nom de HER1/ERBB1, représente l'un des biomarqueurs les plus étudiés et les plus utilisés actuellement dans les NSCLC. La présence d'une mutation activant l'EGFR sert de prédicteur de la réponse aux inhibiteurs de la tyrosine kinase (ITK), notamment l'erlotinib, le gefitinib et l'afatinib. Les mutations de l'EGFR se produisent le plus souvent chez les non-fumeurs et les femmes d'origine Asiatique, elles surviennent principalement dans les exons 18-21(Terlizzi et al; 2019). La mutation ponctuelle (L858R) dans le cadre de lecture (747-750) est la plus représentée avec une fréquence d'environ 90 pour cent des mutations activatrices de l'EGFR (Cagle et al; 2018). Des mutations germinales du récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR) ont également été décrites, notamment les mutations T790M et V843I, (Bylicki et al; 2017), (Steiling et Campbell 2020).

HER2

La mutation germinale dans le récepteur 2 du facteur de croissance épidermique humain (HER2) associé au risque de cancer du poumon a été identifiée chez une famille Japonaise (Bylicki et al ; 2017), (Steiling et Campbell 2020).

BRAF

Les mutations de BRAF sont relativement rares dans les CBP (environ 3-4 pour cent) (Cagle et al; 2018).

MET

Le gène de transition mésenchymateux-épithélial (MET) a été découvert à la fin des années 1980. Le MET-RTK régule une multitude de processus cellulaires, notamment l'invasion, l'anti-apoptose et l'angiogenèse. Une signalisation MET aberrante a été identifiée dans de nombreuses tumeurs malignes humaines. La surexpression de la MET est couramment observée dans les NSCLC (25 à 75 pour cent), et a été liée à de mauvais pronostics. Les altérations moléculaires de la MET dans les NSCLC comprennent des mutations avec saut d'exon 14, qui augmentent la signalisation de la MET et favorisent l'oncogenèse. Ces mutations sont plus fréquentes chez les fumeurs et les patients âgés (Cagle et al; 2018).

YAP1

La protéine (YAP1), également connue sous le nom de YAP et YAP65, est codée par un oncogène qui favorise la croissance cellulaire et inhibe l'apoptose. Un variant de la lignée germinale, R331W, de YAP1, s'est avéré fortement associé au cancer du poumon. Ce variant a été initialement identifié par séquençage du génome entier de plusieurs membres d'une famille présentant une forte agrégation de cancer du poumon (Koeller, Chen, et Oxnard 2018).

3.2.2 Gènes suppresseurs de tumeur

TP53

Le gène suppresseur de tumeur TP53, code la protéine P53 de régulation du cycle cellulaire et que l'on trouve muté dans presque 50 pour cent de tous les cancers, dans 50 pour cent des NSCLC et dans plus de 70 pour cent des cas de SCLC. Plusieurs preuves indiquent que ces mutations se produisent à un stade précoce du processus de transformation maligne (Mountzios et al; 2010), (Deben et al; 2016).

PRb

RB1 est un gène suppresseur de tumeur situé sur le bras long du chromosome 13 en position 13q1, codant pour la protéine PRb qui agit comme un "gate keeper" pour la transition de phase G1→S du cycle cellulaire. Les mécanismes par lesquels cette protéine affecte le processus de transformation maligne diffèrent entre les NSCLC et les SCLC. L'expression réduite de RB1 est observée dans 80 à 100 pour cent des tumeurs neuroendocrines des (SCLC) (Mountzios et al ; 2010).

PTEN

Le gène PTEN inhibe la cascade de signalisation PI3K/AKT/mTOR en déphosphorylant le PI-(3, 4,5)-triphosphate. L'inactivation de la PTEN supprime l'inhibition de la voie de signalisation et conduit donc à une activation de l'AKT. Les mutations sont presque exclusivement observées dans le carcinome épidermoïde (environ 10 à 15 pour cent), mais rarement dans l'adénocarcinome (environ 1 à 2 pour cent) (Cagle et al; 2018).

D'autres mutations de gènes suppresseurs de tumeurs ont aussi été rapportées, comme le KEAP1, le LKB1 et le NF1. L'inhibiteur de kinase cyclindépendante 2a (CDKN2A), un

suppresseur de tumeur qui régule le cycle cellulaire, est également inactivé dans 70 pour cent des carcinomes épidermoïdes (Salehi-Rad et al; 2020).

3.2.3 Gènes de contrôle du cycle cellulaire

PIK3CA

Il existe trois classes de phosphatidylinositol-3 kinases, la classe (PIK3CA) est la plus pertinente pour les cancers humains. Le PIK3CA est responsable de la production de phosphatidylinositol-3, 4,5-trisphosphate qui active la voie AKT/mTOR. Cette voie est essentielle pour la croissance, la survie et la motilité des cellules. Contrairement à la plupart des mutations des NSCLC, les mutations PIK3CA peuvent se produire en concertation avec d'autres gènes et ne sont donc pas toujours mutuellement exclusives (Cagle et al; 2018).

FGFR1

Le récepteur 1 du facteur de croissance des fibroblastes (FGFR1) régule la prolifération via les voies de signalisation MAPK et PI3K. L'amplification de FGFR1 est l'altération la plus fréquente observée dans le carcinome épidermoïde (Cagle et al; 2018).

FGFR2/FGFR3

Les récepteurs 2 et 3 du facteur de croissance des fibroblastes (FGFR2 et FGFR3) jouent des rôles essentiels dans la prolifération, la différenciation, l'angiogenèse et le développement cellulaire. L'activation de FGFR2/FGFR3 entraîne l'activation en aval de Ras/MAPK et PI3K/AKT. Ces mutations ont été répertoriés en premier dans les cancers bronchiques selon l'atlas du génome du cancer (Cagle et al; 2018).

3.2.4 Gènes de réparation d'ADN

Certains polymorphismes géniques liés à la réparation de l'ADN endommagé, augmentent le risque de cancérogenèse causé principalement par le tabac (Allen 2018). Les différences interindividuelles dans les capacités de réparer les dommages d'ADN peuvent donc contribuer à la variabilité individuelle de la susceptibilité aux cancers environnementaux comme le CBP; les individus dont la capacité de réparation de l'ADN est réduite ou négligeable peuvent accumuler des mutations qui augmentent le risque de cancer. les gènes de réparation de l'ADN et de contrôle du cycle cellulaire les plus étudiés et les plus liés au risque de CBP,

sont l'O6-alkylguanine ADN alkyltransférase (AGT), le gène consacré à la réparation des rayons X (XRCC1), le NAD(P)H quinone oxidoreductase (NQO1), la 8-Oxoguanine DNA Glycosylase humaine (hOGG1), la DNA (cytosine-5)-methyltransferase 3B (DNMT3B), la O6-méthylguanine-ADN méthyltransférase (MGMT) et plusieurs gènes de réparation de l'excision des nucléotides (NER) en plus des gènes ATM, APEX1, ERCC1 et ERCC2, XPA et XPC et XRCC1 (Anttila et Boffetta 2014), (Allen 2018).

3.2.5 Modifications épigénétiques

Au cours des dernières années, les recherches ont déterminé que les changements épigénétiques au sein du génome humain par le biais du remodelage de la chromatine, et la méthylation de l'ADN peuvent modifier les profils d'expression des gènes suppresseurs de tumeurs, et des oncogènes pour initier une transformation maligne (Nana-Sinkam et Powell 2013). Ces modifications épigénétiques comprennent les gènes impliqués dans l'invasion des tissus, la réparation de l'ADN, la détoxification des cancérigènes et la différenciation (Larsen et Minna 2011). Les NSCLC et les SCLC ont des spectres d'altérations moléculaires différents. Il convient de noter que les altérations moléculaires impliqués dans les CBP varient en fonction de la population étudiée et peuvent changer selon l'appartenance ethnique, et le sexe (Suster et Mino-Kenudson 2020).

L'hypométhylation de l'ADN au niveau des dinucléotides CpG a été la première anomalie épigénétique identifiée dans les cellules cancéreuses, il y a plus de trois décennies. La cartographie à haute résolution de la méthylation des îlots CpG, a révélé que l'hypométhylation de l'ADN dans les cancers du poumon se produit spécifiquement au niveau des séquences répétées, y compris les répétitions d'hétérochromatine (par exemple, l'ADN satellite), les SINEs (Short Interspersed Nuclear Elements), les LINEs (Long Interspersed Nuclear Elements), les éléments LTR (Long Terminal Repeats) et les duplications segmentaires dans les régions subtélomériques (Mehta et al; 2015).

Alors que l'hypométhylation de l'ADN génomique est une caractéristique importante du cancer du poumon, l'hyperméthylation des îlots CpG entraîne le verrouillage des gènes cibles, qui comprennent des gènes suppresseurs de tumeurs, des gènes de réparation de l'ADN ainsi que des gènes impliqués dans le contrôle du cycle cellulaire. Récemment, il a été démontré qu'une méthylation anormale des promoteurs n'affecte pas seulement les gènes codant les protéines mais aussi divers ARN non codants qui peuvent jouer un rôle dans la croissance cellulaire (Mehta et al; 2015).

3.2.6 Anomalies cytogénétiques

Ces anomalies peuvent être par exemple des translocations chromosomiques, des délétions et des inversions. La plupart des anomalies cytogénétiques surgissent de manière somatique, avec cependant l'existence d'anomalies clairement héréditaires comme est le cas de la forme héréditaire du rétinoblastome (Bunz 2016).

Des erreurs de réparation des altérations de l'ADN peuvent entraîner plusieurs types de réarrangements cytogénétiques. Le processus sous-jacent qui provoque ces remaniements chromosomiques massifs est connu sous le nom de chromothripsis, dérivé du mot grec *thripsis*, qui signifie « en morceaux » (Bunz 2016).

Les anomalies chromosomiques ont fait l'objet d'études approfondies dans le cancer du poumon, grâce à la technique de l'hybridation fluorescente *in situ* (FISH). Des délétions de grandes régions chromosomiques, comme la perte d'hétérozygotie (Loss Of Heterozygotie) (LOH) dans les loci chromosomiques 3p14-23, 8q21-23, 13q, 17q, 18q et 22p ont été rapportées pour le cancer du poumon (Nana-Sinkam et Powell 2013). La perte d'hétérozygotie dans le bras court du chromosome 3 est l'une des altérations génétiques les plus caractéristiques au cours du développement du cancer du poumon, qui peut être détectée dans pratiquement 80 pour cent de tous les cas de cancer du poumon, indépendamment de leur type histologique. Cette région chromosomique héberge plusieurs gènes suppresseurs de tumeur dont le FHIT (Mountzios et al ; 2010).

L'instabilité génomique se traduit par des aberrations génétiques à plusieurs niveaux allant de quelques nucléotides à des chromosomes entiers. Le terme d'instabilité chromosomique définit un type d'instabilité génomique associé à des variations structurelles chromosomiques, comme les translocations, les délétions et les amplifications de l'ADN (Zito et al; 2019). Les translocations les mieux décrites dans les NSCLC sont celles incluant le gène ALK. Le réarrangement le plus commun qui a été observé est celui du LEM4-ALK à une fréquence de 4 à 5 pour cent, cette translocation est beaucoup plus observée chez les jeunes femmes ayant des antécédents de tabagisme léger ou n'ayant jamais fumé. Jusqu'à l'heure actuelle près de 30 réarrangements du gène ALK ont été identifiés. Des translocations du gène RET ont aussi été identifiées. Le gène RET encode une protéine essentielle pour le développement et la maturation des cellules. Les translocations RET surviennent à une fréquence de 1 à 2 pour cent dans les NSCLC. Tout comme les réarrangements ALK dans les NSCLC, les translocations RET se produisent le plus souvent chez les jeunes femmes ayant des

antécédents de tabagisme léger et chez les non-fumeurs. Les réarrangements identifiés à ce jour impliquent six gènes KIF5B, CCDC6, NCOA4, TRIM33, CUX1, et KIAA1468. Un autre type de translocation impliquant le gène ROS1 a été rapporté dans les NSCLC, les translocations ROS1 se produisent avec une variété de gènes, notamment CD74, EZR, SDC4, et TPM3 et entraînent une transformation néoplastique à la fois *in vitro* et *in vivo*, elles se produisent à une fréquence de 1 à 2 pour cent dans les adénocarcinomes (Cagle et al; 2018). Plus rarement, dans le cancer bronchique, sont observés des gains de matériel génétique, avec des amplifications géniques, au niveau desquels siègent des gènes dominants proto-oncogéniques, le plus souvent codant pour des récepteurs à des facteurs de croissance (EGFR, erbB2/neu) ou des régulateurs nucléaires du cycle cellulaire (cyclineD1, HNF3a/FOXA1) ou de l'apoptose, (p63AIS) (Madelaine et Zalcman 2005). (Voir les principales anomalies cytogénétiques des cancers bronchiques en annexe 05).

4. Métabolisme des xénobiotiques

Les niveaux d'exposition aux polluants environnementaux et professionnels diffèrent d'un individu à un autre, les xénobiotiques peuvent être nocifs en eux-mêmes, ou via leurs métabolites. Les composés chimiques qui peuvent interagir directement avec l'ADN sont appelés cancérogènes ultimes. Cependant, la majorité des cancérogènes nécessitent une activation métabolique afin de produire des intermédiaires capables d'interagir avec l'ADN, ces substances sont appelées "procarcinogènes"(Chen 2020).

Le métabolisme des xénobiotiques est souvent caractérisé par un processus en trois phases : l'activation suivie de la conjugaison et enfin l'excrétion. Les enzymes de la phase I, constituée essentiellement par les cytochromes P450. Si le métabolite de phase I n'est pas assez hydrophile pour être excrété, il va subir la seconde phase de détoxification dite phase de conjugaison (ou phase II) qui consiste à former un adduit avec un composé endogène très hydrophile comme l'ion sulfate, le glutathion ou l'acide glucuronique grâce aux enzymes de phase II. Une troisième phase (phase III), implique le transport transmembranaire actif des xénobiotiques via des transporteurs de la phase III (P-glycoprotéine ou Pgp, multidrugresistance proteins ou MRP...) qui transportent les xénobiotiques, ainsi que leurs dérivés conjugués pour leur excrétion dans la bile et l'urine (Gueguen et al; 2006),(Ducassou 2012), (Anttila et Boffetta 2014).

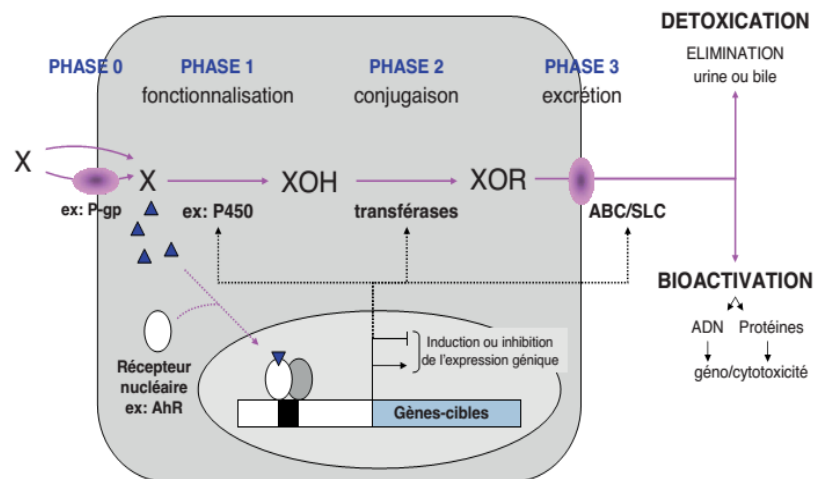


Figure 10. Prise en charge cellulaire des xénobiotiques. Le métabolisme (phases 1 et 2) et le transport (phases 0 et 3) d'un xénobiotique X sont présentés; SLC : Transporteurs membranaires de la famille des Solute Carrier transporters (Allorge 2016).

4.1 Enzymes de phase I : les cytochromes P450

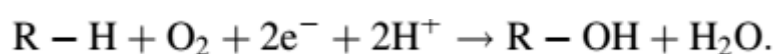
4.1.1 Historique

En 1958, Klingenberg et Garfinkel (Garfinkel 1957), (Klingenberg 1958) mirent en évidence la présence d'un pigment dans les fractions microsomales hépatiques de rat et de cochon qui, présentait une absorption spécifique à 450 nm. Les travaux de Omura et Sato (Omura et Sato 1964) permirent d'identifier ces pigments, en montrant qu'il s'agissait d'hémoprotéines, qui seront appelés par la suite « cytochrome P450 », le P faisant référence à son cofacteur. L'optimisation des techniques de séquençage des génomes ces dernières années a permis la découverte d'un nombre exponentiel de gènes codant pour des cytochromes P450. Ces données sont regroupées dans une base de données qui rassemble les différentes séquences de P450 (<http://drnelson.uthsc.edu/CytochromeP450.html>). Les cytochromes P450 sont présents dans tout le règne du vivant (Gilardi et Di Nardo 2017).

4.1.2 Propriétés biologiques

Chez les mammifères, les CYPs sont présentes dans tous les tissus, les concentrations les plus élevées se trouvent dans le foie et l'intestin grêle, et jouent un rôle crucial dans la biosynthèse des acides biliaires, et le métabolisme des composés étrangers tels que les médicaments, les polluants environnementaux et les substances cancérigènes. Les CYPs sont également présents dans les membranes internes des mitochondries de tissus stéroïdogènes tels que cortex surrénal, testicules, ovaires, sein, et placenta, et sont impliqués dans la synthèse et la dégradation des hormones stéroïdes endogènes (Palrasu et Nagini 2018).

Les réactions catalysées par les CYPs sont très diverses : hydroxylation des hydrocarbures ; époxydation ; O-, S- et N-désalkylation ; déshydrogénation ; déshalogénation, désamination oxydative, décarboxylation ; déshalogénation réductrice ; N-oxyde et réduction des époxydes ; isomérisation et formation de cycles. Parmi toutes les réactions catalysées par les CYPs, la monooxygénation est la réaction la plus courante (Ducassou 2012), (Wu et al; 2021). Malgré la diversité chimique des substrats reconnus par ces protéines, elles agissent toutes selon la réaction et le cycle catalytique suivants (Gilardi et Di Nardo 2017).



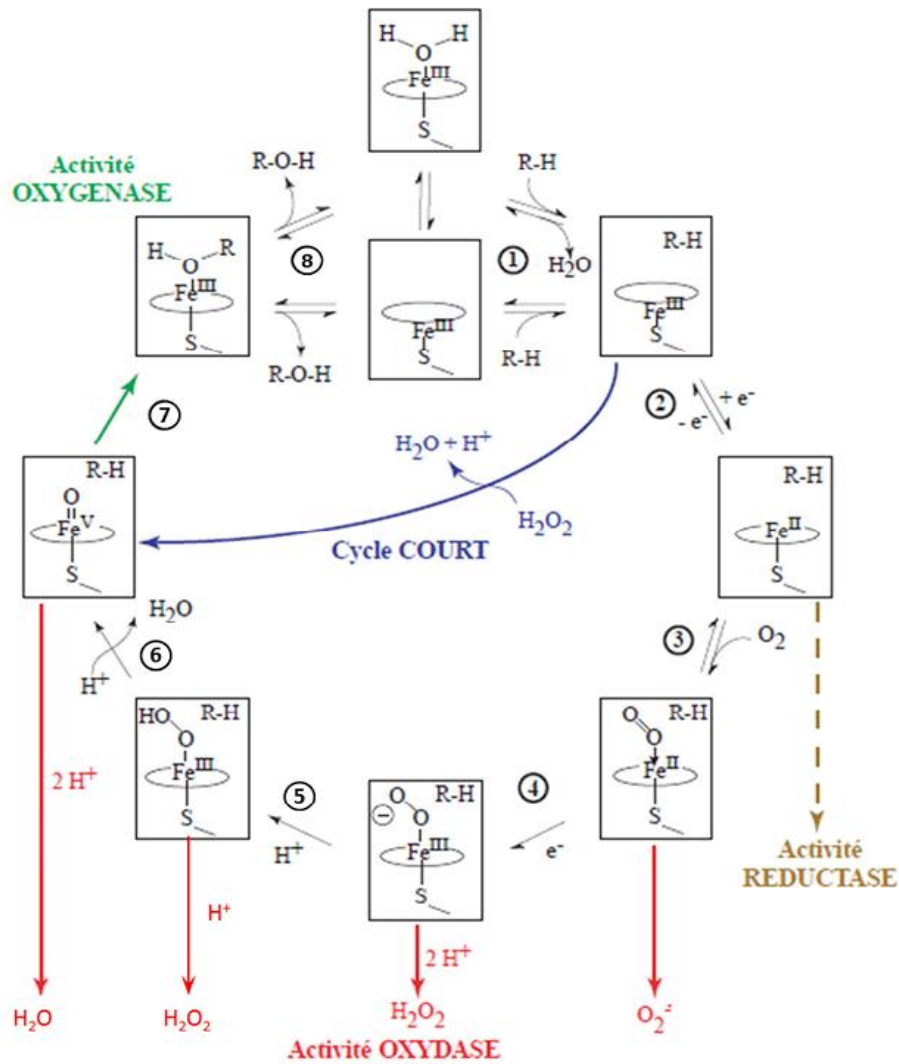


Figure 11. Le cycle catalytique des CYPs P450. Les voies abortives, non productives (découplage) sont indiquées en rouge, le cycle court (en bleu) est obtenu par addition d'espèces riches en oxygène, la voie réductase est indiquée en marron (Ducassou 2012).

4.1.3 Structure des CYPs

Les CYPs sont des hémoprotéines contenant entre 400 et 500 résidus d'acides aminés et un seul groupe prothétique de l'hème dans le site actif. La liaison thiol-ligand, essentielle pour le fer héminique est assurée par une cystéine localisée près de la région carboxy-terminale de la protéine. La région N-terminale est constituée principalement d'acides aminés hydrophobes et permet la fixation de la protéine aux membranes (Gueguen et al; 2006),(Palrasu et Nagini 2018).

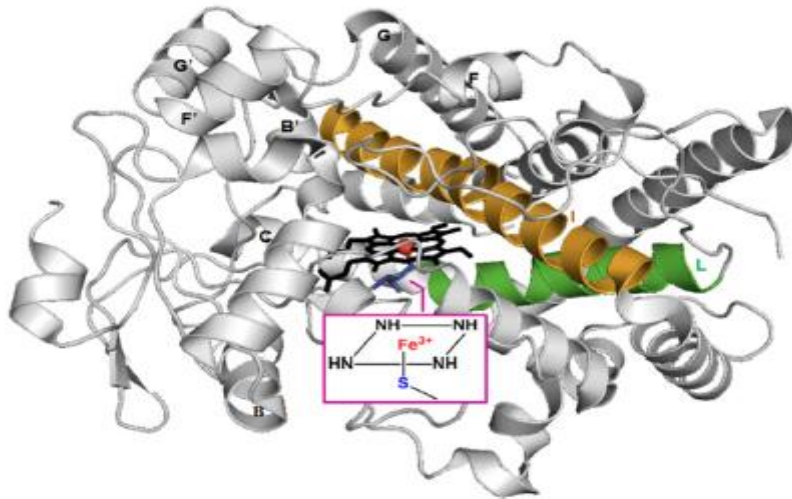


Figure 12. Structure générale des CYPs humains. Le fer hémique et le résidu de cystéine sont situés sur l'hélice L et sont colorés respectivement en rouge et en bleu (Wu et al; 2021) .

4.1.4 Classification et nomenclature

Le système adopté pour la nomenclature des CYP450 est établi par David Nelson (Nelson 2009 ; <http://drnelson.uthsc.edu/CytochromeP450.html>). La nomenclature des cytochromes P450 consiste à nommer un gène ou un ADNc par le symbole CYP, suivi d'un chiffre arabe désignant la famille, d'une lettre majuscule désignant la sous-famille, puis d'un chiffre arabe pour chaque gène. Pour désigner l'ARNm ou la protéine, la même nomenclature est employée sans l'attribut italique. Les protéines P450 apparentées sont regroupées en familles dont les membres partagent plus de 40 pour cent d'homologie en acides aminés et désignés par des numéros (CYP1, CYP2, etc.). Les familles sont divisées en sous-familles dont les membres partagent plus de 55 pour cent d'homologie d'acides aminés et reçoivent des caractères alphabétiques (CYP1A, CYP1B, CYP2A, CYP2B), etc.). Les sous-familles sont divisées en loci individuels désignés par un numéro spécifique (CYP1A1, CYP1A2, etc.) (Palrasu et Nagini 2018). Une liste actualisée des CYPs se trouve sur le site (https://www.pharmvar.org/gene/index_original) (Imadeldin Elfaki et al ; 2018).

4.2 Enzymes de la phase II

Les enzymes de phase II sont majoritairement des transférases et incluent : Les UDP-glucuronosyltransférases (UGTs) des enzymes clés du processus connu de glucuronidation, les N-Acétyletransférases (NATs) qui catalysent l'activation des amines aromatiques et hétérocycliques, les sulfotransférases (SULTs) qui jouent un rôle important dans la bio transformation d'un certain nombre d'éléments endogènes comme les stéroïdes et la

vitamine D, Les NAD(P)H: quinone oxydoréductase (NQO) qui constitue un groupe d'enzymes antioxydantes polyvalentes qui sont impliquées dans la réduction oxydative des quinones. Et enfin L' EPHX1 L'époxyde hydrolase 1 microsomale (EPHX1) qui joue un rôle important dans l'activation et la détoxification des HAP et des amines aromatiques (Kiyohara et al; 2006), (Jancova, Anzenbacher, et Anzenbacherova 2010),(Anttila et Boffetta 2014).

Bien que les réactions de phase II sont généralement détoxifiantes, les conjugués formés peuvent être potentiellement cancérigènes, surtout quand il s'agit de l'activation d'alcools benzyliques, d'hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), hydroxylamines aromatiques, acide hydroxamique et nitroalcanes par sulfotransférases (Jancova, Anzenbacher, et Anzenbacherova 2010).

- **Les glutathion S-transférases (GSTs)**

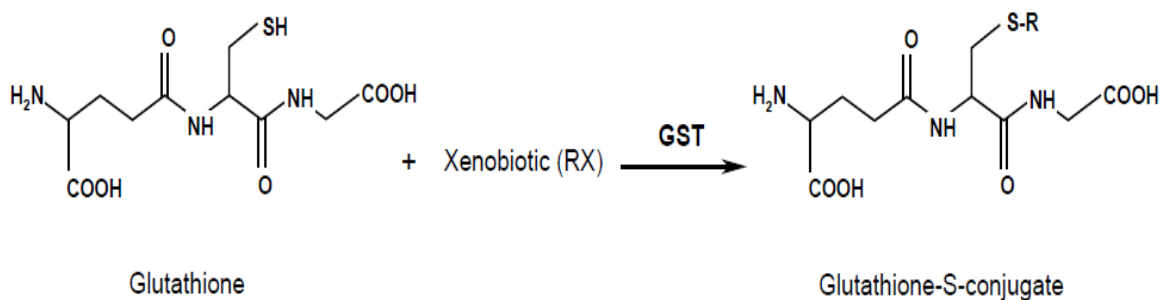


Figure 13. Formation des conjugués Glutathione (Jancova, Anzenbacher, et Anzenbacherova 2010)

4.2.1 Structure des GSTs

Malgré le faible taux d'identité de séquence entre les classes, tous les monomères des GSTs cytosoliques dont la structure est connue partagent la même structure tertiaire dimérique. Le monomère se compose de deux domaines distincts. Le domaine N-terminal (comprenant approximativement les résidus de 1 à 80) adopte une topologie ($\beta_1\alpha_1\beta_2\alpha_2\beta_3\beta_4\alpha_3$). Le domaine C terminal (approximativement du résidu 90 au dernier) est composé d'un paquet minimal de 4 hélices ($\alpha_4\alpha_5\alpha_6\alpha_7$) additionné d'éventuelles hélices supplémentaires de position variable. Les deux domaines sont reliés par une courte région d'une dizaine de résidus sans structure secondaire caractéristique (Prosper 2013).

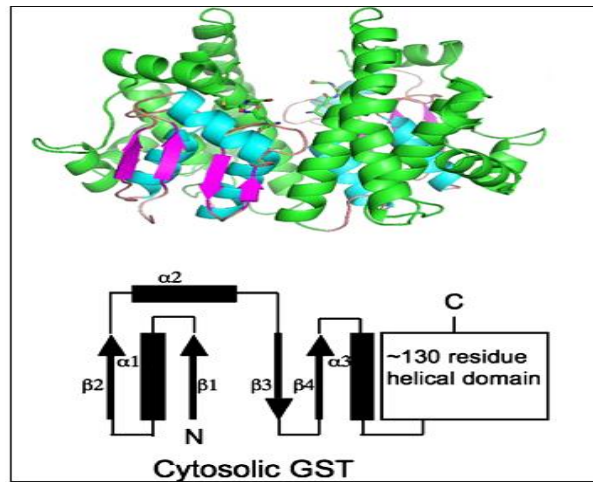


Figure 14. Structure d'une GST cytosolique (Board et Menon 2013)

4.2.2 Classification et nomenclature des GSTs

Deux superfamilles distinctes de GSTs ont été décrites. La mieux étudiée est celle qui comprend les enzymes dimériques solubles : les GSTs et le MAPEG (Membrane Associated Proteins in Eicosanoïd and Glutathione Metabolism), (Jancova, Anzenbacher, et Anzenbacherova 2010). Il existe actuellement sept familles de GSTs cytosoliques humaines : *alpha*, *mu*, *pi*, *sigma*, *omega*, *theta* et *zeta*, les GSTs mitochondriales ont été classées dans une seule et unique classe nommée *Kappa* (Prosper 2013), (Anttila et Boffetta 2014). Les GSTs sont numérotées suivant l'ordre de découverte des isoformes dans chaque classe. Ces GSTs étant dimériques, la nomenclature a également pour objectif de distinguer les GSTs homo et hétérodimériques (Prosper 2013).

4.3 Polymorphismes génétiques des CYPs et GSTs

La variabilité interindividuelle pour prédire la susceptibilité à une maladie donnée s'explique, en partie, par des facteurs génétiques incluant les polymorphismes qui affectent surtout le métabolisme des xénobiotiques ainsi que la réparation des altérations d'ADN causés par les agents cancérigènes (Chen 2020).

Les cancérigènes réactifs non détoxifiés peuvent former des adduits d'ADN capables d'induire des mutations et de déclencher un processus tumoral. Un équilibre approprié entre les enzymes de phase I et de phase II est nécessaire pour une protection cellulaire optimale contre les cancérigènes. L'activité métabolique de ces enzymes peut être modifiée par des polymorphismes génétiques et de nombreuses études ont été publiées sur leur association avec le cancer du poumon avec des résultats variables (Stabile et Burns 2016).

Les polymorphismes génétiques des CYPs et GSTs peuvent entraîner une désintoxication altérée et donc avoir des répercussions importantes sur la sensibilité d'un individu aux toxicités induites par des composés étrangers (Chen 2020).

4.3.1 Polymorphismes génétiques des CYPs et cancérogénèse pulmonaire

De nombreuses maladies pulmonaires, telles que le cancer du poumon et les maladies pulmonaires obstructives chroniques, sont principalement dues à l'exposition environnementale à des composés chimiques. Toutefois, il est de plus en plus évident que les facteurs génétiques héréditaires sont d'une grande importance. Les gènes codant les enzymes CYPs en sont de bons candidats, car ils sont hautement polymorphes et peuvent moduler la réponse à la toxicité voire même altérer l'activité enzymatique dans certaines situations (Leclerc et al; 2010), (Yamazaki 2014).

Il existe des différences interindividuelles significatives dans les niveaux d'expression des enzymes CYPs, ceci a été démontré grâce à l'analyse d'échantillons de foie humain dans des études pharmacologiques (Anttila et Boffetta 2014) (Chen 2020).

Historiquement, le premier polymorphisme CYP qui a été identifié était le CYP2D6. L'activité du CYP2D6, déterminée génétiquement, est soupçonnée d'être impliquée dans la cancérogénèse pulmonaire par l'activation des carcinogènes contenus dans la fumée de tabac. En accord avec cela, les résultats combinés de plusieurs études menées dans différentes parties du monde suggèrent une diminution significative mais faible du risque de cancer du poumon pour les personnes ayant le génotype de métabolisurs lents de CYP2D6. D'un autre côté, le gène CYP2A6 est responsable de 70 à 80 pour cent du métabolisme de la nicotine, il a été proposé comme un facteur de risque pour le cancer du poumon par la modulation des habitudes tabagiques. De même les gènes CYP3A4 et CYP1B1 ont été rapportés pour leurs rôles potentiels dans la prédisposition au cancer du poumon. Un autre gène de la famille des cytochromes qui est largement étudié est le gène CYP2E1. Plusieurs variants alléliques ont été attribués à ce gène et de nombreuses études ont examiné l'association entre ces variants CYP2E1 et le risque de cancer du poumon. En outre, un effet protecteur contre le cancer du poumon a été constaté pour le variant *DraI* CYP2E1, ce même variant a été associé à un risque accru de cancer du poumon chez les Japonais (Jancova, Anzenbacher, et Anzenbacherova 2010), (Anttila et Boffetta 2014).

• Gène d'intérêt CYP1A1

La famille CYP1A compte deux membres : CYP1A1, CYP1A2. Le CYP1A1 est principalement exprimé dans les tissus extra-hépatiques, y compris les poumons. CYP1A1 est le médiateur de la bioactivation des pro-cancérogènes, donc associé au risque de cancer (Yamazaki 2014). CYP1A1 est un gène polymorphe codant pour une enzyme impliquée dans la détoxification d'une large gamme de produits cancérogènes, y compris, les HAP, les nitrosamines, les amines aromatiques, le 1,3-butadiène et l'oxyde d'éthylène, qui sont des constituants majeurs de la fumée de tabac. A ce jour, 12 allèles du gène CYP1A1 ont été identifiés (Anttila et Boffetta 2014), (Chen 2020).

Le gène CYP1A1 est situé sur le chromosome 15q24.1, il est composé de sept exons et six introns. Au total, parmi ces variants, quatre allèles ont été étudiés pour leur association avec le cancer, il s'agit des allèles : CYP1A1*2A, CYP1A1*2C, CYP1A1*3 et CYP1A1*4, désignés respectivement par les symboles m1, m2, m3 et m4 (Bag et al ; 2015).

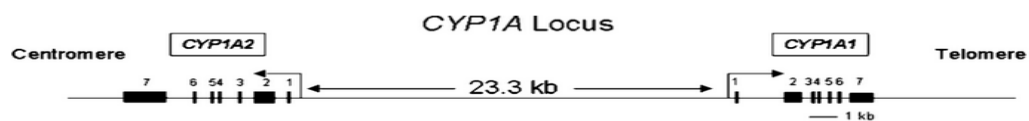


Figure 15. Gène CYP1A1 (Galijatovic et al ; 2004).

CYP1A1*1 est l'allèle de type sauvage. CYP1A1*2C et CYP1A1*4 sont tous les deux situés sur l'exon sept. Les polymorphismes m1 et m3 ne provoquent pas de substitution d'acides aminés car m1 est situé sur la région 3' non codante et m3 est sur l'intron 7, l'allèle m1 peut entraîner une activité enzymatique élevée. Le SNP m2 entraîne une substitution d'acide aminé de Val pour Ile (I462V) dans la région de liaison à l'hème ; m4 entraîne une substitution d'Asn pour Thr (T461N) dans la même région de l'enzyme. La mutation m1 également connue sous le nom de polymorphisme *Msp* I fait l'objet d'une partie de cette étude (Bag et al ; 2015).

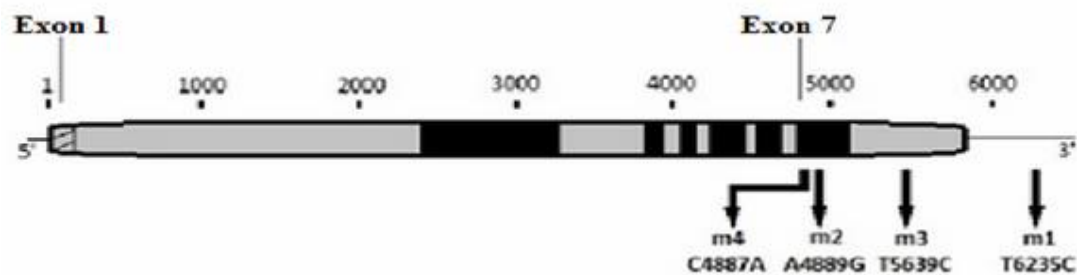


Figure 16. Mutations du gène CYP1A1 (Bag et al ; 2015)

La distribution des polymorphismes du CYP1A1 dans différentes populations, Caucasiennes, Afro-américaines et Asiatiques, a été décrite dans une étude exhaustive de (Masson et al ; 2005). Ils ont constaté, que le variant m1 est le plus répandu dans les populations Asiatiques (13 %) et qu'il était présent en bien moindre fréquence chez les Caucasiens (1 %). Chez les Afro-Américains, la fréquence était intermédiaire entre celle des Asiatiques et des Caucasiens (6 %) (Bag et al ; 2015).

- **Régulation de l'expression du gène CYP1A1**

Quand l'activité enzymatique est affectée, sans que l'expression du gène et la quantité de protéines soient changées, on parle d'un polymorphisme d'activité. Et là, il peut s'agir soit d'une augmentation de l'activité et on parle alors de métaboliseurs rapides, soit d'une diminution de celle-ci et on parle de métaboliseurs lents.

L'expression de CYP1A1 constitutive est généralement faible, mais cette enzyme peut être fortement induite par nombre de ses propres substrats, en particulier les HAP. Par exemple, les niveaux d'ARNm de CYP1A1 sont très élevés dans les cellules pulmonaires des fumeurs, mais généralement indétectables chez les non-fumeurs (Agnes, Szklarz et Scott 2013). Les médiateurs clés de la régulation de ces enzymes sont les récepteurs nucléaires des prégnanes (PXR), des acides gras poly-insaturés (PPAR), de l'androstérone (CAR) et celui moins conventionnel de la dioxine (AhR) qui modulent les gènes codant les enzymes de la phase I et II du métabolisme; ces régulations, en interaction avec les polymorphismes génétiques existants, contribuent aux variations inter- et intra-individuelles de la réponse aux xénobiotiques comme les substances cancérogènes.

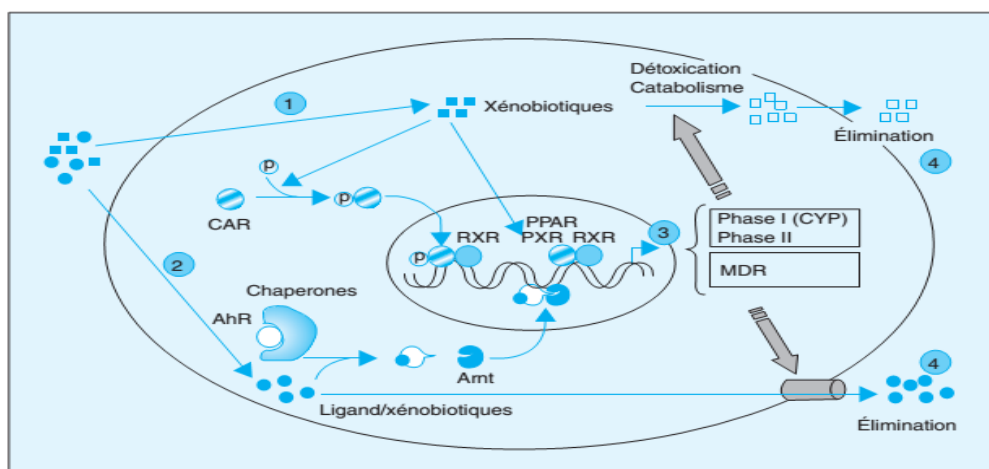


Figure 17. Régulation de la détoxification et du catabolisme des xénobiotiques par les récepteurs nucléaires PXR, PPAR, CAR et le facteur de transcription AhR (Gueguen et al; 2006).

4.3.2 Polymorphisme des gènes GSTs de phase II et cancérogénèse pulmonaire

Plusieurs variants alléliques ont été identifiés dans les familles de gènes *Alpha*, *Mu*, *Pi*, *Theta*. Les individus présentant des délétions au niveau des gènes GST-M1, GST-T1 et GST-P1 sont à plus haut risque d'avoir des cancers. Les polymorphismes génétiques des GSTs peuvent entraver la détoxification, ce qui peut avoir des répercussions importantes sur la sensibilité d'un individu aux toxicités induites par des composés étrangers, comme la GST sur la fumée de tabac (Chen 2020).

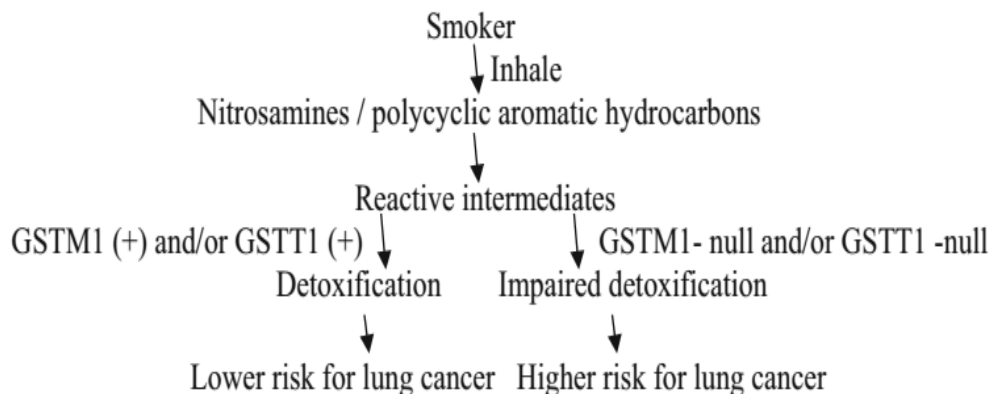


Figure 18. Polymorphismes des GSTs affectant le risque de cancer chez les fumeurs (Jancova, Anzenbacher, et Anzenbacherova 2010).

Les variants de GST les plus couramment étudiés comprennent la délétion GSTM1, la délétion GSTT1 et le polymorphisme GSTP1Ile105Val (rs1695). Les délétions GSTM1 et GSTT1 sont des variants récessifs pour lesquels les délétions homozygotes entraînent une activité nulle de leurs enzymes. Ces variants sont très courants ; le génotype nul de GSTM1 a une prévalence estimée à environ 53 pour cent chez les Caucasiens et les Asiatiques et une prévalence d'environ 27 pour cent chez les Africains ; le génotype nul de GSTT1 a une prévalence d'environ 20 pour cent chez les Caucasiens et de 47 pour cent chez les Asiatiques ; et la fréquence de l'allèle G du variant GSTP1 Ile105Val est d'environ 26 pour cent chez les Caucasiens. Les gènes GSTs ont été largement étudiés en tant que gènes de susceptibilité au cancer (Anttila et Boffetta 2014).

- **Gène d'intérêt GSTM1**

Le gène GST le plus étudié en relation avec le cancer du poumon est le GSTM1, qui n'est exprimé qu'environ chez la moitié des Caucasiens, en raison d'une délétion homozygote (génotype nul) du gène dans l'autre moitié (Anttila et Boffetta 2014).

Le gène GSTM1 contient quatre allèles différents, conduisant à plusieurs polymorphismes, désignés par les allèles GSTM1-0, GSTM1-A, GSTM1-B et GSTM1-1x2. L'allèle GSTM1-0 ou allèle nul est issu d'une recombinaison entre deux régions hautement homologues flanquant ce locus, aboutissant à la délétion d'un segment de 20 kb (Marija Pljesa 2014).

Les personnes ayant un génotype nul de GSTM1 ont été signalées comme ayant une plus grande sensibilité aux dommages de l'ADN, induits par la fumée de tabac que celles qui sont porteuses du génotype GSTM1-positif. Un niveau plus élevé d'adduits d'ADN a été détecté dans les lymphocytes des fumeurs de tabac qui ne possèdent pas le gène GSTM1 (Chen 2020).

- **Structure du gène GSTM1**

La classe *Mu* chez l'homme, compte au total cinq gènes localisés sur le bras court du chromosome 1 (1p13.3). Les gènes GSTs de la classe *Mu* sont généralement composés de 8 exons (9 pour GSTM3). Les GSTs de classe *Mu* sont des protéines dimériques et leur expression présente une certaine spécificité tissulaire, la GSTM1 par exemple est fortement exprimée dans le foie (Board et Menon 2013). Le gène GSTM1 est composé de 8 exons couvrant une région de 21244 pb, avec un transcrite de 1161pb et une protéine de 218 résidus d'acides aminés. Le gène est flanqué d'autres séquences de gènes de classe *Mu* (Marija Pljesa 2014). Une carte physique des gènes de la classe *Mu* des GST a été construite sur le chromosome 1p13.3. Les gènes de la glutathion S-transférase dans ce cluster sont espacés d'environ 20 kb, ils sont disposés comme suit : 5*-GSTM4-GSTM2-GSTM1-GSTM5-3* (Xu et al ; 1996).

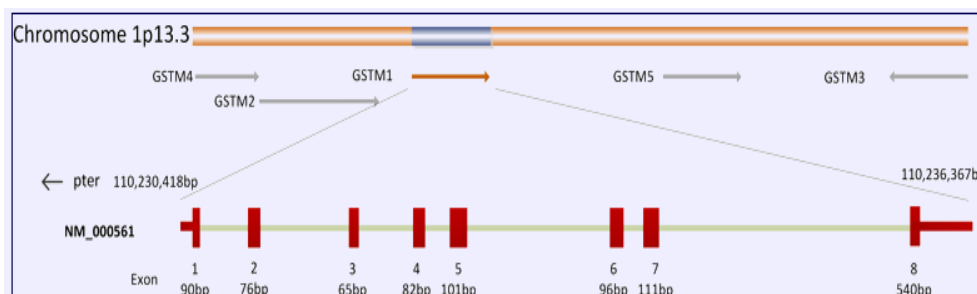


Figure 19. Gène GSTM1 (Marija Pljesa 2014).

5. Polymorphismes des récepteurs nicotiques

Les nAChR assurent la neurotransmission et la transduction du signal dans pratiquement toutes les cellules de mammifères via une signalisation cholinergique (Sakoda et al; 2011), (Scofield et Gardner 2014). Ce sont des canaux ionotropes appartenant à la superfamille des récepteurs pentamériques à boucle cystéine. Ils sont composés de 5 sous-unités identiques ou hétérologues (α , β , γ , δ , ϵ). Chaque sous unité est composée d'une extrémité N-terminale extracellulaire d'approximativement 200 résidus d'acides aminés, de quatre domaines transmembranaires M₁-M₄, une boucle intracellulaire de 100 à 200 acides aminés selon la sous unité, et une extrémité C terminale extracellulaire courte. L'expression des récepteurs est régulée à plusieurs niveaux, de la transcription des gènes codant pour les sous unités de ces récepteurs aux modifications post-traductionnelles des sous-unités individuelles. La régulation de l'expression de nAChR est très complexe en raison du grand nombre de gènes qui codent pour les sous unités de ce récepteur, ces gènes sont situés sur plusieurs loci de chromosomes différents. Parmi les gènes les plus étudiés on peut citer à titre d'exemple le cluster CHRNA5 / A3 / B4 (Scofield et Gardner 2014).

Il existe deux isotypes de récepteurs nicotiques : le récepteur neuronal retrouvé au niveau du système nerveux central et périphérique, et le récepteur musculaire retrouvé au niveau des jonctions neuromusculaires et dans les cellules non-neuronales comme les cellules épithéliales respiratoires (bronchiques, alvéolaires, glandulaires etc...). La trachée et l'arbre bronchique sont riches en nerfs sympathiques et parasympathiques du système nerveux autonome. Les neurotransmetteurs, acétylcholine, adrénaline, neuropeptides, modulent le calibre des voies respiratoires, le flux sanguin au niveau microvasculaire, induisent la toux, la production de mucus et augmentent l'inflammation notamment dans les broncho-pneumopathies. L'acétylcholine (ACh) est le principal neurotransmetteur synthétisée, stockée et sécrétée à partir des synapses cholinergiques (Medjber 2012).

5.1 Association entre le cancer broncho-pulmonaire et la nicotine

Il y a environ 4000 composés chimiques dans la fumée de cigarette ; cependant, la nicotine est le composant principal responsable du développement de la dépendance. La nicotine exerce son rôle principal dans le cerveau par le biais de neurones récepteurs nicotiques de l'acétylcholine (nAChR), largement répandus dans les systèmes nerveux central et périphérique (Li 2018).

La nicotine via ses métabolites actifs se lie aux nAChR dans tout le corps et activent de nombreuses cascades moléculaires favorisant la tumorigénèse (poumon, bouche, œsophage...etc) (Lester 2014).

Les variations génétiques potentielles dans les sous-types de nAChR auraient un impact sur la fonctionnalité des récepteurs et leur réponse à la nicotine à long terme. Il était donc logique d'examiner la variabilité génétique de l'expression nAChR et sa relation avec la dépendance à la nicotine (Mark et al ; 2019).

La région chromosomique 15q24-25.1 est considérée désormais comme un locus évident de susceptibilité au cancer du poumon et à la dépendance tabagique. Cette région inclut les gènes *CHRNA5*, *CHRNA3*, et *CHRNB4* qui codent respectivement pour les sous unités α_5 , α_3 , et β_4 du récepteur nicotinique (nAChR), ainsi que trois autres gènes. Cependant, les trois premiers gènes restent les plus étudiés et les plus liés à la prédisposition génétique au CBP, d'autres études ont confirmé également ces conclusions, et ont montré un lien entre ces variants et le risque de cancer pulmonaire et bien d'autres pathologies comme les maladies cardiovasculaires (Berrettini et al ; 2008), (Bierut et al ; 2008). Il semble que les mécanismes génétiques par lesquels cette région chromosomique contribue à un risque élevé de CBP dépendent surtout du tabagisme, vu que ces associations n'ont pas été détectées chez des non-fumeurs. Néanmoins, L'existence d'autres facteurs comme le régime alimentaire et le style de vie ne sont pas à exclure (Sakoda et al; 2011), (Mark et al ; 2019).

5.2 Gène d'intérêt *CHRNA5*

Le gène *CHRNA5* code pour la sous unité α_5 des récepteurs nicotiques, α_5 est exprimée au niveau du système nerveux central et périphérique. L'expression non neuronale de *CHRNA5* a été détectée dans le tractus gastro-intestinal, ainsi que dans le thymus et le testicule et bien d'autres types cellulaires comme l'épithélium oral, les cellules endothéliales vasculaires, l'épithélium bronchique, et une variété de cellules immunitaires (Scofield et Gardner 2014).

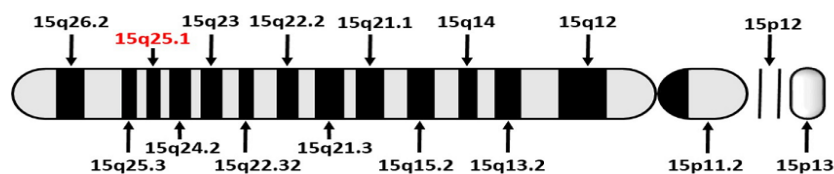


Figure 20. Schéma du cluster *CHRNA5-CHRNA3-CHRNB4* (Mark et al ; 2019).

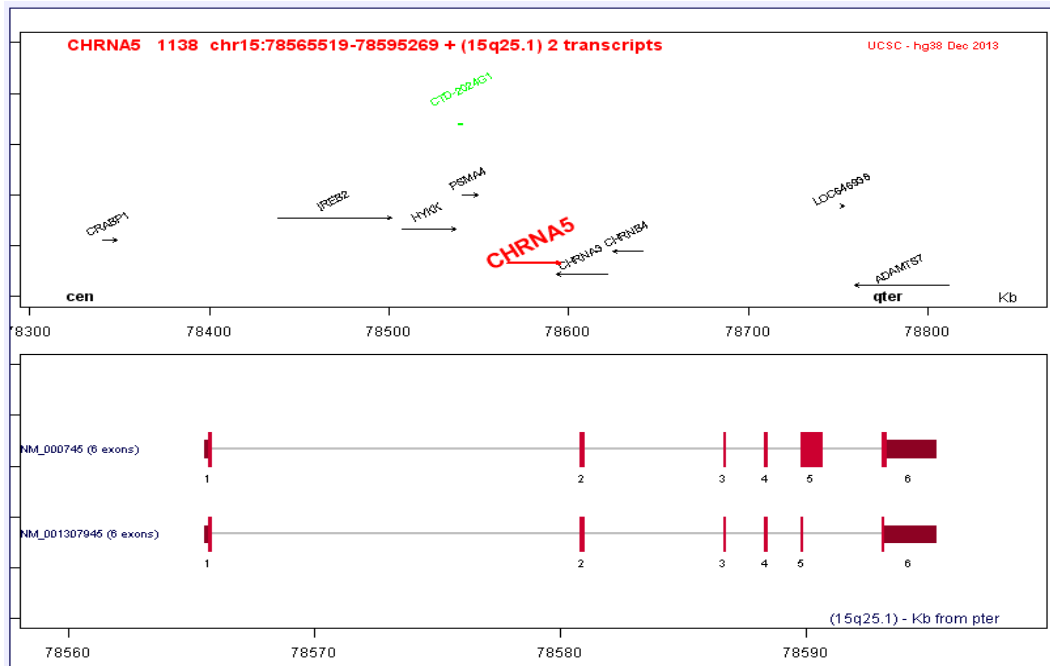


Figure 21. Gène CHRNA5 (Marija Pljesa 2014).

Le variant génétique étudié dans cette thèse est le CHRNA5 (rs16969968) ; il est situé sur le chromosome 15q25 et consiste en une substitution de l'allèle G par l'allèle A et il en résulte une substitution de l'acide aspartique par une asparagine au niveau du codon 398 de la sous unité α du récepteur nicotinique nAChR (Islam et al; 2013).

APPROCHE METHODOLOGIQUE

1. Patients et méthodes

1.1. Type d'étude

Il s'agit d'une étude descriptive portant sur une série de 80 cas de cancer bronchique primitif réalisée aux services de pneumologie et d'oncologie médicale du centre hospitalier universitaire Ibn Badis de Constantine, sur une période de 4 ans allant de 2013 jusqu'à 2017. Toutes les données ont été recueillies à partir d'un questionnaire préétabli et consultation des dossiers médicaux des patients concernés.

1.2. Population de l'étude

L'étude que nous avons entreprise est de type cas/témoins et a concerné 80 patients diagnostiqués pour un cancer broncho-pulmonaire, et 85 témoins en bonne santé apparente, non apparentés et appariés selon l'âge, le sexe et le statut tabagique.

1.2.1. Population de patients

Critères d'inclusion

Les cas inclus dans notre étude sont des patients ayant un cancer broncho-pulmonaire primitif confirmé histologiquement.

Critères d'exclusion

Nous avons exclu de notre étude les patients porteurs de tumeurs suspectes d'être secondaires, les patients immunodéprimés ainsi que les patients dont les dossiers sont incomplets.

1.2.2. Population de témoins

Ce groupe de témoins provient d'individus prélevés parmi l'entourage familial et professionnel et d'une bibliothèque d'ADN constituée dans le cadre de la préparation de deux thèses de doctorat réalisées par (Soumia MEDJANI) et (Asma MIMOUNI) du laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire de l'université de Constantine. Un formulaire de consentement a été signé par tous les individus ayant participé à cette étude (Annexes 6 et 7).

Une approbation du comité d'éthique a été obtenue avant de mettre en œuvre la présente étude.

1.3.Méthodes

1.3.1. Recueil des données

Pour la réalisation de ce travail, nous avons consulté :

- Le registre hospitalier du service de pneumologie et d'oncologie médicale du CHU et nous avons analysé les dossiers médicaux des patients hospitalisés au service durant la période d'étude.
- Le registre du service d'anatomopathologie du CHU avec comptes rendus.

Fiche d'exploitation

Les paramètres recueillis à partir des dossiers médicaux ont été notés sur une fiche d'exploitation exhaustive avec anonymisation des données. Les variables collectées ont concerné : l'âge au moment du diagnostic, le sexe, le statut tabagique, la profession ou l'exposition professionnelle, le lieu de naissance ainsi que le stade OMS au moment du diagnostic, les antécédents personnels et familiaux de cancer, la date et le type de prélèvement ayant permis de faire le diagnostic histologique.

1.3.2. Extraction de l'ADN

Nous avons procédé en premier lieu à une extraction d'ADN génomique à partir du sang total en utilisant le protocole NaCl ou « Salting out », qui consiste en l'isolement de leucocytes du sang total par une lyse hypotonique des globules rouges ; qui seront ensuite traités par un détergent et une protéinase K. dans le lysat, l'ADN nucléaire libéré se trouve associé aux différentes protéines qui seront par la suite éliminées par précipitation au NaCl. Le surnageant ainsi récupéré est traité par de l'éthanol pur, dans lequel une pelote de l'ADN se forme par précipitation. L'ADN est solubilisé en phase aqueuse (Tris EDTA 10 :1). Protocole détaillé en annexe (Annexe 8).

1.3.3. Estimation de la pureté et la concentration de l'ADN

La pureté de l'ADN ainsi que sa concentration sont estimées par NanoDrop™ (Un spectrophotomètre à micro volume). En fait, même après une purification, les ADN peuvent encore contenir des contaminants. Certains contaminants impactent significativement les analyses ultérieures de biologie moléculaire, et conduisent à des résultats incohérents. Il est alors impératif de contrôler systématiquement la pureté de l'ADN en amont de toute analyse.

La spectrophotométrie est la seule méthode qui permet de vérifier la pureté d'ADN grâce aux deux ratios $A_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}}$ et $A_{260\text{ nm}}/A_{230\text{ nm}}$.

Initialement décrite en 1942 par Warburg et Christian, qui avaient publié un rapport expliquant l'intérêt de l'utilisation du ratio $A_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}}$ pour détecter la contamination d'acides nucléiques dans une solution de protéines. Maintenant, ce ratio est souvent utilisé pour évaluer la contamination de protéines dans une solution d'acides nucléiques.

D'une manière générale, la pureté d'une solution d'acide nucléique est considérée comme acceptable lorsque le ratio $A_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}}$ est compris entre 1,8 et 2,0 pour l'ADN. Le ratio $A_{260\text{ nm}}/A_{230\text{ nm}}$ est un deuxième indicateur de pureté, qui lorsqu'il est compris entre 2,0 et 2,2 indique une bonne pureté des acides nucléiques. Lorsque ce ratio est plus faible que 2,0 et 2,2, cela révèle la présence de contaminants absorbant à 230 nm dans la solution. Plusieurs de ces contaminants proviennent de l'échantillon comme le phénol, l'EDTA...etc (www.ozyme.fr).

1.3.4. Analyse du polymorphisme génétique CYP1A1 m1 (rs4646903)

Ce polymorphisme a été étudié en utilisant la technique PCR-RFLP, qui consiste en l'amplification d'une partie de l'ADN contenant le gène en question, suivie d'un génotypage par digestion enzymatique en utilisant l'enzyme de restriction *MspI*. La détermination des génotypes a été réalisée en plusieurs étapes successives :

1. La PCR (Polymerase Chain Reaction).
2. La digestion enzymatique des produits PCR.
3. Visualisation des produits de digestion sur un gel d'agarose sous lumière UV.
4. Détermination des différents génotypes.

PCR (Polymerase Chain Reaction)

La PCR est une technique de biologie moléculaire qui a été publiée en Décembre 1985 dans la revue Science de la société américaine Cetus Corporation. Elle est d'une puissance exceptionnelle permettant d'amplifier spécifiquement, une séquence d'ADN donnée. Les taux d'amplification peuvent atteindre 10^9 et permettent alors de mettre en évidence la présence d'une molécule unique d'ADN (Larzul 1989).

Le principe de la PCR est simple, et son efficacité est hors du commun. Elle consiste à amplifier spécifiquement une séquence d'ADN double brin par action cyclique à l'aide d'une

ADN polymérase. L'initiation de la synthèse d'ADN par une enzyme a lieu au niveau de courtes séquences oligonucléotidiques (20-25 nucléotides) ou amorces (primers) P1 et P2 qui ont été ajoutées au milieu réactionnel. La PCR est une réaction cyclique et chaque cycle comprend les 3 étapes : dénaturation de l'ADN, hybridation des amorces et enfin une synthèse du brin complémentaire. La dénaturation s'effectue à une température comprise entre 90-100 °C, puis l'échantillon est refroidi à une température permissive à l'hybridation des amorces P1 et P2. Enfin, la dernière phase, dite d'extension des amorces, est effectuée à 72 °C avec une ADN polymérase thermorésistante : la *Taq* polymérase (Larzul 1989).

Conditions de l'amplification

L'amplification a été réalisée dans un mélange réactionnel de 50µl contenant 1µl d'ADN génomique, 1X du tampon de PCR, 1,5 mM MgCl₂, 200µM de dNTP, 0,2 µM de chaque amorce, une unité (U) de *Taq* DNA polymérase (Biomatik®). Les séquences des amorces utilisées sont comme suit : Forward : 5'-TAG GAG TCT TGT CTC ATG CCT-3', Reverse : 5'- CAG TGA AGA GGT GTA GCC GCT- 3'. Un témoin négatif ne contenant pas d'ADN est préparé pour chaque série d'amplification. Les cycles de PCR ont été réalisés dans un thermocycleur (Biometra®) selon les conditions suivantes : une étape de dénaturation initiale à 94°C pendant 4 minutes, suivie de 30 cycles comprenant chacun une dénaturation à 94°C pendant 30 secondes, une étape d'hybridation à 62°C durant 60 secondes et une phase d'élongation de 60 secondes à 72°C. Enfin, une élongation finale à 72°C pendant 5 minutes permettant d'achever l'élongation de tous les brins d'ADN néo-synthétisés.

Contrôle de l'amplification

Avant de procéder à la digestion enzymatique, un contrôle de l'amplification s'avère nécessaire, pour cela 5µl de chaque produit PCR, ainsi qu'un marqueur de taille (100pb) sont analysés sur un gel d'agarose à 1 % et soumis à une électrophorèse à 120 Volts (V) pendant 15 minutes. Après migration, le gel est visualisé sous lumière ultraviolette en présence de bromure d'éthidium (BET) qui est un produit intercalant entre les bases des acides nucléiques et présente une fluorescence orange sous lumière UV.

Digestion enzymatique des produits PCR

MspI est une enzyme de restriction qui provient de la bactérie du genre *Moraxella species*, son isoschisomère est *HpaII*, elle reconnaît et clive la séquence C/CGG. Les produits

de la PCR sont soumis à une digestion enzymatique en présence de *MspI*, ils sont incubés pendant une nuit dans une étuve réglée à 37°C.

Visualisation des produits de digestion

Les produits de digestion ont été analysés sur un gel d'agarose à 1 %. Comme il a été précédemment dit le polymorphisme CYP1A1m1, correspond à une transition d'une thymine par une cytosine en position 6235 dans la séquence nucléotidique.

Trois types de profil de restriction peuvent être révélés sous lumière UV selon le génotype ; l'homozygote muté CC apparaît sur le profil électrophorétique sous forme de deux bandes de 200 pb et 140 pb, l'hétérozygote CT apparaît sous forme de trois bandes de 340 pb, 200 pb et 140 pb, et enfin l'homozygote sauvage TT apparaît sous forme d'une seule bande de 340 pb (Fig.22).

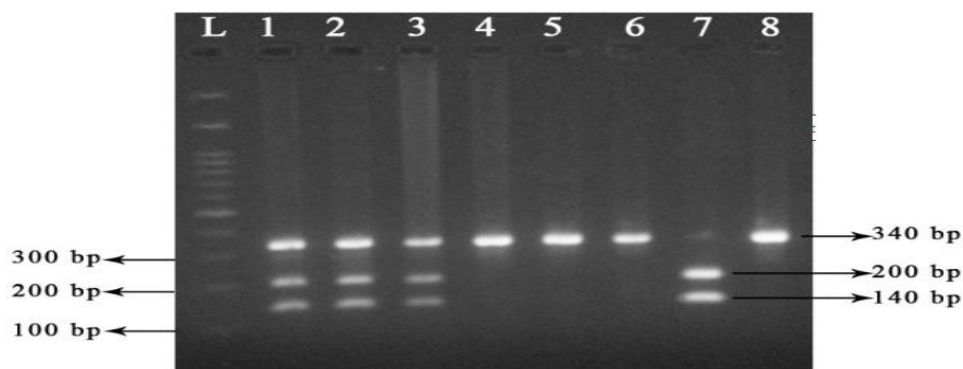


Figure 22. Electrophorèse sur gel d'agarose des produits RFLP obtenus.

1.3.5. Analyse de la délétion GSTM1

La recherche de la délétion GSTM1 a été effectuée grâce à une PCR multiplex. Cette technique est une variante de la PCR classique. Elle permet d'amplifier plusieurs gènes en une seule réaction PCR, par l'introduction dans le milieu de plusieurs couples d'amorces spécifiques à chaque gène. Dans notre étude, nous avons procédé à l'amplification simultanée des gènes GSTM1 et ALB (gène d'albumine), ce dernier sert de contrôle interne pour témoigner du bon déroulement de la PCR.

La détermination des génotypes a été réalisée en deux phases :

1. La PCR multiplex.
2. Le contrôle de l'amplification et révélation des génotypes.

Conditions de la PCR multiplex

L'amplification s'est déroulée dans un mélange réactionnel de 11µl contenant 1µl d'ADN génomique, 1 µl de tampon de PCR, 0,3 µl MgCl₂, 1,6 µl de dNTP, 1 µl de chaque amorce, 0,08 µl de *Taq* DNA polymérase (Biomatik®), et on complète avec 3,02 µl de l'eau distillée. Nous avons utilisé dans cette PCR deux couples d'amorces GSTM1 et ALB dont les séquences sont respectivement : Forward : 5'- AA CTC CCT GAA AAG CTA AAG-3', reverse : 5' : TT GGG CTC AAA TAT ACG GTG G-3' ; Forward : 5'-CC CTC TGC TAA CAA GTC CTA-3', reverse : 5'-CC CTA AAA AGA AAA TCG CCA ATC-3'. Les conditions d'amplification sur thermocycleur sont comme suit : une étape de dénaturation initiale à 94°C pendant 4 minutes, suivie de 37 cycles comprenant chacun une dénaturation à 94°C pendant une minute, une étape d'hybridation à 61°C durant une minute et une phase d'élongation d'une minute à 72°C. Enfin, une élongation finale à 72°C pendant 10 minutes.

Contrôle de l'amplification

Pour analyser la délétion GSTM1 un simple contrôle d'amplification permet de définir les génotypes des ADN analysés. En présence du gène de l'albumine utilisé comme témoin, la bande représentative de l'albumine sera toujours présente, la délétion du gène GSTM1 se traduit sur le gel par l'absence de la bande, alors que sa présence se traduit par la présence de la bande. Rappelons que cette délétion produit un nouveau fragment *Hind*III de 7,4 kb avec la perte de fragments *Hind*III de 10,3 et 11,4 kb.

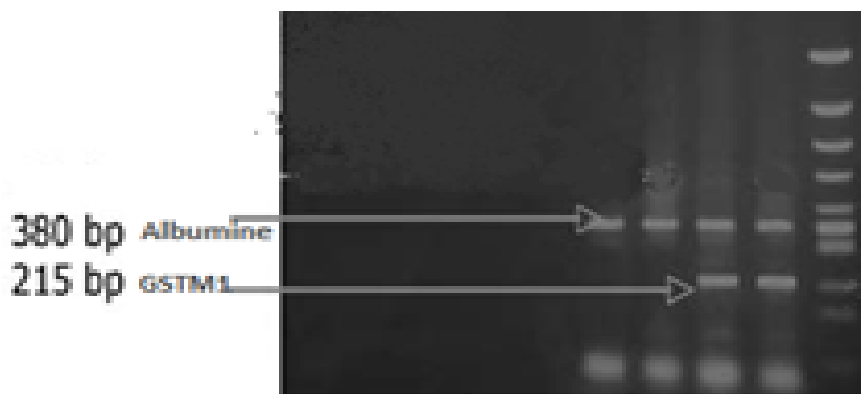


Figure 23. Profil électrophorétique sur gel d'agarose 2 %, du produit de PCR multiplex de la délétion du gène GSTM1 en présence du gène de l'albumine.

1.3.6. Analyse du polymorphisme *CHRNA5* (rs16969968)

Conditions de l'amplification

L'amplification a été réalisée dans un mélange réactionnel de 25µl contenant 1µl d'ADN génomique (50-70 ng/ µl), 25 µl du tampon 10 X (avec MgCl₂), 0,5 µl dNTP (10mmol/l), 0,5µl de chaque amorce (10 mmol/l), 0,13 µl de *Taq* DNA polymérase (5U/ µl) et 20 µl d'eau distillée stérile. Les séquences des amorces utilisées sont comme suit : Forward : 5'-TAG GAG TCT TGT CTC ATG CCT-3', Reverse : 5'- CAG TGA AGA GGT GTA GCC GCT- 3'.

Les cycles de PCR ont été réalisés dans un thermocycleur selon les conditions suivantes : une étape de dénaturation initiale à 95°C pendant 5 minutes, suivie de 38 cycles comprenant chacun une dénaturation à 95°C pendant 30 secondes, une étape d'hybridation à 58°C durant 30 secondes et une phase d'élongation de 45 secondes à 72°C. Enfin, une élongation finale à 72°C pendant 10 minutes.

Digestion enzymatique des produits PCR

Pour mettre en évidence ce polymorphisme on utilise l'enzyme de restriction *TaqI* extraite de la bactérie *Thermus aquaticus*, qui reconnaît et clive la séquence : T[^]CGA. Les produits de la PCR sont soumis à une digestion enzymatique en présence de *TaqI* (Fast Digest, NEB[®]), ils sont incubés pendant 15 minutes dans une étuve réglée à 65°C.

Révélation des produits RFLP obtenus

La mutation au niveau du gène CHRNA5 consiste en une substitution de l'allèle G par l'allèle A et il en résulte une substitution de l'acide aspartique par une asparagine au niveau du codon 398 de la sous unité α du récepteur nicotinique nAChR .Après électrophorèse sur gel d'agarose les génotypes révélés peuvent être comme suit : l'hétérozygote apparaît sous forme de trois bandes de 435 pb, 290 pb et 145 pb ; l'homozygote muté apparaît sous forme d'une seule bande de 435 pb, et l'homozygote sauvage apparaît sous forme de deux bandes l'une de 290 pb et l'autre de 145 pb (Fig.24).

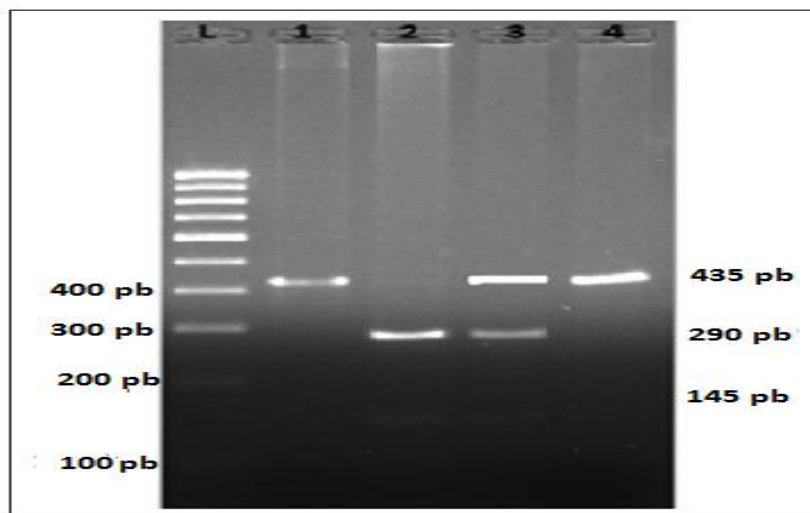


Figure 24. Profil électrophorétique sur gel d'agarose du polymorphisme CHRNA5.

1.3.7. Analyse statistique

L'analyse statistique des données a été réalisée à l'aide de Microsoft Office Excel et du logiciel R. les variables qualitatives ont été exprimées en pourcentage et les variables quantitatives ont été exprimées en moyenne. Nous avons calculé certaines corrélations avec un seuil de signification statistique fixé à $p < 0,05$ pour tous les tests statistiques effectués.

Statistiques descriptives

Dans cette partie nous avons décrit les différents paramètres sociodémographiques et médicaux pour les deux populations considérées à savoir la population malade et la population témoin. Nous avons utilisé dans cette partie le calcul des moyennes arithmétiques ainsi que les fréquences génotypiques et alléliques.

Enquête analytique

Nous avons essayé à travers cette enquête d'établir des liens entre certains facteurs d'exposition et la survenue d'un CBP, en plus d'une analyse comparative des résultats du génotypage patients vs témoins. Ces liens ont été établis par les calculs des chi deux, des odds-ratio, des intervalles de confiance et la p Value.

L'étude statistique est basée sur le test X^2 et l'odds ratio (OR) dans le but de :

- Déterminer s'il existe une association significative entre le polymorphisme étudié et le cancer : ceci se fait par la comparaison du nombre de fois où l'allèle est observé chez les patients par rapport au nombre de fois où il est présent chez les contrôles.

- Estimer l'intensité de cette association par le calcul de l'odds ratio : le risque de développer la maladie est d'autant plus élevé pour le sujet porteur de l'allèle que l'odds ratio est supérieur à 1. Il représente en fait une mesure d'association épidémiologique entre un facteur donné et une maladie, en cherchant à tester l'hypothèse nulle selon laquelle il n'y aurait pas d'association entre le facteur d'exposition et le risque de développer la maladie ($H_0 : OR = 1$).

L'intensité de l'association entre le polymorphisme et la maladie peut être alors interprétée :

- Si l'odds ratio (OR) est inférieur à 1 : l'association est négative et l'allèle confère une protection contre la maladie.

- Si l'OR est égal à 1 : l'allèle est neutre.

- Si l'OR est supérieur à 1 : l'association est positive et l'allèle confère une prédisposition à la maladie. Le risque de développer la maladie est d'autant plus élevé que le OR est élevé.

La quantification de l'effet étudié et le degré de certitude de cette estimation est mesuré 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 que si la même étude était réalisée sur un autre échantillon, les résultats ne seraient pas identiques mais seraient proches du résultat réel qui reste inconnu. L'intervalle de confiance estime donc cette variation due à l'échantillon. Pour le p value, le seuil critique à priori est de 0,05 (risque α). Si la valeur p calculée est inférieure à ce seuil, la différence entre les paramètres est déclarée statistiquement significative. Les seuils consensus retenus sont les seuils : 0,05, 0,01 et 0,001.

Résultats et discussion

2. Résultats et discussion

2.1. Caractéristiques générales de la population d'étude

Notre étude a porté sur 165 sujets dont 85 témoins en bonne santé apparente, et 80 patients diagnostiqués pour un cancer broncho-pulmonaire. Les caractéristiques générales de la population d'étude ont été rapportées dans le tableau I, la répartition était basée sur le sexe et la tranche d'âge.

Tableau I. Caractéristiques générales de la population d'étude.

	Patients n = 80 (%)	Témoins n = 85(%)	p value
Sexe			
Hommes	68 (85)	80 (94,1)	0,054
Femmes	12 (15)	5 (5,9)	
Age			
<60 ans	18 (22,5)	10 (11,8)	0,066
≥60 ans	62 (77,5)	75 (88,2)	
Total	80	85	

*P <0,05

2.1.1. Aspect sociodémographique

Age et sexe ratio

Le groupe des patients est composé de 68 hommes soit 85 % et 12 femmes soit 15 % avec un âge moyen de 58,74 ans, la population témoin est quant à elle composée de 80 hommes soit 94,1 % et 5 femmes soit 5,9 % avec une moyenne d'âge de 60,5 ans. En comparant l'incidence du CBP entre les hommes et les femmes, il semblerait que le CBP a une prédominance masculine (85 % vs 15 %). Selon les statistiques du Chi deux et avec un seuil de signification de 0,05, on peut conclure qu'il n'y a pas de différence statistiquement significative dans la distribution en fonction des tranches d'âge et du sexe entre malades et contrôles, avec les valeurs de Chi deux respectives [$X^2 = 3,7072$, $df = 1$, et la valeur de $p = 0,05418$ [odds ratio : 2.806, IC95% (0.867 - 10.692)], [$X^2 = 0.13597$, $df = 1$ et une p value = 0,7123 [odds ratio : 1.121, IC95% (0.582 - 2.164)].

Quoi que le CBP dans notre population est de prédominance masculine, les femmes qui n'ont jamais fumé sont prédisposées par leurs antécédents familiaux et par le tabagisme passif. Cependant, Il est très important de signaler qu'en Algérie la consommation du tabac à chiquer (Chemma) était une pratique courante chez les femmes.

Certaines études suggèrent que les femmes fumeuses sont à plus haut risque de développer un cancer du poumon par rapport aux hommes fumeurs; cependant, d'autres études montrent que le risque pour les femmes est équivalent à celui des hommes. Les facteurs environnementaux, et hormonaux ainsi que les différences dans la détoxification des xénobiotiques sont les raisons proposées pour expliquer les différences signalées dans la prédisposition au cancer du poumon liée au sexe (Allen 2018).

Bien que le rôle du sexe dans le risque de cancer du poumon ne soit pas vraiment clair, il existe un nombre important de publications qui soutiennent l'idée que l'épidémiologie et cancérogénèse pulmonaire diffèrent selon le sexe, notamment pour l'âge de diagnostic, et le type histologique. Une série de grandes études ont révélé que les femmes sont diagnostiquées avec un cancer du poumon à un âge plus précoce que les hommes, notamment une grande étude Polonaise qui a inclus plus de 20 000 patients atteints d'un cancer du poumon avec un pourcentage significativement plus élevé de femmes diagnostiquées avant l'âge de 50 ans (Stabile et Burns 2016).

L'augmentation d'incidence des cancers bronchiques chez la femme est le fait probablement le plus marquant des dernières décennies. Il est bien établi que la grande majorité des CBP dans le monde est liée au tabagisme chez l'homme (90 à 95 pour cent aux États-Unis et en Europe) et seulement 47 pour cent chez les femmes, mais il existe une grande variabilité géographique dans le risque attribuable au tabac, en particulier chez les femmes. Ce risque va de 85 pour cent aux États-Unis, à 74 pour cent en Europe du Nord, 72 pour cent en Australie et en Nouvelle-Zélande, correspondant aux pays où le tabagisme féminin est ancré de longue date, alors qu'au Japon et en Asie, moins d'un quart des cas est attribuable au tabac chez les femmes, en Afrique de l'Ouest ou de l'Est, cette proportion est proche de 0 (Quoix et Lemarié 2011). En effet, il semble important de signaler que les niveaux de consommation de tabac chez la femme arabo-musulmane sont beaucoup moins importants qu'ailleurs, ceci est dû aux spécificités socio-culturelles des populations musulmanes.

D'autre part, il a été démontré que le traitement hormonal substitutif de la ménopause serait responsable d'une augmentation significative de l'incidence des cancers bronchiques chez la femme lorsque la durée de la prise d'oestrogènes et de progestatifs excède dix ans (Quoix et Lemarié 2011). Le rôle de la contraception est discuté mais il ne semble pas exister de lien entre la prise d'une contraception orale et le risque de cancer du poumon, avec parfois une tendance en faveur d'un effet protecteur. Il est cependant difficile de tirer des conclusions définitives quant au risque lié à ces hormones (Sakoda et al; 2011).

Le cancer du poumon reste l'un des cancers diagnostiqués à un stade avancé, environ la moitié des patients consulte tardivement. Notre population de malades est caractérisée par un âge moyen de 58,74 ans, des âges avoisinants ont été rapportés par (Peddireddy et al ; 2016), (Jin et al; 2011). Le nombre de cas diagnostiqués pour le CBP en Algérie est estimé à 3338 cas en 2015 (Hamdi Cherif et al; 2015), ses taux d'incidence sont en augmentation constante chez les deux sexes, suivant la courbe de consommation tabagique.

Statut socio-économique

Le statut socio-économique (SSE) est un terme général qui désigne le statut social ou la "classe" d'un individu ou d'un groupe de personnes, et se définit comme l'ensemble des caractéristiques économiques et sociales mesurables qui situe une personne dans une couche déterminée de la société. Malheureusement, le SSE détermine d'importantes inégalités de santé (Schabath et Cote 2019). La mesure du SSE reste cependant difficile, car il s'agit d'un concept multidimensionnel qui requiert l'utilisation de plusieurs indicateurs. Les trois dimensions qui fixent le plus la position dans la hiérarchie sociale sont l'éducation, les revenus et la profession. L'envergure de la profession n'est certes pas à prendre en considération pour une partie importante de la population et il est de plus difficile de hiérarchiser les différentes classes professionnelles.

Nous avons à travers les informations recueillies, tenté de classer notre population de malades en catégories socio-économiques, allant de la classe A avec un meilleur SSE à la classe B qui représente la classe moyenne, et enfin la classe C qui représente la catégorie défavorisée. Les proportions en fonction des catégories citées ci-dessus sont schématisées dans la figure 25. On observe que la catégorie C occupe la première place avec un taux de 40 %, vient après la catégorie A avec un taux de 37,5 % puis en dernière position la catégorie B avec 22,5 %.

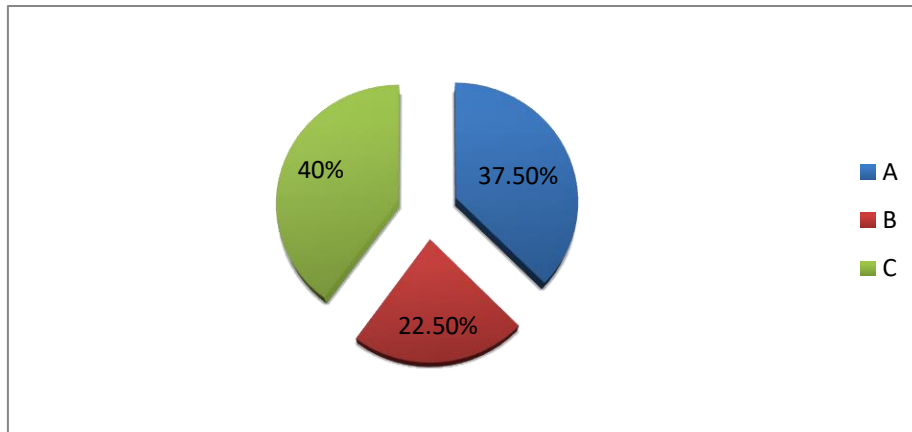


Figure 25. Répartition des patients en catégories socio-économiques

Selon un rapport publié par Schabath et Cote. (2019) une analyse de 17 021 cas et 20 885 contrôles a permis de constater, qu'un faible SSE était associé à un risque accru de CBP de 84% chez les hommes et de 54 % chez les femmes. Les auteurs ont conclu que les associations fortes soulignent la nécessité d'une exploration plus approfondie de l'association entre le SSE et le cancer du poumon afin de contribuer à une meilleure compréhension de l'étiologie du cancer du poumon et de concevoir des approches préventives (Schabath et Cote 2019).

2.1.2. Habitudes toxiques

Tabagisme

Afin de bien caractériser ce paramètre nous tenons à préciser que le facteur de risque tabagique étudié dans le présent travail est la cigarette. La distribution des statuts tabagiques entre les patients et les témoins est montrée dans le tableau II. Notre population de malades était composée de 82,5 % de fumeurs, contre 60 % de fumeurs pour la population de témoins. Le calcul du chi deux a montré qu'il y a une relation significative entre la consommation de tabac et la survenue de la maladie [$X^2 = 9.1988$, $df = 1$, $p\text{-value} = 0.002422$, $odds\ ratio : 0.337$ IC95% (0.150 - 0.725)].

La survenue de la maladie chez les femmes et les hommes non fumeurs peut être expliquée par le tabagisme passif, ainsi (Lodovici et al; 2004), ont étudié la teneur en HAP de la fumée de tabac principale et secondaire de 14 marques de tabac et ont constaté que la fumée secondaire contenait des niveaux de HAP environ dix fois plus élevés que la fumée principale de la plupart des marques de cigarettes.

Une femme non fumeuse a un risque augmenté de 24 pour cent de développer un cancer pulmonaire si elle vit avec un fumeur. En 1984, le tabagisme environnemental a été classé comme carcinogène par la US Environmental Protection Agency. En 1997, Hackshaw et al. (1997) (Hackshaw, Law, et Wald 1997) publient une méta-analyse regroupant 37 études épidémiologiques avec 4626 non-fumeurs vivant au contact de fumeurs. Les auteurs concluaient à un excès de risque de cancer bronchique, de 26 pour cent. Une étude Européenne, publiée en 1998, aboutissait au chiffre de 16 pour cent d'excès de risque. Une autre méta-analyse publiée en 2011 par Zhang et Bai. (2011) (Zhang et Bai 2011) retrouvaient un excès de risque chez la femme exposée au tabagisme passif de son époux.

Tableau II. Habitudes toxiques chez les patients et les témoins.

Habitudes toxiques	Patients	Témoins	p value
Tabagisme			
Fumeurs	66 (82,5 %)	51 (60 %)	0,001*
Non-fumeurs	14 (17,5 %)	34 (40 %)	
Total	80	85	
Alcool			
Oui	13 (16,25 %)	8 (9,41 %)	
Non	67 (83,75 %)	77 (90,58 %)	
Total	80	85	

- **Alcool**

Les habitudes toxiques liées à l'alcool sont résumées dans le tableau II. En termes de fréquence, les femmes sont toujours moins souvent consommatrices que les hommes, 83,75 % des malades déclarent ne jamais avoir consommé d'alcool, 16,25 % en avoir consommé plus d'une fois au cours de leur vie. Aucune dose de consommation d'alcool n'a été identifiée sans risque, c'est-à-dire, que même une faible consommation expose à une augmentation du risque de développer un cancer. Celle-ci est significative à partir de 10 g/j. Ainsi, le risque existe dès le premier verre, Cependant, le lien entre alcool et CBP est difficile à établir en raison de la co-dépendance au tabac souvent présente (Arvers 2018).

2.1.3. Aspect clinique des patients

Types histologiques

Comme le montre le tableau III, l'adénocarcinome est le type histologique le plus diagnostiqué dans notre population d'étude (68,8 %), suivi du carcinome épidermoïde (27,5 %),

puis viennent en dernière position les carcinomes à petites cellules (2,5 %) et les autres variants histologiques (1,3 %).

Tableau III. Types histologiques des malades

Type histologique	Nombre de patients (%)
Adénocarcinome	55 (68,8)
Carcinome épidermoïde	22 (27,5)
Carcinome à petites cellules	2 (2,5)
Autres types	1 (1,3)
Total	80

Nos résultats sont en accord avec les résultats de (Yoon et al; 2008), (Yang et al; 2007), de même Stabile et Burns. (2016) ont rapporté que l'adénocarcinome est le type histologique le plus répandu chez les hommes et les femmes, il est aussi le plus fréquent chez les femmes, le carcinome épidermoïde vient en deuxième position (Stabile et Burns 2016). Selon Salehi-Rad *et al.* (2020), environ 15 % des cancers du poumon sont des SCLC et 85 % sont des NSCLC. Les sous-types les plus diagnostiqués dans les NSCLC sont l'adénocarcinome et le carcinome épidermoïde (Salehi-Rad et al; 2020). Parallèlement Mimouni et al. (2020) ont aussi rapporté la prédominance du type adénocarcinome suivi du carcinome épidermoïde (Mimouni et al ; 2020). Ces résultats disaccordent avec ceux rapportés par Sobti et al qui ont noté la prédominance du type épidermoïde (Sobti et al; 2003).

Antécédents personnels

Dans le présent travail nous nous sommes focalisés surtout sur les pathologies respiratoires préexistantes, comme la tuberculose, bronchites chroniques et pneumonies. Comme le montre le tableau IV les antécédents personnels étaient présents chez 2,5 % des patients. Cependant l'association entre l'existence de pathologie pulmonaire préexistante et la survenue de la maladie n'était pas statistiquement significative [$X^2 = 2.1511$, $df = 1$, $p\text{-value} = 0.1425$, odds ratio : - IC95% (-)].

Tableau IV. Antécédents personnels et familiaux des patients.

Aspect clinique	Nombre de patients (%)
ATCDP	2(2,5)
Total	2

Dans notre étude le lien entre les antécédents personnels respiratoires et la survenue d'un CBP n'était pas statistiquement significatif. Des méta-analyses publiées ont rapporté que des antécédents respiratoires personnels étaient associés à un risque de CBP, la pneumonie par exemple constitue un facteur de risque de cancer du poumon par le biais de plusieurs mécanismes faisant appel aux médiateurs de l'inflammation, notamment des espèces réactives de l'oxygène qui peuvent causer des dommages à l'ADN et provoquer des mutations somatiques, la signalisation antiapoptotique et l'angiogenèse étaient associés à un risque accru de 30 à 40 % de cancer du poumon (Schabath et Cote 2019). A côté de la pneumonie, il y a aussi la tuberculose, qui est une maladie infectieuse causée par la bactérie *Mycobacterium tuberculosis bacterium*. La tuberculose peut induire une inflammation chronique et une fibrose pulmonaire, ce qui entraîne des taux plus élevés d'altérations génétiques, qui peuvent être responsables du risque élevé de développer un cancer du poumon. Selon le Consortium international sur le cancer du poumon les antécédents de tuberculose étaient associés à un risque accru de cancer du poumon (Schabath et Cote 2019).

Antécédents familiaux

Les agrégations familiales de cancers étaient présentes chez 17 patients soit 21,25 % de la population malade.

Tableau V. Antécédents familiaux de cancers chez les patients.

Aspect clinique	Nombre de patients (%)
ATCDF	17 (21,25)
Total	17

Même si le CBP héréditaire est extrêmement rare par rapport aux cancers sporadiques, notre population d'étude nous a offert une possibilité de comprendre les mutations des conducteurs qui influencent le risque de développer un CBP et essayer d'interpréter certaines agrégations familiales évocatrices d'une forme héréditaire de cancer grâce à l'analyse de pedigree (voir annexe 9 pour l'ensemble des pedigrees). En l'absence d'identification de mutations responsables d'agrégations familiales, un interrogatoire rigoureux à la recherche d'antécédents familiaux évocateurs s'avère très important.

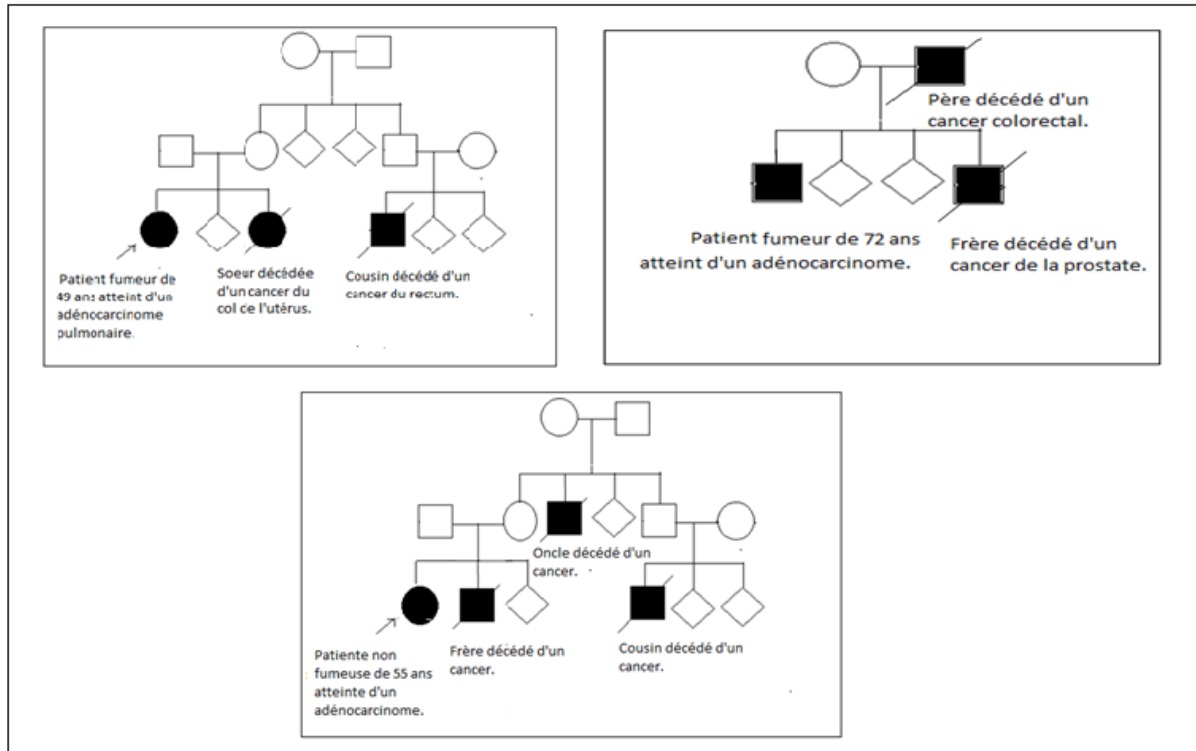


Figure 26. Exemples d'agrégations familiales de cancer au sein de la population de patients étudiée.

Un facteur héréditaire est le plus souvent reconnu par l'existence de plusieurs cas de cancers dans une même branche familiale. Cependant, il ne s'agit pas d'un critère absolu. Pour affiner le diagnostic de prédisposition, on a alors recours à des paramètres individuels tels que l'âge précoce d'apparition, la bilatéralité des atteintes ou l'existence de tumeurs primitives multiples chez un même sujet. Tous ces éléments résultent du fait qu'un sujet prédisposé possède déjà de manière constitutionnelle une mutation (mutation germinale apportée par au moins l'un des parents en cas d'histoire familiale ou une mutation *de novo*) dans toutes ses cellules, ce qui lui confère l'état de prédisposition génétique. Si une mutation génique est héritée d'un parent qui est affecté par un cancer, on pense que cela suivrait une transmission dominante autosomique d'une prédisposition héréditaire. Les agrégations familiales de cancer peuvent aussi s'expliquer par des mutations héréditaires à pénétrance variable.

Le fait que plusieurs membres d'une même famille développent un cancer ne s'explique d'ailleurs pas toujours par l'hérédité. Le mode de vie intervient également. Dans une famille de fumeurs, par exemple, le cancer du poumon est plus fréquent.

Plusieurs rapports ont montré que les mutations germinales dans le domaine kinase du récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR), telles que R776G, R776H, T790M, V843I et P848L, prédisposent au développement du cancer du poumon. Il est possible que des oncogènes autres que l'EGFR provoquent des cancers pulmonaires héréditaires. Un rapport sur une famille d'origine Japonaise a présenté des cancers du poumon héréditaires, dans laquelle des mutations HER2 de la lignée germinale ont été détectées (Hiromasa Yatabe, et Toyooka 2018).

D'un autre côté, 5 à 10 % de tous les cancers sont causés par des mutations germinales héréditaires, dont beaucoup sont associées à des syndromes cancéreux héréditaires connus (Teixeira et al ; 2020) comme le syndrome de Li-Fraumeni qui est une maladie héréditaire rare associée à une mutation germinale de TP53, qui prédispose le patient à l'apparition de cancers dans plusieurs organes, généralement à un stade précoce. Les tumeurs classiquement associées à ce syndrome comprennent le cancer du sein, le sarcome des tissus mous, l'ostéosarcome, les tumeurs cérébrales et le carcinome adrénocortical. Le cancer du poumon touche 2,3 % à 6,8 % des patients atteints de ce syndrome, le plus souvent des hommes. En 2009, une version étendue des critères de Chompret a été publiée, qui inclut le cancer du poumon dans le spectre des tumeurs de Li Fraumeni (Teixeira et al ; 2020). Dans la même optique, les patients atteints du syndrome DICER1 - qui entraîne également une augmentation du risque de cancer du poumon a fait preuve de l'existence de certaines mutations germinales dans le gène de la ribonucléase Dicer 1 (Anthony et al ; 2017).

Aussi, il peut exister une composante héréditaire non perceptible par la généalogie qui interagit avec l'environnement dans la genèse du cancer. Ce serait le cas de certains cancers du poumon où interviendraient certains allèles des systèmes de détoxification des carcinogènes, ainsi, l'existence d'une variabilité interindividuelle (permettant à certaines personnes de mieux métaboliser que d'autres les constituants cancérigènes contenus dans la fumée), qui serait transmise de façon héréditaire, paraît probable. De nombreux polymorphismes génétiques dans les gènes de détoxification de xénobiotiques de phase I et II ont été étudiés jusqu'à maintenant. Ces variants polymorphes et leurs associations avec la prédisposition génétique au CBP ont fait l'objet d'un grand nombre d'études génétiques menées sur différentes populations à travers le monde.

2.1.4. Analyse du polymorphisme CYP1A1 m1

Dans le présent travail, nous avons entrepris une étude de type cas/témoins pour rechercher d'éventuels liens de causalité entre le variant CYP1A1 m1 (rs4646903) et le risque de développer un CBP dans une population de l'Est Algérien. Le tableau VI montre la répartition des fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme T6235C du gène CYP1A1 chez 80 individus malades, et 85 témoins sains appartenant à une population de l'Est Algérien. Le calcul des fréquences alléliques de ce polymorphisme chez les témoins a montré que l'allèle T est majoritairement représenté par rapport à l'allèle C; avec des fréquences respectives de 0,91 et 0,08. Chez le groupe de patients, les fréquences alléliques étaient de 0,85 et 0,14. Il en ressort que l'allèle C est l'allèle le moins représenté chez les patients et les témoins. En ce qui concerne la distribution des génotypes de ce polymorphisme, la fréquence du génotype TT est de 72,5 % chez les cas contre 83,52 % chez les contrôles sains. Celle du génotype CT est de 26,25 % chez les patients contre 16,47 % chez les témoins et celle du génotype homozygote muté CC est de 1,25 % chez les cas et de 0 % chez les témoins.

Tableau VI. Fréquences génotypiques et alléliques du gène CYP1A1.

Génotype	Patients (n = 80)	Contrôles (n=85)	OR	(95 % CI)	p value
TT	58 (72,5 %)	71 (83,52 %)	Ref.		
TC	21 (26,25 %)	14 (16,47 %)	0.547	0.235 to 1.241	0,130
CC	1 (1,25 %)	0 (0 %)	-	-	0,454
Allèle T	137(85,62)	156 (91,76)	Ref		
Allèle C	23(14,38)	14 (8,24)	0.536	0.245 to 1.135	0.083
OR = Odds Ratio; CI = Confidence Interval.					

La comparaison des fréquences alléliques et génotypiques de ce polymorphisme entre les patients et les témoins a montré qu'il n'y a aucune différence significative de distribution de fréquences entre les cas et les témoins ($p>0,05$). Les différences observées entre les génotypes et les autres paramètres n'ont pas été confirmées selon les calculs de chi deux, et de là, nous pouvons conclure qu'il y a une indépendance entre la survenue de la maladie et le

génotype CYP1A1 [$X^2 = 2.9762$, $df = 2$, $p\text{-value} = 0.2258$]. Une indépendance existe aussi entre les variables sexe et génotype CYP1A1 [$X^2 = 0.73505$, $df = 2$, $p\text{-value} = 0.6924$], entre la catégorie d'âge et le génotype [$X^2 = 5.8355$, $df = 2$, $p\text{-value} = 0.05406$], et enfin entre le statut tabagique et le génotype CYP1A1 [$X^2 = 2.3231$, $df = 2$, $p\text{-value} = 0.313$].

Tableau VII. OR ajusté (sexe, âge, tabac) pour le CBP associé au génotype CYP1A1.

Facteur	Génotype	Patients (%)	Témoins (%)	P	OR*(IC 95%)
	TT	58(72,5)	71(83,52 %)	Ref	
	CT	21(26,3)	14(16,47 %)	0,45	1,365(0,61-3,09)
	CC	1(1,3)	0(0)	-	-
Total		80	85		

OR* odds ratio ajusté pour le sexe, catégorie d'âge et le tabac

Les résultats de la régression logistique multivariée, indiqués dans le tableau VII montrent clairement l'absence d'association entre le génotype CYP1A1 et le risque de développer un CBP [OR = 1,365(0,61-3,09), $p\text{ value} = 0,45$]. Les OR ont été ajustés selon le sexe, la catégorie d'âge et le statut tabagique.

L'estimation du risque après régression logistique multivariée, et stratification selon le statut tabagique est indiquée dans le tableau VIII.

Tableau VIII: OR ajusté (sexe et âge) pour le CBP associé génotype CYP1A1 m1.

	Facteur	Génotype	Patients (%)	Témoins (%)	p	OR*(IC 95%)	
CYP1A1	Non-fumeur						
		TT	9	31	Ref		
		TC	5	2	0,019*	8,70 (0,92-21,02)	
		CC	0	0	-	-	
		Total	14	33			
	Fumeur						
		TT	49	39	Ref		
		CT	16	13	0,962	1,06 (0,44-2,59)	
		CC	1	0	0,992	0,92(0,435-NA)	
		Total	66	52			

OR* odds ratio ajusté pour le sexe et la catégorie d'âge, * P<0,05

Nos résultats ont montré une association significative entre le génotype TC, le statut non-fumeur et la survenue d'un CBP [OR =8,70 (0,92-21,02), p value = 0,019*], cependant, ceci doit être conforté avec une étude plus étendue.

Tableau IX. OR ajusté (sexe, tabac) pour le CBP associé au génotype CYP1A1.

	Facteur	Génotype	Patients (%)	Témoins (%)	P	OR*(IC 95%)
CYP1A1	<60	TT	26	29	Ref	
		CT	13	10	0,457	1,30(0,46-3,67)
		CC	0	0	-	-
		Total	39	39		
	≥60	TT	32	41	Ref	
		CT	8	5	0,245	1,68(0,44-7,55)
		CC	1	0	-	-
		Total	41	46		

OR* odds ratio ajusté pour le sexe et le tabac

L'ajustement des ORs pour le sexe et le tabac n'a montré aucune association entre l'avancée dans d'âge et la survenue de la maladie [OR = 1,68(0,44-7,55), p value = 0,245]. Les résultats sont indiqués dans le tableau IX.

Tableau X. Répartition des patients selon le type histologique et le génotype CYP1A1.

CYP1A1	Adénocarcinome			Carcinome épidermoïde			Autres		
	C/T	OR	P	C/T	OR	P	C/T	OR	P
TT	36/22	3,87	0,037*	19/39	6,16	0,090	3/55	0,00	0,279
TC +CC	19/3	0,92-18,65		3/1	0,51-164,91		0/22	0-6,14	

C : Cas, T : Témoins, * p<0,05

La distribution des fréquences génotypiques en fonction du type histologique montre que le génotype TC est majoritairement représenté dans les adénocarcinomes par rapport aux autres variants histologiques, 18 % des patients diagnostiqués pour un adénocarcinome avaient le génotype TC, ce génotype était rarement observé chez les patients ayant un cancer

épidermoïde soit 3 %, et il n'a pas du tout été révélé pour les autres types histologiques (Tableau X). Nos résultats indiquent cependant une association significative entre le type adénocarcinome et les génotypes TC +CC [OR =3,87 0,92-18,65, p value = 0,037].

Les résultats statistiques de l'analyse du polymorphisme CYP1A1 m1 n'ont montré donc aucune différence statistiquement significative entre les fréquences génotypiques et alléliques des cas par rapport aux sujets contrôles ($p > 0,05$). Il en ressort qu'il n'y a pas d'association entre le polymorphisme CYP1A1 m1 et le risque de développer un CBP dans notre population d'étude.

Plusieurs études ont exploré l'association possible entre les polymorphismes du CYP1A1 et le risque de développer un cancer du poumon dans diverses populations ethniques. Nos résultats rejoignent ceux rapportés par Quinones et al. 2001(Quiñones et al; 2001), Houlston (Houlston 2000), Huang et al. (2013) (Huang et al; 2013), Wright et al. (2010) (Wright et al; 2010), Mota et al. 2010 (Mota et al; 2010), San Jose et al. (2010) (San Jose et al; 2010). Des résultats pareils ont été rapportés par Lopez-Cima et al. (2012) dans une population espagnole (López-Cima et al; 2012) , et Honma et al. (2009) dans une population Brésilienne (Honma et al; 2009).

D'autre part, des résultats contrastés ont rapporté une association significative entre le variant CYP1A1 m1 et le risque de développer un CBP dans différentes populations : comme (Ji et al; 2012), (Xu et al; 1996) chez des populations Chinoises; Hussein et al. (2014) ont montré pareillement une association significative dans une population Egyptienne (Hussein et al; 2014) ; sobti et al ; 2003, Sreelekha et al. (2001) ainsi que Girdhar et al. (2016) ont obtenu les mêmes résultats dans des populations Indiennes (Sreelekha et al; 2001),(Sobti et al; 2003), (Girdhar et al; 2016). Par ailleurs, des résultats pareils ont été rapportés par Peddireddy et al. (2016) dans la population de Andhra Pradesh en Inde (Peddireddy et al; 2016), ainsi que le Cachemire (Shaffi et al; 2009) . Song et al. (2001) ont étudié 217 cas de cancer du poumon en Chine et 404 témoins et ont identifié un risque accru de carcinome épidermoïde chez les patients présentant au moins un allèle m1 du gène CYP1A1(Song et al; 2001). De même Xin, Yue et Hao. (2015) ont rapporté une association significative entre le variant *MspI* et le risque de développer un CBP (Xin, Yue et Hao 2015). Cependant, la prévalence de l'allèle m1 du gène CYP1A1 est extrêmement faible chez les Caucasiens, les résultats des études sont donc mitigés concernant ces polymorphismes et le risque de développer un cancer du poumon dans les populations non Asiatiques (Allen 2018).

2.1.5. Analyse du polymorphisme GSTM1

La distribution des génotypes entre les patients et les contrôles montre qu'il y a probablement un lien entre le génotype GSTM1 et la survenue de la maladie selon le chi carré [X-squared = 8.0578, df = 1, p-value = 0.004531, odds ratio : 2.490 IC95% (1.260 - 5.006)]. Cependant aucune association n'a été démontrée entre le génotype et les variables sexe, catégorie d'âge et tabac avec les valeurs respectives des chi carrés [X-squared = 1.0893, df = 1, p-value = 0.2966 , odds ratio : 0.564 IC95% (0.148 - 1.830)], [X-squared = 2.6641, df = 1, p-value = 0.1026, odds ratio : 1.667 IC95% (0.861 - 3.259)] et [X-squared = 2.6328, df = 1, p-value = 0.1047, odds ratio : 0.572 IC95% (0.272 - 1.196)].

La délétion GSTM1 était majoritairement retrouvée chez les cas par rapport aux témoins 70 % de la population malade avaient une délétion GSTM1 contre 48,23 % chez les sujets contrôles (Tableau XI). Selon nos résultats le génotype nul du gène GSTM1 n'a aucune association significative avec la survenue de la maladie, et ne semble pas être un facteur de susceptibilité génétique au CBP. En effet, Le calcul des OR pour le polymorphisme GSTM1 a montré que les malades porteurs du génotype nul ne présentaient pas d'association significative avec le risque de développer un cancer du poumon [OR = 2,50 (1,26-5,00), p = 0,0046].

Tableau XI. Fréquences génotypiques du gène GSTM1.

Génotype	Patients	Témoins	OR	IC (95 %)	p value
GSTM1 (+)	24 (30 %)	44 (51,76%)	-	-	-
GSTM1 (-/-)	56 (70 %)	41 (48,23 %)	2,50	1,26-5,00	0,0046*
Total	80	85			

*p<0,05

Les résultats de la distribution des génotypes en fonction des types histologiques montrent qu'il n'y a pas une différence statistiquement significative entre les génotypes sauvage et nul et les différents types histologiques, en prenant le génotype sauvage comme référence.

Tableau XII. OR pour le CBP associé au génotype GSTM1.

GSTM1	Adénocarcinome			Carcinome épidermoïde			Autres		
	C/T	OR	P	C/T	OR	P	C/T	OR	p
(+ /+)	15/9	1,50	0,432	8/16	0,68	0,475	1/23	0,85	0,898
Nul	40/16	0,49-4,62		14/41	0,21-2,20		2/54	0,06-25,04	

Des résultats concordant avec notre étude ont été rapportés par Mesood et al. (2016) qui n'ont observé aucune association significative entre la délétion GSTM1 et le risque de développer un CBP (Masood, Taseer, et Yasmin 2016). Des résultats similaires ont été rapportés par Shneider et al. (2004) (Schneider et al; 2004) et Ritambhara et al.(2019) (Ritambhara et al; 2019).

Les résultats du présent travail sont en désaccord avec He et al. (2018) (He et al; 2018), Minina et al. (2017) (Minina et al; 2017) qui rapportent dans leurs travaux que la délétion GSTM1 augmente la fréquence des aberrations chromosomiques chez des patients diagnostiqués pour un CBP et donc le risque de développer un cancer du poumon. De même Sharma et al. (2015) ont rapporté une association significative entre le génotype nul de GSTM1 et le risque de développer un CBP (Sharma et al; 2015).

2.1.6. Analyse du polymorphisme CHRNA5

L'étude de ce polymorphisme a porté sur 22 patients diagnostiqués pour un CBP et 51 témoins sains. Dont les caractéristiques sont présentées dans le tableau XII.

La distribution des génotypes a montré une répartition non homogène entre les deux groupes de patients et de témoins, avec une fréquence de 40,9 % pour le génotype sauvage GG chez les patients contre 47,1 % chez les contrôles, en ce qui concerne le génotype hétérozygote on a observé des fréquences de 40,9 % et de 47,1 % chez les patients et les témoins respectivement. Des fréquences minoritaires ont été observées pour le génotype homozygote muté avec 18,18 % chez les patients et 5,9 % chez les témoins sains. L'observation des fréquences alléliques et génotypiques a révélé que l'allèle G est le gène le mieux représenté dans notre population d'étude que ce soit chez les patients ou les témoins (Tableau XIII).

Tableau XIII. Caractéristiques générales de la population d'étude pour le CHRNA5.

Variables	Patients n= 22	Contrôles n= 51	p value
Sexe			
Hommes	19 (86,36 %)	50 (98,03 %)	0,045*
Femmes	3 (13,63 %)	1(1,96 %)	
Total	22		
Age			
<60 ans	8 (36,36 %)	37(%)	0,003*
≥ 60 ans	14 (63,63 %)	14(%)	
Total	22	51	
Type histologique			
Adénocarcinome	16 (72,72 %)		
Carcinome épidermoïde	6 (27,27 %)		
Carcinome à petites cellules	0 (0 %)		
Autre	0 (0 %)		0,001*
Total	22		
Tabagisme			
Fumeurs	18 (%)	51 (%)	
Non-fumeurs	4 (%)	0 (%)	
Total	22	51	
*²P<0,05			

Tableau XIV. Fréquences génotypiques et alléliques du gène CHRNA5.

Génotype	Patients (n = 22)	Contrôles (n=51)	OR	(95 % CI)	Chi deux	p value
GG	9(40,9 %)	24 (47,1%)	REF	/	/	/
AG	9(40,9 %)	24(47,1%)	1,00	0,30-3,37	0,00	1,000
AA	4(18,18 %)	3 (5,9%)	3,56	0,52-26,15	2,29	
Allèle G	27 (61,35 %)	60 (66,66%)	REF	/	/	/
Allèle A	17 (38,63 %)	30 (33,33%)	1,26	0,56-2,84	0,36	0,547

OR = Odds Ratio; CI = Confidence Interval.

Le calcul des chi carrés n'a montré aucune association entre le génotype CHRNA5 et la survenue de la maladie [$X^2 = 2.6819$, $df = 2$, $p\text{-value} = 0.2616$], des relations d'indépendance ont aussi été rapportées pour les variables sexe, catégorie d'âge et tabac avec les valeurs respectives des chi carrés [$X^2 = 1.4518$, $df = 2$, $p\text{-value} = 0.4839$], [$X^2 = 1.1557$, $df = 2$, $p\text{-value} = 0.5611$] et [$X^2 = 1.4518$, $df = 2$, $p\text{-value} = 0.4839$].

L'analyse statistique a révélé qu'il n'y a aucune association significative ($p > 0,05$) entre les deux groupes, et donc ce polymorphisme semble ne pas jouer un rôle dans la susceptibilité génétique au CBP. En outre, nos résultats n'ont montré aucune association significative entre ce SNP et la survenue d'un CBP après ajustement des OR pour le sexe, la catégorie d'âge et le statut tabagique.

Tableau XV. OR ajusté (sexe, âge, tabac) pour le CBP associé au CHRNA5.

Facteur	Génotype	Patients (%)	Témoins (%)	P	OR*(IC 95%)
CHRNA5	GG	9(40,9)	24(47,1)	Ref	
	GA	9(40,9)	24(47,1)	1,00	1,24(0,32-4,91)
	AA	4(18,2)	3(5,9)	0,14	1,62(1,48-1,68)
	Total	22	51		

OR* odds ratio ajusté pour le sexe, catégorie d'âge et le tabac.

Les résultats de l'étude du polymorphisme du gène CHRNA5 dans cette étude sont en accord avec ceux obtenus par Xu et al. (2015) qui ont rapporté une association négative dans des populations Asiatiques (Xu et al; 2015).

Contrairement à nos résultats beaucoup de travaux ont établi des associations significatives entre le variant CHRNA5 et le risque de développer un CBP ; ainsi Ayesh et al. (2018) dans une étude sur une population Palestinienne ont rapporté une fréquence relativement significative de l'allèle A du polymorphisme rs 1696968 parmi les cas par rapport aux sujets témoins , et une association significative entre ce polymorphisme et le risque de développer un CBP (Ayesh, Al-Masri, et Abed 2018). De même les résultats de Pérez Morales et al. (2018) ont montré une association significative entre ce variant CHRNA5 et le risque de développer un CBP dans une population Mexicaine (Pérez-Morales et al; 2018). Des résultats similaires ont aussi été rapportés par Huang et al. (2015) (Huang et al; 2015). Selon Wang et al. (2017) dans une étude parue en 2017 le polymorphisme CHRNA5 figure parmi les gènes ayant une association significative avec le risque de développer un CBP (Wang et al; 2017). Dans une méta analyse Xu et al. (2015) ont rapporté une association significative dans les populations Caucasiennes (Xu et al; 2015). Aussi, une association significative entre le variant CHRNA5 rs16969968 et le risque de développer un adénocarcinome pulmonaire a été rapportée par Mimouni et al. (2020), qui selon la même étude ont démontré une association signifiattive entre ce même variant et la dépendance tabagique (Mimouni et al ; 2020).

Conclusion et perspectives

Le cancer bronchique est généralement diagnostiqué à un stade avancé et une meilleure compréhension des mécanismes régissant la dissémination métastatique est nécessaire à l'amélioration de la prise en charge de ce type de cancer. Ces dernières années, grâce au développement des techniques et outils de biologie moléculaire l'identification des facteurs de susceptibilité génétique dans la survenue des cancers, a eu un retentissement notable dans le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques, en effet la connaissance de ces gènes est considérée comme un champ de recherche à portée à la fois académique et médicale permettant d'améliorer le diagnostic et d'envisager des perspectives thérapeutiques prometteuses.

Notre travail s'inscrit dans ce cadre de la détermination d'éventuelles associations entre certains polymorphismes génétiques et le risque de développer un CBP. Il s'agit des polymorphismes des gènes CYP1A1, GSTM1 et CHRNA5. L'implication des polymorphismes des gènes du système de détoxification et des récepteurs nicotiques dans la survenue d'un CBP a été entreprise dans diverses populations à travers le monde. Néanmoins, les résultats de ces études divergent selon le polymorphisme et la population étudiés.

Nos résultats indiquent que les polymorphismes CYP1A1 GSTM1 et CHRNA5 ne semblent pas être associés au risque de développer un CBP dans une population de l'Est Algérien. Cette étude nous a permis de caractériser notre population pour ces trois polymorphismes. L'évaluation des polymorphismes génétiques chez ces patients suggère l'implication de gènes spécifiques, différents de ceux participant au métabolisme des carcinogènes du tabac.

L'hétérogénéité moléculaire reste l'un des problèmes les plus difficiles à gérer dans le domaine du cancer, en particulier du CBP, compte tenu de ses implications thérapeutiques. L'étiologie majoritairement environnementale de ce cancer nous ouvre par ailleurs des perspectives, vers des études plus poussées des facteurs environnementaux et leurs interactions avec les facteurs génétiques mis en jeu. Il serait judicieux d'élargir l'effectif de la population étudiée dans de futures recherches, et d'explorer d'autres gènes candidats ayant un impact sur le risque de développer un CBP.

Notre étude a montré l'absence d'association entre la série des trois polymorphismes et le risque de développer un CBP, pour rendre fiables et exploitables l'identification de gènes de susceptibilité du cancer broncho-pulmonaire une validation dans plusieurs cohortes indépendantes est nécessaire.

Il est par ailleurs important de noter que les agrégations familiales dans notre population étaient présentes à un taux de 21,25 %, ces dernières peuvent être compatibles avec une prédisposition génétique à transmission autosomique dominante à pénétrance incomplète, comme elles peuvent être expliquées par la transmission de certaines mutations germinales liées à certains syndromes connus comme le syndrome de Li Fraumeni. À ce jour, le ou les gènes impliqués dans la survenue de ces formes familiales restent méconnus.

Du fait du taux de l'endogamie régionale élevé, nous envisageons dans le futur de poursuivre l'exploration des cas familiaux en établissant des questionnaires rigoureux sur la généalogie des patients afin de déceler d'éventuelles mutations germinales héréditaires dans la population Algérienne.

Enfin, prévenir les cancers broncho-pulmonaires passe par une meilleure connaissance des facteurs de risque de ces cancers. Et dans ce domaine, le principal ennemi est connu de longue date : le tabac, et donc pour prévenir le plus meurtrier des cancers, il est important d'arrêter de fumer ou de ne jamais commencer, en plus de la bonne hygiène de vie et le dépistage chez les sujets à risque pour avoir accès très tôt à un traitement plus efficace. L'établissement de critères anatomo-cliniques vs moléculaires pour différencier cancers broncho-pulmonaires primitifs multiples et cancer broncho-pulmonaire métastatique aiderait à une meilleure prise en charge thérapeutique.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

Agnes, A Walsh, Grazyna D. Szklarz, Emily E. Scott.

Human Cytochrome P450 1A1 Structure and Utility in Understanding Drug and Xenobiotic Metabolism. *The Journal Of Biological Chemistry*. 2013. Vol. 288, No. 18, pp. 12932–12943.

Allen, Timothy Craig.

Genetic Susceptibility to Lung Cancer. In *Precision Molecular Pathology of Lung Cancer*. Molecular Pathology Library. 2018. 19-43.

Allorge, Delphine.

La pharmaco-toxicogénétique et ses applications médicales. *Revue Francophone des Laboratoires*, Actualités en toxicologie, 2016 (479): 51-58.

Anthony, M. Musolf, Claire L. Simpson, Mariza de Andrade, Diptasri Mandal et al, Familial Lung Cancer: A Brief History from the Earliest Work to the Most Recent. *Studies Genes* 2017, 8, 36.

Antoine, M., J. Moroch, F. Kebir, M. Georges, A.-M. Ruppert, M. Wislez, et al. Classification histomoléculaire des cancers pulmonaires. *Revue des Maladies Respiratoires Actualités* 2018. 10 (3): 236-47.

Anttila, Sisko, Paolo Boffetta.

Occupational Cancers. London: Springer-Verlag.

Arvers, Ph. 2018.

Alcool et poumon : des liaisons dangereuses. *Revue des Maladies Respiratoires* éd. 2014. 35 (10): 1039-49.

Ayesh, Basim Mohammad, Rami Al-Masri, et Abdalla Assaf Abed.

CHRNA5 and CHRNA3 Polymorphism and Lung Cancer Susceptibility in Palestinian Population. *BMC Research Notes* 2018. 11 (1): 218.

Bag A, Jyala N S, Bag N.

Cytochrome P450 1A1 genetic polymorphisms as cancer biomarkers ; *Indian J Cancer*. Oct-Dec 2015.52(4):479-89.

Baldi, Isabelle, Denis Bard, Barouki, Benhamou, Jacques Bénichou, et al.

Cancer et environnement : expertise collective 2008.

Benhamou, S.

Susceptibilité génétique au cancer du poumon et aux cancers des voies aérodigestives supérieures. 2010. *Pathologie Biologie* - Vol. 58 - N° 6 - p. e87-e89

Berrettini, W, Yuan X, Tozzi F, Song K, Francks C, Chilcoat H, et al.

α -5/ α -3 nicotinic receptor subunit alleles increase risk for heavy smoking. *Molecular Psychiatry* 2008, 13(4), 368–373.

Bierut, L. J, Stitzel J. A, Wang J. C, Hinrichs A. L, Grucza R. A, Xuei X, et al.

Variants in nicotinic receptors and risk for nicotine dependence. *The American Journal of Psychiatry*, 2008, 165(9), 1163–1171.

Board, Philip G., Deepthi Menon.

Glutathione transferases, regulators of cellular metabolism and physiology. *Biochimica et Biophysica Acta* 1830.2013./*+ 3267–3288.

Boundedjar, Adda, Radjâa Benkali, Louisa Badoui, Mohamed Abada, et al.

Incidence of Lung Cancer in Males and Females in Algeria: The Lung Cancer Registry in Algeria (LuCaReAl). *Cancer Epidemiology* 2020. 69 (décembre): 101799.

Bossé, Yohan, Christopher I Amos.

A Decade of GWAS Results in Lung Cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2018 Apr;27(4):363-379.

Bunz, Fred.

Principles of Cancer Genetics. 2^e éd 2016. Springer Netherlands.

Bylicki, O., F. Rivière, H. Lefloch, W. Gaspard, et J. Margery.

Les formes familiales de cancers bronchiques. *Revue des Maladies Respiratoires Actualités*, Cours du Groupe d'Oncologie thoracique de Langue Française, GOLF. 2017. 9 (2): 89-93.

Cagle, Philip, Timothy Craig Allen, Mary Beth Beasley, Lucian R. Chirieac, et al. *Precision Molecular Pathology of Lung Cancer.* 2^e éd. Molecular Pathology Library éd. 2018. Springer International Publishing.

Cazin, J. -L., et E. Dansin.

Chapitre17 - Cancers bronchiques. In *Pharmacie Clinique Pratique en Oncologie*, 2016.127-134.

Chen, Chang-Hwei.

Xenobiotic Metabolic Enzymes: Bioactivation and Antioxidant Defense. Springer International Publishing. 2020.

Cheng, Ting-Yuan David, Susanna M. Cramb, Peter D. Baade, Youlden et al.

The International Epidemiology of Lung Cancer: Latest Trends, Disparities, and Tumor Characteristics. *Journal of Thoracic Oncology* 2016. 11 (10): 1653-71.

Couraud, Sébastien.

Cancer bronchique non à petites cellules. *Référentiels Auvergne Rhône-Alpes en oncologie thoracique* 2019.

Deben, Christophe, Vanessa Deschoolmeester, Filip Lardon, Christian Rolfo, et al.

TP53 and MDM2 Genetic Alterations in Non-Small Cell Lung Cancer: Evaluating Their Prognostic and Predictive Value. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 2016. 99 (mars): 63-73.

Ducassou, Lionel.

Etude biochimique d'un cytochrome P450 de cerveau humain : le CYP2U1. These de doctorat, Paris 5. 2012.

Elfaki, Imadeldin, Rashid Mir, Fahad M Almutairi, Faisel M Abu Duhier.

Cytochrome P450: Polymorphisms and Roles in Cancer, Diabetes and Atherosclerosis. *Asian Pac J Cancer Prev*, 19 (8), 2057-2070.

Galijatovic, Beaton, Nguyen, Chen, Bonzo, Johnson, Maeda, Karin, et al. The human CYP1A1 gene is regulated in a developmental and tissue-specific fashion in transgenic mice. *J Biol Chem.* 2004 Jun 4;279(23):23969-76.

Garfinkel, D.

Isolation and properties of cytochrome b5 from pig liver. *Arch Biochem Biophys* .1957 Sep;71(1):111-20.

Gilardi, Gianfranco, et Giovanna Di Nardo.

Heme Iron Centers in Cytochrome P450: Structure and Catalytic Activity. *Rendiconti Lincei* 2017. 28 (1): 159-67.

Girdhar, Yashila, Navneet Singh, Digambar Behera, et Siddharth Sharma.

Combinations of the Variant Genotypes of CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 Are Associated with an Increased Lung Cancer Risk in North Indian Population: A Case-Control Study. *Pathology Oncology Research: POR* 2016. 22 (3): 647-52.

Gueguen, Yann, K Mouzat, Luc Ferrari, E Tissandie, Jean-Marc Lobaccaro, et al.

Les cytochromes P450 : métabolisme des xénobiotiques, régulation et rôle en clinique. *Annales de biologie clinique* 2006. 64 (novembre).

Guibert, N., J. D. Milia, et J. Mazieres.

Épidémiologie moléculaire du cancer bronchique . *Revue des Maladies Respiratoires* 2016. 33 (8): 675-81.

Hallouët, Pascal.

Le système respiratoire. In *Mémo-guide infirmier*, 74-79. Elsevier. Hamdi-Cherif, M., E. Bidoli, S. Birri, A. Mahnane, S. Laouamri, Z. Zaidi, H. Boukharouba, et al. 2014. Le cancer à Sétif, Algérie, 1986–2010. *Journal Africain du Cancer / African Journal of Cancer* 2010. 6 (3): 166-73.

Hamdi-Cherif, M, E. Bidoli, S. Birri, A. Mahnane, S. Laouamri, Z. Zaidi et al.

Le cancer à Sétif, Algérie, 1986–2010. *Journal Africain du Cancer / African Journal of Cancer.* 2014. volume 6, pages166–173.

Hamdi Cherif, M, Bouharati K, Kara L, Rouabah H, Hammouda D, Fouatih Z.

Les cancers en Algérie Données Épidémiologiques du Réseau National des Registres du Cancer Année. 2015.

Hamdi Cherif, L. Kara, S. Atoui, F. Boudefar, et al.

Epidemiological data on cancer in eastern and south-eastern Algeria, 2014-2017. *Algerian Journal Of Health Sciences*.vol. 2 supplément 1 (2020) S13-S30).

Hashimoto, Naozumi, Mitsuo Sato, et Yoshinori Hasegawa.

Pulmonary Malignancies (1): Lung Cancer—What Are the Roles of Genetic Factors in Lung Cancer Pathogenesis? In *Clinical Relevance of Genetic Factors in Pulmonary Diseases*, 2018. 193-206.

He, Qingfang, Lixin Wang, Jie Zhang, Feng Lu, Weiwei Gong, Jin Pan, et al.

CYP2E1 and GSTM1 Gene Polymorphisms, Environmental Factors, and the Susceptibility to Lung Cancer. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 2018. 32 (6): e22403.

Hiromasa, Yamamoto, Yasushi Yatabe, Shinichi Toyooka.

Inherited lung cancer syndromes targeting never smokers. *Transl Lung Cancer Res* 2018;7(4):498-504.

Honma, Helen Naemi, Eduardo Mello De Capitani, de Souza Barbeiro, et al.

Polymorphism of the CYP1A1*2A Gene and Susceptibility to Lung Cancer in a Brazilian Population. *Jornal Brasileiro De Pneumologia: Publicacao Oficial Da Sociedade Brasileira De Pneumologia E Tisiologia* 2009. 35 (8): 767-72.

Houlston, R. S.

CYP1A1 Polymorphisms and Lung Cancer Risk: A Meta-Analysis. *Pharmacogenetics* 2000. 10 (2): 105-14.

Huang, Chong-Ya, Xiao-Jie Xun, A.-Jing Wang, Ya Gao, Jing-Yuan Ma, et al.

CHRNA5 Polymorphisms and Risk of Lung Cancer in Chinese Han Smokers. *American Journal of Cancer Research* 2015.5 (10): 3241-48.

Huang, Feng-mao, Han-chun Chen, Md Asaduzzaman Khan, Fu-lan Yang, et al. CYP2A6, CYP1A1, and CYP2D6 Polymorphisms in Lung Cancer Patients from Central South China. *Medical Oncology (Northwood, London, England)* 2013. 30 (2): 521.

Hussein, Atef G., Heba F. Pasha, Hanan M. El-Shahat, Doaa M. Gad, et al.

CYP1A1 Gene Polymorphisms and Smoking Status as Modifier Factors for Lung Cancer Risk. *Gene* 2014.541 (1): 26-30.

Islam, Mohammad Safiqul, Maizbha Uddin Ahmed, M Bin Sayeed, et al.

Lung Cancer Risk in Relation to Nicotinic Acetylcholine Receptor, CYP2A6 and CYP1A1 Genotypes in the Bangladeshi Population. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry* 2013. 416 (février): 11-19.

Jancova, Petra, Pavel Anzenbacher, et Eva Anzenbacherova.

Phase II Drug Metabolizing Enzymes. *Biomedical Papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czechoslovakia* 2010.154 (2): 103-16.

Ji, Ya-nan, Qin Wang, Xin-qing Lin, et Li-jun Suo.

CYP1A1 MspI Polymorphisms and Lung Cancer Risk: An Updated Meta-Analysis Involving 20,209 Subjects. *Cytokine* 2012.59 (2): 324-34.

Jin, Yongtang, Chenye Zhang, Heyun Xu, Shaoli Xue, Yasong Wang, et al.

Combined Effects of Serum Trace Metals and Polymorphisms of CYP1A1 or GSTM1 on Non-Small Cell Lung Cancer: A Hospital Based Case-Control Study in China. *Cancer Epidemiology* 2011.35 (2): 182-87.

Jindal, Aditya, et Navneet Singh.

Oxidative Stress and Lung Cancer. In *Studies on Respiratory Disorders* 2014.245-57.

Kiyohara, Chikako, Kouichi Yoshimasu, Koichi Takayama, et Yoichi Nakanishi.

EPHX1 Polymorphisms and the Risk of Lung Cancer: A HuGE Review. *Epidemiology (Cambridge, Mass.)* 2006. 17 (1): 89-99.

Klingenberg, Martin

Pigments of rat liver microsomes. *Archives of Biochemistry and Biophysics* Volume 75, Issue 2, June 1958, Pages 376-386.

Koeller, Diane R., Ruthia Chen, et Geoffrey R. Oxnard.

Hereditary Lung Cancer Risk: Recent Discoveries and Implications for Genetic Counseling and Testing. *Current Genetic Medicine Reports* 2018. 6 (2): 83-88.

Larsen, Jill E., et John D. Minna.

Molecular Biology of Lung Cancer: Clinical Implications. *Clinics in Chest Medicine, Lung Cancer*, 2011.32 (4): 703-40.

Larzul, D.

La PCR : principes et applications. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée* 1989. 4 (4): 19-IN6.

Leclerc, Julie, Gilles Tournel, Elisabeth Courcot-Ngoubo Ngangue, et al.

Profiling Gene Expression of Whole Cytochrome P450 Superfamily in Human Bronchial and Peripheral Lung Tissues: Differential Expression in Non-Small Cell Lung Cancers. *Biochimie* 2010. 92 (3): 292-306.

Lester, Robin A.J.

Nicotinic Receptors. Vol. 26. The Receptors. New York, NY: Springer New York. 2014.

M Lodovici, V Akpan, C Evangelisti, P Dolara.

Sidestream tobacco smoke as the main predictor of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *J Appl Toxicol*. Jul-Aug 2004;24(4):277-81.

López-Cima, M. Felicitas, Sara M. Alvarez-Avellón, Teresa Pascual, et al.

Genetic Polymorphisms in CYP1A1, GSTM1, GSTP1 and GSTT1 Metabolic Genes and Risk of Lung Cancer in Asturias. *BMC Cancer* 2012.12 (septembre): 433.

Madelaine, J., et G. Zalcman.

Biologie des cancers bronchiques. *EMC - Pneumologie*2005. 2 (1): 9-31.

Marija Pljesa-Ercegovac.

Atlas de génétique et cytogénétique en oncologie et hématologie. 2014.

Mark D. Namba, Gregory L. Powell, Armani P. Del Franco, Julianna G. Goenaga, et al.

Brain Gene Expression in the Context of Nicotine Rewards: A Focus on Cholinergic Genes. *Neuroscience of Nicotine* 2019.

Masood, Nosheen, Baseerat Taseer, et Azra Yasmin.

Association of GSTM1 and GSTT1 Deletion with Lung Cancer Development in Pakistani Population. *Journal of Cancer Research and Therapeutics* 2016. 12 (2): 731-34.

Masson, L. F., L. Sharp, S. C. Cotton, and J. Little

Cytochrome P-450 1A1 Gene Polymorphisms and Risk of Breast Cancer: A HuGE Review. *Am J Epidemiol* 2005;161:901–915

Medjber, Kahina. Etude de l'implication des récepteurs nicotiniques à l'acétylcholine dans le développement des cancers pulmonaires non à petites cellules. Université de REIMS CHAMPAGNE-ARDENNE U.F.R. de Médecine. 2012.

Mehta, Aditi, Stephanie Dobersch, Addi J. Romero-Olmedo, et Guillermo Barreto. Epigenetics in Lung Cancer Diagnosis and Therapy. *Cancer Metastasis Reviews* 2015. 34 (2): 229-41.

Meyerholz, David K., Carlos J. Suarez, Suzanne M. Dintzis, et Charles W. Frevert. 9 - Respiratory System. In *Comparative Anatomy and Histology (Second Edition)*, 2018. 147-62.

Miller, Ross A., et Philip T. Cagle. Lung Cancer Epidemiology and Demographics. In *Precision Molecular Pathology of Lung Cancer*, 2018. 15-17.

Mimouni, Asma, Etienne Rouleau, Patrick Saulnier, Amina Marouani, Med Abdelali, et al. Association of TERT, OGG1, and CHRNA5 Polymorphisms and the Predisposition to Lung Cancer in Eastern Algeria. *Pulmonary Medicine* Volume 2020.

Mota, Paula, David Silva Moura, Maria Graça Vale, Henriqueta Coimbra, et al. CYP1A1 M1 and M2 Polymorphisms: Genetic Susceptibility to Lung Cancer. *Revista Portuguesa De Pneumologia* 2010.16 (1): 89-98.

Mountzios, Giannis, Meletios-Athanassios Dimopoulos, Jean-Charles Soria, et al. Histopathologic and Genetic Alterations as Predictors of Response to Treatment and Survival in Lung Cancer: A Review of Published Data. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 2010. 75 (2): 94-109.

Munnia, Armelle, Roger W. Giese, Simone Polvani, Andrea Galli, et al. Chapter Six - Bulky DNA Adducts, Tobacco Smoking, Genetic Susceptibility, and Lung Cancer Risk. In *Advances in Clinical Chemistry*, édité par Gregory S. Makowski, 2017. 81:231-77. Elsevier.

Munoz, Balam, et Arnulfo Albores. DNA Damage Caused by Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Mechanisms and Markers. In *Selected Topics in DNA Repair*, édité par Clark Chen. InTech. 2011.

Nana-Sinkam, Serge Patrick, et Charles A. Powell. Molecular Biology of Lung Cancer: Diagnosis and Management of Lung Cancer, 3rd Ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest* 2013.143 (5, Supplement): e30S-e39S.

Nelson, David R. 2009. The Cytochrome P450 Homepage. *Human Genomics* 4 (1): 59.

Novello, Silvia, Laura P. Stabile, et Jill M. Siegfried. 5 - Gender-Related Differences in Lung Cancer. In *IASLC Thoracic Oncology (Second Edition)* 2018.

Omura, T, Sato R. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. Evidence for its hemoprotein nature. *J Biol Chem* . 1964 Jul;239:2370-8.

Palrasu, Manikandan, et Siddavaram Nagini. Cytochrome P450 Structure, Function and Clinical Significance: A Review. *Current Drug Targets*, 2018,19, 38-54.

Prosper, Pascalita.

Etude cristallographique de glutathion transférases de micro-organismes impliqués dans la dégradation de la lignine : le basidiomycète *Phanerochaete chrysosporium* et la bactérie *Sphingobium* sp. SYK-6. *Université de Lorraine*, 2013.

Peddireddy, Vidyullatha, Siva Prasad Badabagni, Sandhya Devi Gundimeda, et al.

Association of CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 Gene Polymorphisms with Risk of Non-Small Cell Lung Cancer in Andhra Pradesh Region of South India. *European Journal of Medical Research* 2016. 21 (avril): 17.

Pérez-Morales, Rebeca, Alberto González-Zamora, González-Delgado, et al.

CHRNA3 Rs1051730 and CHRNA5 Rs16969968 Polymorphisms Are Associated with Heavy Smoking, Lung Cancer, and Chronic Obstructive Pulmonary Disease in a Mexican Population. *Annals of Human Genetics* 2018. 82 (6): 415-24.

Quiñones, L., D. Lucas, J. Godoy, D. Cáceres, F. Berthou, N. Varela, K. Lee, et al. CYP1A1, CYP2E1 and GSTM1 Genetic Polymorphisms. The Effect of Single and Combined Genotypes on Lung Cancer Susceptibility in Chilean People . *Cancer Letters* 2001. 174 (1): 35-44.

Quoix, E., et E. Lemarié.

Épidémiologie du cancer bronchique primitif : aspects classiques et nouveautés. *Revue des Maladies Respiratoires* 2011. 28 (8): 1048-58.

Ritambhara, null, Sonia Tiwari, Sivakumar Vijayaraghavalu, et Munish Kumar.

Genetic Polymorphisms of Xenobiotic Metabolizing Genes (GSTM1, GSTT1, GSTP1), Gene-Gene Interaction with Association to Lung Cancer Risk in North India; A Case Control Study. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP* 2019. 0 (9): 2707-14.

Sakoda, Lori C., Melissa M. Loomis, Jennifer A. Doherty, Marian L. Neuhaus, et al.

Chromosome 15q24-25.1 Variants, Diet, and Lung Cancer Susceptibility in Cigarette Smokers. *Cancer Causes & Control* 2011. 22 (3): 449-61.

Salehi-Rad, Ramin, Rui Li, Manash K. Paul, Steven M. Dubinett, et Bin Liu.

The Biology of Lung Cancer: Development of More Effective Methods for Prevention, Diagnosis, and Treatment. *Clinics in Chest Medicine, Lung Cancer: Part I*, 2020. 41 (1): 25-38.

San Jose, Carmen, Agustin Cabanillas, Julio Benitez, Juan Antonio Carrillo, et al.

CYP1A1 Gene Polymorphisms Increase Lung Cancer Risk in a High-Incidence Region of Spain: A Case Control Study. *BMC Cancer* 2010. 10 (août): 463.

Schabath, Matthew B., et Michele L.

Cote. Cancer Progress and Priorities: Lung Cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: A Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology* 2019. 28 (10): 1563-79.

Schneider, Joachim, Ulrike Bernges, Monika Philipp, et Hans-Joachim Weitowitz.

GSTM1, GSTT1, and GSTP1 Polymorphism and Lung Cancer Risk in Relation to Tobacco Smoking. *Cancer Letters* 2004. 208 (1): 65-74.

Scofield, Michael D., et Paul D. Gardner.

Molecular Underpinnings of Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptor Expression. In *Nicotinic Receptors*, édité par Robin A.J. Lester, 2014. 39-60. The Receptors. New York, NY: Springer.

Shaffi, Sheikh M., Mohd Amin Shah, Imtiyaz Ahmad Bhat, Parvaiz Koul, et al.

CYP1A1 Polymorphisms and Risk of Lung Cancer in the Ethnic Kashmiri Population. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP* 2009. 10 (4): 651-56.

Sharma, Neha, Amrita Singh, Navneet Singh, Digamber Behera, et Siddharth Sharma.

Genetic Polymorphisms in GSTM1, GSTT1 and GSTP1 Genes and Risk of Lung Cancer in a North Indian Population. *Cancer Epidemiology* 2015.39 (6): 947-55.

Sobti, R. C., S. Sharma, A. Joshi, S. K. Jindal, et A. Janmeja.

CYP1A1 and CYP2D6 Polymorphism and Risk of Lung Cancer in a North Indian Population. *Biomarkers: Biochemical Indicators of Exposure, Response, and Susceptibility to Chemicals* 2003. 8 (5): 415-28.

Solenn, Brosseau, Johan Pluvy, Ghassen Soussi, Gérard Zalcmann, Valérie Gounant.

Cancer du poumon du non fumeur. *La revue du praticien* 2020;70(8);851.

Song, N., W. Tan, D. Xing, et D. Lin.

CYP 1A1 Polymorphism and Risk of Lung Cancer in Relation to Tobacco Smoking: A Case-Control Study in China. *Carcinogenesis* 2001. 22 (1): 11-16.

Sreelekha, T. T., K. Ramadas, M. Pandey, G. Thomas, K. R. Nalinakumari, et al.

Genetic Polymorphism of CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 Genes in Indian Oral Cancer. *Oral Oncology* 2001. 37 (7): 593-98.

Stabile, Laura P., et Timothy F. Burns.

Sex-Specific Differences in Lung Cancer. In *Gender, Sex Hormones and Respiratory Disease: A Comprehensive Guide* 2016. 147-71.

Steiling, Katrina, et Joshua D. Campbell.

Genetics of Lung Cancer. In *Precision in Pulmonary, Critical Care, and Sleep Medicine: A Clinical and Research Guide* 2020. 87-103.

Suster, David Ilan, et Mari Mino-Kenudson.

Molecular Pathology of Primary Non-Small Cell Lung Cancer. *Archives of Medical Research*, août. 2020.

Tarantini, A.

Modulation de la génotoxicité des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) en mélanges. Sciences du Vivant [q-bio]. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 2009.

Terlizzi, Michela, Chiara Colarusso, Aldo Pinto, et Rosalinda Sorrentino.

Drug Resistance in Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC): Impact of Genetic and Non-Genetic Alterations on Therapeutic Regimen and Responsiveness. *Pharmacology & Therapeutics* 2019. 202 (octobre): 140-48.

Teixeira, Viviane, Loiola d'Alencar, Maria Nirvana Formiga, Vladmir Cláudio Cordeiro

Inherited lung cancer: *a review* *cancer* 2020, 14:1008

Trédaniel, J.

Évolution épidémiologique du cancer du poumon en France et dans le monde. *Revue des Maladies Respiratoires Actualités*, Cours du Groupe d'Oncologie thoracique de Langue Française GOLF 2018, 10 (3): 182-85.

Urban, T., J. Hureaux, G. Justeau, et G. de Chabot.

Facteurs de risque des cancers bronchiques: tabac, exposition professionnelle et environnementale. 2018.

Wang, Junjun, Qingyun Liu, Shuai Yuan, Weijia Xie, Yuan Liu, Ying Xiang, et al. Genetic Predisposition to Lung Cancer: Comprehensive Literature Integration, Meta-Analysis, and Multiple Evidence Assessment of Candidate-Gene Association Studies. *Scientific Reports* 2017.7 (1): 8371.

Weinberger, Steven E., Barbara A. Cockrill, et Jess Mandel.

20 - Lung Cancer: Etiologic and Pathologic Aspects. In *Principles of Pulmonary Medicine (Seventh Edition)*, 2019.259-69.

Wistuba, Ignacio I., et Adi F. Gazdar.

Pathology of Lung Cancer. In *Tumors of the Chest: Biology, Diagnosis and Management*, 2006.93-105.

Wright, C. M., J. E. Larsen, M. L. Colosimo, J. J. Barr, L. Chen, R. E. McLachlan, et al.

Genetic Association Study of CYP1A1 Polymorphisms Identifies Risk Haplotypes in Nonsmall Cell Lung Cancer. *The European Respiratory Journal* 2010.35 (1): 152-59.

Wu, Jingjing, Xiaoqing Guan, Ziru Dai, Rongjing He, Xinxin Ding, et al.

Molecular Probes for Human Cytochrome P450 Enzymes: Recent Progress and Future Perspectives. *Coordination Chemistry Reviews* 2021.427 (janvier): 213600.

Xin, Wang, Kai Yue, and Li-Ran Hao.

CYP1A1 MspI polymorphism and susceptibility to lung cancer in the Chinese population: an updated meta-analysis and review. *Int J Clin Exp Med*. 2015 Aug 15;8(8):11905-12

Xu, X., K. T. Kelsey, J. K. Wiencke, J. C. Wain, et D. C. Christiani.

Cytochrome P450 CYP1A1 MspI Polymorphism and Lung Cancer Susceptibility. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: A Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology* 1996. 5 (9): 687-92.

Xu, Zhi-Wei, Guan-Nan Wang, Zhou-Zhou Dong, Tao-Hong Li, Chao Cao, et Yu-Hong Jin.

CHRNA5 Rs16969968 Polymorphism Association with Risk of Lung Cancer--Evidence from 17,962 Lung Cancer Cases and 77,216 Control Subjects. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP* 16 2015. (15): 6685-90.

Yamazaki, Hiroshi.

Fifty Years of Cytochrome P450 Research. Springer Japan. 2014.

Yang, Mihi, Yunhee Choi, Bin Hwangbo, et Jin Soo Lee.

Combined Effects of Genetic Polymorphisms in Six Selected Genes on Lung Cancer Susceptibility. *Lung Cancer (Amsterdam, Netherlands)* 2007.57 (2): 135-42.

Yoon, Kyong-Ah, Jin Hee Kim, Hyea-Jin Gil, Hyukkee Hwang, Bin Hwangbo, et al. CYP1B1, CYP1A1, MPO, and GSTP1 Polymorphisms and Lung Cancer Risk in Never-Smoking Korean Women. *Lung Cancer (Amsterdam, Netherlands)* 2008. 60 (1): 40-46.

Zhang, Jing, Jia-Xian Ou Chun-Xue BAI.

Tobacco smoking in China: Prevalence, disease burden, challenges and future strategies. *Respirology* (2011) 16, 1165–1172.

Zheng, Xiangpeng, Ming Li, et Guozhen Zhang.

Early-Stage Lung Cancer: Screening and Management. Springer Singapore. 2018.

Zito, Marino, Federica, Roberto Bianco, Marina Accardo, Andrea Ronchi, et al.

Molecular Heterogeneity in Lung Cancer: From Mechanisms of Origin to Clinical Implications. *International Journal of Medical Sciences* 2019.16 (7): 981-89.

Webographie

<https://www.ozyme.fr>

<http://atlasgeneticsoncology.org>

<http://gco.iarc.fr>

https://www.pharmvar.org/gene/index_original

<https://www.euro.who.int/>

<http://drnelson.uthsc.edu/CytochromeP450.html>

www.ipubli.inserm.fr/bitstream/handle/10608/102/Chapitre_3.html

www.ipubli.inserm.fr

ANNEXES

Annexe 01

Publications

Asian Jr. of Microbiol. Biotech. Env. Sc. Vol. 22 (4) : 2020 : 662-669
© Global Science Publications
ISSN-0972-3005

SEARCH FOR A POSSIBLE ASSOCIATION BETWEEN THE GENETIC POLYMORPHISM CYP1A1 MSPI, AND LUNG CANCER IN AN ALGERIAN POPULATION

IBTISSEM MOUNA BOUDOKHANE¹, MOHAMED EL-HADEF EL-OKKI², AMARIA AOUAR³, SOUMIA MEDJANI¹, OUARDA SEMMAME¹, TAHA FILALI⁴, ASMA MIMOUNI¹, KARIMA SIFI⁵, NOUREDDINE ABADI⁵ AND DALILA SATTI¹

¹ Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Université Frères Mentouri Constantine 1, Constantine 25000, Algérie

² Institut de la nutrition, de l'alimentation et des technologies agro-alimentaires, Université Frères Mentouri Constantine 1 Algérie

³ Laboratoire de valorisation des actions de l'Homme pour la protection de l'environnement et application en santé publique. Université Abou Bakr Belkaïd Tlemcen

⁴ Service d'oncologie CHU Constantine, Faculté de Médecine Université Constantine 2, Constantine 25000, Algérie

⁵ Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Université Frères Mentouri Constantine 2, Algérie
& Corresponding author: Ibtissem Mouna Boudokhane. Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire, (Received 15 September, 2020; accepted 10 October, 2020)

Key words : Lung cancer, CYP1A1, Polymorphism, Tobacco smoking

Abstract – It is widely known that lung carcinoma is an environment-related sickness that develops as a consequence of exposure to mutagenic sellers, especially those present in tobacco. The CYP1A1 gene codifies the phase I enzyme aryl hydrocarbon hydroxylase (AHH) belonging to the cytochrome P450 machine that plays a pivotal role in the bio-activation of tobacco procarcinogens. Greater enzymatic activity is associated with the CYP1A1 m1 polymorphism (T6235C transition) and has been described as a genetic susceptibility factor for lung cancer. This case-control study was carried out to verify if this association holds in a study population of 80 lung cancer patients and 85 controls from Eastern Algeria. Genetic polymorphisms were determined by Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) assay. The frequencies of the genotypes CYP1A1 m1 in both groups were investigated to get odds ratios and 95 % confidence intervals. The TC Genotype and C allele were significantly higher in patients compared to healthy controls with [OR = 0.547 (0.235- 1.241), p = 0.130], and [OR = 0.536 (0.245 - 1.135), p = 0.083] respectively. However, these two factors were not found to be significantly associated with the risk of lung cancer. After stratification of the population according to tobacco consumption, non-smokers were at higher risk compared with smokers [OR = 0.086 (0.007 - 0.550), p = 0.003]. Our findings support the conclusion that CYP1A1m1 polymorphism does not seem to be associated with susceptibility to lung cancer in Eastern Algeria.

INTRODUCTION

Lung cancer is a common malignant tumor that is characterized by high morbidity, poor prognosis and is a leading cause of death in both men and women (Cabral *et al.*, 2010), with over one million deaths worldwide annually (Ren *et al.*, 2013).

In Algeria 2856 cases of new lung cancer were diagnosed in men (Hamdi-Cherif *et al.*, 2014); The evidence that *tobacco smoking* causes *lung cancer* is

unequivocal, although only a small percentage of smokers during their lifetime develop the malignant disease (Ren *et al.*, 2013). Inherited genetic predisposition to disease has become a subject of intense research (Ren *et al.*, 2013), and studies suggest that an individual's genetic background affects the risk of developing lung cancer. Possible cancer susceptibility genes have been studied among oncogenes, tumor suppressor genes, DNA repair genes, and genes encoding phase I and phase II

enzymes.

Environmental Chemical Pollutants (ECPs) are increasingly present in our living environment as a result of the development of the modern industry and urbanization. Many ECPs are widely spread and difficult to be degraded in the environment. Among the ECPs polycyclic aromatic hydrocarbons are the most studied pollutants, and have been found in cigarette smoke and polluted indoor and outdoor air, and shown to be associated with the risk of many diseases including cancer (Shi *et al.*, 2008). Most of these products are hydrophobic and the host organism needs the P450 enzyme battery to eliminate them (Jacquet *et al.*, 1996). Both biological and biochemical evidence indicates that genetic polymorphisms of CYP1A1 can influence the balance between metabolic activation and detoxication of some toxicants, such as benzo(a)pyrene (Shi *et al.*, 2008).

CYP1A1 gene is located in chromosome 15q22-q24 and in addition to the lung, it is also expressed in the liver, gastrointestinal tract, brain, lymphocytes, and macrophages. The m1 polymorphism, involving a *MspI* restriction site, is a T6235C transition in the 3'-noncoding region of the gene, 250 bp downstream from the polyadenylation site (Mota *et al.*, 2010). Expression of the CYP1A1 gene is upregulated by certain foreign chemicals, including PAHs, but the extent to which PAHs induce CYP1A1 varies considerably in human populations, this may explain the variability of the genetic predisposition to this kind of epithelial cancer. As first discovered in human lymphocytes, some individuals display very high inducibility. Kellerman and colleagues have shown that this phenotype is more frequent in lung cancer patients than in healthy individuals (Kellermann *et al.*, 1973).

Elevated CYP1A1 inducibility is associated with pulmonary PAH-related DNA adduction and high lung cancer risk. Both CYP1A1 expression and the formation of these PAH-DNA adducts in human lung tissue are highly variable, possibly due to different exposure to environmental factors and genetic polymorphisms affecting the *CYP1A1* gene locus (Ezzeldin *et al.*, 2017). It is important to mention that our population, to the best of our knowledge, has not been the object of any molecular study concerning this polymorphism for lung cancer till now.

This case-control study was performed to confirm or invalidate the hypothesis that there is a correlation between the presence of CYP1A1 m1

allele and lung cancer risk.

METHODS

Study population

This case-control study consisted of 80 patients with lung cancer and 85 cancer-free controls. The cases with histologically confirmed primary lung cancer were recruited from 2013 to 2016 in the governmental University Hospital Benbadis Constantine CHUC. They came from ten territorial units in Eastern Algeria, healthy controls were enrolled from the general population of the same geographical region.

Ethic statement

Written informed consent was obtained from all the subjects of the study. A standard questionnaire was used to document the socio-demographical characteristics, lifestyle, occupational exposure, smoking, histological subtype.

Molecular analysis

Blood collection and DNA extraction

Five to eight milliliters of whole blood was collected in vacutainers containing ethylenediamine tetra acetic acid (EDTA) for DNA extraction using a standard protocol of salt extraction procedure.

CYP1A1 m1 genotyping

Genotyping for the CYP1A1 m1 gene (rs4646903) was carried out using Polymerase Chain Reaction (PCR) based restriction fragment length polymorphism (RFLP). The primer sequences were primer forward 5' - TAG GAG TCT TGT CTC ATG CCT - 3', and primer reverse 5' - CAG TGA AGA GGT GTA GCC GCT - 3'. The PCR amplification was carried out in 50 µL reaction mixture containing 1 µL of DNA, 1X reaction buffer, 1.5 mM of MgCl₂, 200 µM of dNTPs, 0.2 µM of each primer, and 1 U *Taq* DNA polymerase. The samples were amplified using thermal cycle with an initial denaturation at 94 °C for 5 minutes followed by 30 cycles with denaturation at 94 °C for 30 seconds, annealing at 62 °C for 60 seconds and primer extension at 72 °C for 60 seconds, followed by a final extension step at 72 °C for 5 minutes.

Statistical analyses

The data were analyzed using the SPSS 26.0 program. Logistic regression analyses were done to

investigate the association of the independent variables. The results were considered to be significant at p values less than 0.05. Odds ratios and 95 % confidence interval were calculated to assess the relationship between CYP1A1 m1 and the risk of lung cancer.

RESULTS

General characteristic features of the study population

The general characteristic features of lung cancer patients (n = 80) and healthy controls (n=85) included in this study are given in Table 1. In the present study, there were 80 cases of lung cancer in the patient group (55 cases of lung adenocarcinoma, 22 cases of lung squamous cell carcinoma, 2 cases of small cell lung cancer, and 1 case of large cell lung cancer). The patient group comprised 68 males and 12 females with a mean age of 58.74 years; the control group comprised 85 healthy adults recruited over the same period as the patients; there were 80 males and 5 females with a mean age of 60.50 years. Lung cancer was predominant among men. There was no significant difference between the groups in terms of age and gender ($p > 0.05$).

Molecular analysis of CYP1A1 m1

The PCR products were analyzed in a 1 % agarose gel with BET and visualized using a UV transilluminator. For RFLP assay, digestion was carried out overnight at 37 °C, in a total volume of 15 µL of PCR product and 1U *MspI*. In the presence

of the 6235 C polymorphism, the enzyme *MspI* digested the 340 bp PCR product in two bands of 200 bp and 140 bp. The wild type 6235C form corresponds to the absence of the restriction site (Figure 1)

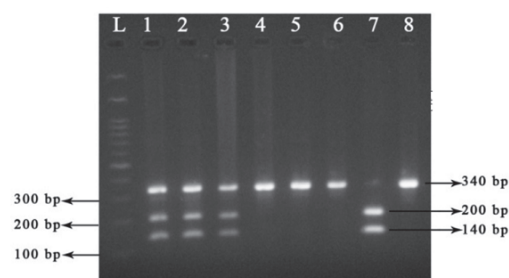


Fig. 1. Agarose gel electrophoresis of PR-RFLP patterns of CYP1A1 m1

Statistical analyses

All data were analyzed using the SPSS 26.0 program. Odds ratios with the corresponding confidence interval (95 % CI) were calculated to assess the relationship between CYP1A1 m1 and the risk of lung cancer. ORs are also performed to determine the risk of lung cancer associated with CYP1A1 m1 stratified with smoking status. The univariate logistic regression analysis was performed to assess associations with age, gender, smoking, and CYP1A1 m1 polymorphisms between the cases and controls. The results were considered to be significant at p values less than 0.05. Univariate logistic regression

Table 1. General characteristics of the study population

Variables	Patients n=80 (%)	Controls n=85 (%)	p value
Gender			
Male	68 (85)	80 (94.1)	0.054
Female	12 (15)	5 (5.9)	
Age			
<60 years	18 (22.5)	10 (11.8)	0.066
≥ 60 years	62 (77.5)	75 (88.2)	
Histology			
Adenocarcinoma	55 (68.8)		
Squamous cell Carcinoma	22 (27.5)		
SCLC	2 (2.5)		
Others	1 (1.3)		
Smoking			
Smokers	66 (82.5)	51 (60)	0.001*
Non smokers	14 (17.5)	34 (40)	

* $p < 0.05$ SCLC : Small Cell Lung Cancer

Logistic regression analysis was performed by taking some risk factors like age, gender, smoking status, and CYP1A1 m1 polymorphism. We observed that smoking and CYP1A1 m1 polymorphism were the strongest predicting factors; other variables did not have any impact as reflected by a lack of significance (Table 2).

Genotyping distribution of CYP1A1 m1

The homozygous major TT, heterozygous TC, and homozygous minor CC genotype frequencies of the CYP1A1 m1 gene in healthy controls were 71 %, 14%, and 0% respectively, whereas the same in patients were 58 %, 21%, and 1.25 % respectively (Table 3). The TC Genotype was not significantly different between patients and controls groups [OR = 0.547 (0.235-1.241), p = 0.130]. The C allele was also not significantly higher in patients compared to

healthy controls [OR = 0.536 (0.245-1.135), p = 0.083].

Risk of lung cancer associated with CYP1A1 m1 stratified by smoking exposure

Patients who were non-smokers and having a CYP1A1 m1 TC were significantly higher risk compared to the controls [OR= 0.086 (0.007-0.550), p=0.003] while patients who were smokers and having TC genotype were not at risk compared to the control group [OR= 1.076 (0.404-2.835), p=0.99]. The C allele also presented the same situation (with a significant difference among non-smokers and no difference among smokers) (Table 4).

Histology

The predominant genotypes for every pathological subtype are indicated in Table 5.

Table 2. Logistic regression for different variables in lung cancer

Variables	OR	(95 % CI)	p value
Age	0.891	0.483 to 1.643	0.712
Sex	0.354	0.119 to 1.056	0.063
Smoking	3.596	1.694 to 7.636	<0.001***
CYP1A1 m1	2.121	1.021 to 4.406	0.044*

* p<0,05; ** p < 0.01; *** p < 0.001

Table 3. Genotype and allelic distribution of the CYP1A1 m1 gene polymorphisms in lung cancer patients and healthy controls

Genotype	Patients (n = 80)	Controls (n=85)	OR	(95 % CI)	p value
TT	58 (72.5%)	71 (83.52%)	Ref.		
TC	21 (26.25 %)	14 (16.47%)	0.547	0.235 to 1.241	0.130
CC	1 (1.25 %)	0 (0 %)	-	-	0.454
Allele T	137 (85.62)	156 (91.76)	Ref		
Allele C	23 (14.38)	14 (8.24)	0.536	0.245 to 1.135	0.083

OR = Odds Ratio; CI = Confidence Interval.

Table 4. Risk of lung cancer associated with CYP1A1 m1 stratified with smoking status

	CYP1A1 m1	Cases/controls	OR	(95 % CI)	p value
Smokers	TT	49/39	Ref		
	TC	14/12	1,076	0.404 to 2.835	0.999
	CC	1/0	-	-	0,999
	Allele T	112/90	Ref		
Non-smokers	Allele C	16/12	0.934	0.382 to 2.227	0.999
	TT	9/32	Ref		
	TC	7/2	0.086	0.007 to 0.550	0.003*
	CC	0/0	-	-	0,999
	Allele T	25/66	Ref		
	Allele C	7/2	0.111	0.011 to 0.635	0,004*

* p< 0.05

DISCUSSION

Genetic polymorphisms of detoxification enzymes may regulate an individual's predisposition to cancer including lung cancer. Besides this, environmental and lifestyle also contribute to the predisposition of lung cancer (Peddireddy *et al.*, 2016).

The distribution of lung cancer histological subtypes doesn't differ according to the sex: adenocarcinoma was the most frequently encountered subtype both in women and men. In contrast, in a similar study concerning European lung cancer patients, the distribution of lung cancer histological types differed according to the sex: 70% of the women patients had adenocarcinoma, while a more homogeneous distribution of the various histological types was seen among the male patients (Jacquet *et al.*, 1996).

Our finding is consistent with the results of Yoon *et al.* (2008) and Yang *et al.* (2007) which propose that adenocarcinoma was the predominant histological type of lung cancer among patients. In contrast to our results, squamous cell carcinoma was the predominant subtype according to the findings of Sobti *et al.* (2004).

All carcinogens are lipophilic and tend to be converted into water-soluble hydrophilic compound, and can be easily removed from the body through the excretory system. This conversion or detoxification of carcinogens is achieved by the addition of one atom of oxygen to the carcinogenic compound, brought about by the superfamily of cytochrome p 450 phase I enzymes. This process of detoxification leads to the formation of reactive intermediates, whenever they are not neutralized from DNA adducts (Sreelekha *et al.*, 2001).

In the present study, genotype frequencies of the *MspI* polymorphism, indicated that the heterozygous genotype TC was present in 26.25% of cancer patients and in 16.47 % of controls [OR = 0.547(0.235-1.241) p= 0.130], whereas the homozygous mutant genotype CC was present in

1.25 % of the cancer patients and in 0 % of controls, The frequency of the C allele was different in the two tested populations; 14.38 % in the cancer patients, 8.24 % in the healthy population; the C allele was also not significantly higher in patients compared to the control group [OR = 0.536 (0.245-1.135), p = 0.083], and thus, by lack of significance p>0.05, our study has indicated that TC genotype was not associated with susceptibility to lung cancer, which was consistent with the results of Quiñones *et al.* (2001).

Similar results were found by Houlston (2000) in a study including 2058 cases and 2765 controls of different ethnic populations suggesting that there was no evidence of lung cancer risk associated with the variant (*MspI*) of *CYP1A1*. In another study, no significant association was found between lung cancer and combined variant alleles of *CYP1A1 MspI* genotype (Sobti *et al.*, 2004).

Hung *et al.* (2003) have also observed a slight and not statistically significant increase in risk with the *CYP1A1 MspI* polymorphism and suggest that the *MspI* polymorphism alone does not seem to have any effect on the risk of lung cancer. Another study has found no influence of the *CYP1A1 MspI* genotype on PAH inducibility value distributions in a Caucasian population (Jacquet *et al.*, 1996).

Honma *et al.* (2009) reported that *CYP1A1 m1* gene polymorphisms have no influence on the risk of lung cancer in a Brazilian population. Jacquet *et al.* (1996) corroborate our findings and indicate that *CYP1A1 m1* is not linked with a higher risk of developing lung cancer. Also, Huang *et al.* (2013) found no significant association between the genetic polymorphisms of *CYP1A1* and the risk of lung cancer in Chinese Han ethnic populations from Central South China. Results of López-Cima *et al.* (2012) suggest that *CYP1A1 Msp I* is not associated with lung cancer risk in a population of Caucasians from Northern Spain. The results of another study established by Wright *et al.* (2010) confirm that *CYP1A1* polymorphisms are a minor risk factor for Non Small Cell Lung Cancer (NSCLC) in

Table 5. Genotypic distribution of *CYP1A1 m1* stratified by histological subtype

Genotype	Adenocarcinoma (%)	Squamous cell carcinoma (%)	SCLC (%)	Large cell lung carcinoma(%)
TT	36	19	2	1
TC	18	3	0	0
CC	1	0	0	0

SCLC: Small-Cell Lung Carcinoma.

Caucasians. Our results are consistent with the results obtained from Caucasians, Portuguese, and Spanish populations (Mota *et al.*, 2010; Alexandrie *et al.*, 2004 and San Jose *et al.* 2010).

In contrast to our findings Ji *et al.* (2012) have provided comprehensive and clear evidence that CYP1A1 *MspI* polymorphisms are an important modifying factor in determining susceptibility to lung cancer. In another study, Xu *et al.* (1996) have suggested that individuals who have the *MspI* variant CYP1A1 gene are at a higher risk for lung cancer.

Hussein *et al.* (2014) have demonstrated an association between genetic polymorphisms in the CYP1A1 locus and elevated risk of lung cancer among Egyptians. Moreover, a meta-analysis conducted by Zhan *et al.* (2011) reported a significant association between these polymorphisms and lung cancer risk in Asians and Caucasians. Studies on Indian populations have shown a similar association between CYP1A1 variants and the risk of lung cancer (Sobti *et al.*, 2003). Also, many other studies on Chinese (Song *et al.*, 2001), South Indian (Sreeja *et al.*, 2005), and Kashmiri (Shaffi *et al.*, 2009) populations showed the prevalence of the CYP1A1 homozygous mutant genotype among lung cancer patients compared to controls.

The study of Girdhar *et al.* (2016) *et al.* demonstrated that the CYP1A1 m1 polymorphism is an important factor contributing to increased susceptibility to pathological development of lung cancer in a Northern Indian population. In another meta-analysis, Li *et al.* have confirmed the association of CYP1A1 m1 with the risk of lung cancer Li *et al.* (2014). Liu *et al.* (2016) discovered that *MspI* polymorphism is correlated with susceptibility to lung cancer. The results of the study made by Peddireddy *et al.* (2016) are in parallel with the observations made in different populations worldwide, and the mutated genotype of CYP1A1 may play an important role in the etiology of lung cancer in the population of Andhra Pradesh state.

Probably the major reason for different results was due to the low penetrance of the CYP1A1 gene in Caucasians and another non-Chinese ethnicity due to the absence or rarity of the CYP1A1 polymorphisms in their population (Shi *et al.*, 2008).

CONCLUSION

In conclusion, there is no association between

CYP1A1 m1 polymorphism and susceptibility to lung cancer in Eastern Algeria, for future studies, strict selection of patients, well-matched controls and larger sample sizes will be required; also, this polymorphism is not the only factor to be taken into account when examining the genetic susceptibility to this type of cancer. Also, gene-gene and gene-environment interactions should be considered to clarify the genetic etiology of this disease.

More information is needed to understand the regulation of CYP enzymes in humans. The studies should include the effect of dietary compounds on the expression of CYP enzymes, and the expression profile of CYP enzymes in the tissues that are targets for chemical toxicity or carcinogenesis. Without this information, the role of CYP genetic polymorphism in the biological consequences may not be accurately assessed.

ACKNOWLEDGMENTS

We would like to extend our gratitude to all members who voluntarily participated in the study, especially patients and controls, Yasmina Dads, Khadidja Boudaoud, and Aicha Djemaa for their participation. We are grateful to Nouredine Abadi the director of the Laboratory of Biology and Molecular Genetics, Constantine 3 University, for providing the necessary infrastructure to carry out this study; Special thanks are offered also to Mohamed Amine Benhammoud the Human Resources Director of the Hospital University Abdelhamid Benbadis Constantine.

REFERENCES



- Alexandrie, Anna-Karin, Fredrik Nyberg, Margareta Warholm and Agneta Rannug, 2004. Influence of CYP1A1, GSTM1, GSTT1, and NQO1 Genotypes and Cumulative Smoking Dose on Lung Cancer Risk in a Swedish Population. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: A Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 13 (6): 908-914.
- Cabral, Rosa Estela Caseira, Adriano Caldeira-de-Araujo, Januario Bispo Cabral-Neto and Maria da Gloria Costa Carvalho. 2010. Analysis of GSTM1 and GSTT1 Polymorphisms in Circulating Plasma DNA of Lung Cancer Patients. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 338 (1-2): 263-269.
- Ezzeldin, Nada, Dalia El-Lebedy, Amira Darwish, Ahmed El-Bastawisy, Mirhane Hassan, Shereen Abd El-Aziz, Mohamed Abdel-Hamid and Amal Saad-Hussein.

2017. Genetic Polymorphisms of Human Cytochrome P450 CYP1A1 in an Egyptian Population and Tobacco-Induced Lung Cancer. *Genes and Environment: The Official Journal of the Japanese Environmental Mutagen Society*. 39: 7.
- Girdhar, Yashila, Navneet Singh, Digambar Behera and Siddharth Sharma, 2016. Combinations of the Variant Genotypes of CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 Are Associated with an Increased Lung Cancer Risk in North Indian Population: A Case-Control Study. *Pathology Oncology Research: POR*. 22 (3): 647-652.
- Hamdi-Cherif, M., Bidoli, E., Birri, S., Mahnane, A., Laouamri, S., Zaidi, Z. and Boukharouba, H. 2014. Le cancer à Sétif, Algérie, 1986–2010. *Journal Africain du Cancer / African Journal of Cancer*. 6 (3): 166-173.
- Honma, Helen Naemi, Eduardo Mello De Capitani, Aristóteles de Souza Barbeiro, Daniel Botelho Costa, André Morcillo and Lair Zambon, 2009. Polymorphism of the CYP1A1*2A Gene and Susceptibility to Lung Cancer in a Brazilian Population. *Jornal Brasileiro De Pneumologia: Publicacao Oficial Da Sociedade Brasileira De Pneumologia E Tisiologia* 35 (8): 767-772.
- Houlston, R. S. 2000. CYP1A1 Polymorphisms and Lung Cancer Risk: A Meta-Analysis. *Pharmacogenetics*. 10 (2): 105-114.
- Huang, Feng-mao, Han-chun Chen, Md Asaduzzaman Khan, Fu-lan Yang, Xin-xing Wan, Ai-hua Xu, Fang-dan Ou-yang and Dian-zheng Zhang, 2013. CYP2A6, CYP1A1, and CYP2D6 Polymorphisms in Lung Cancer Patients from Central South China. *Medical Oncology (Northwood, London, England)* 30 (2): 521.
- Hung, Rayjean J., Paolo Boffetta, Jürgen Brockmüller, Dorota Butkiewicz, Ingolf Cascorbi, Margie L. Clapper and Seymour Garte, 2003. CYP1A1 and GSTM1 Genetic Polymorphisms and Lung Cancer Risk in Caucasian Non-Smokers: A Pooled Analysis. *Carcinogenesis*. 24 (5): 875-882.
- Hussein, Atef G., Heba F. Pasha, Hanan M. El-Shahat, Doaa M. Gad and Mostafa M. Toam. 2014. CYP1A1 Gene Polymorphisms and Smoking Status as Modifier Factors for Lung Cancer Risk. *Gene*. 541 (1): 26-30.
- Jacquet, M., Lambert, V., Baudoux, E., Muller, M., Kremers, P. and Gielen, J. 1996. Correlation between P450 CYP1A1 Inducibility, MspI Genotype and Lung Cancer Incidence. *European Journal of Cancer (Oxford, England: 1990)* 32A (10): 1701-1706.
- Ji, Ya-nan, Qin Wang, Xin-qing Lin and Li-jun Suo, 2012. CYP1A1 MspI Polymorphisms and Lung Cancer Risk: An Updated Meta-Analysis Involving 20,209 Subjects. *Cytokine*. 59 (2): 324-334.
- Kellermann, G., Shaw, C. R. and Luyten-Kellerman, M. 1973. Aryl Hydrocarbon Hydroxylase Inducibility and Bronchogenic Carcinoma. *The New England Journal of Medicine*. 289 (18): 934-937.
- Li, Wen, Li-Qiang Song and Jian Tan, 2014. Combined Effects of CYP1A1 MspI and GSTM1 Genetic Polymorphisms on Risk of Lung Cancer: An Updated Meta-Analysis. *Tumour Biology: The Journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*. 35 (9): 9281-9290.
- Liu, H. X., Li, J. and Ye, B. G. 2016. Correlation between Gene Polymorphisms of CYP1A1, GSTP1, ERCC2, XRCC1, and XRCC3 and Susceptibility to Lung Cancer. *Genetics and Molecular Research: GMR*. 15 (4).
- López-Cima, M. Felicitas, Sara M. Alvarez-Avellón, Teresa Pascual, Ana Fernández-Somoano and Adonina Tardón, 2012. Genetic Polymorphisms in CYP1A1, GSTM1, GSTP1 and GSTT1 Metabolic Genes and Risk of Lung Cancer in Asturias. *BMC Cancer* 12 (septembre): 433.
- Mota, Paula, David Silva Moura, Maria Graça Vale, Henriqueta Coimbra, Lina Carvalho and Fernando Regateiro, 2010. CYP1A1 M1 and M2 Polymorphisms: Genetic Susceptibility to Lung Cancer. *Revista Portuguesa De Pneumologia*. 16 (1): 89-98.
- Peddireddy, Vidyullatha, Siva Prasad Badabagni, Sandhya Devi Gundimeda, Vasudha Mamidipudi, Pardhanandana Reddy Penagaluru and Hema Prasad Mundluru. 2016. Association of CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 Gene Polymorphisms with Risk of Non-Small Cell Lung Cancer in Andhra Pradesh Region of South India. *European Journal of Medical Research*. 21 (avril): 17.
- Quiñones, L., Lucas, D., Godoy, J., Cáceres, D., Berthou, F., Varela, N. and Lee, K. 2001. CYP1A1, CYP2E1 and GSTM1 Genetic Polymorphisms. The Effect of Single and Combined Genotypes on Lung Cancer Susceptibility in Chilean People. *Cancer Letters*. 174 (1): 35-44.
- Ren, Jing-Hua, Min Jin, Wen-Shan He, Cui-Wei Liu, Shun Jiang, Wei-Hong Chen, Kun-Yu Yang, Gang Wu and Tao Zhang. 2013. Association between CHRNA3 Rs1051730 Genotype and Lung Cancer Risk in Chinese Han Population: A Case-Control Study. *Journal of Huazhong University of Science and Technology. Medical Sciences*. 33 (6): 897-901.
- San Jose, Carmen, Agustin Cabanillas, Julio Benitez, Juan Antonio Carrillo, Mercedes Jimenez and Guillermo Gervasini. 2010. CYP1A1 Gene Polymorphisms Increase Lung Cancer Risk in a High-Incidence Region of Spain: A Case Control Study. *BMC Cancer* 10 (août): 463.
- Shaffi, Sheikh M., Mohd Amin Shah, Imtiyaz Ahmad Bhat, Parvaiz Koul, Syed Nisar Ahmad and Mushtaq A. Siddiqi. 2009. CYP1A1 Polymorphisms and Risk of Lung Cancer in the Ethnic Kashmiri Population. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP*. 10 (4): 651-656.
- Shi, Xiuquan, Suhua Zhou, Zhongxu Wang, Zongcan Zhou and Zengzhen Wang, 2008. CYP1A1 and GSTM1 Polymorphisms and Lung Cancer Risk in Chinese Populations: A Meta-Analysis. *Lung Cancer (Amsterdam, Netherlands)*. 59 (2): 155-163.
- Sobti, R. C., Sharma, S., Joshi, A., Jindal, S. K. and Janmeja, A. 2003. CYP1A1 and CYP2D6 Polymorphism and Risk of Lung Cancer in a North Indian Population.

- Biomarkers: Biochemical Indicators of Exposure, Response, and Susceptibility to Chemicals*. 8 (5): 415428.
- Sobti, R. C., Sharma, S., Joshi, A., Jindal, S. K. and Janmeja, A. 2004. Genetic Polymorphism of the CYP1A1, CYP2E1, GSTM1 and GSTT1 Genes and Lung Cancer Susceptibility in a North Indian Population. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 266 (1-2): 1-9.
- Song, N., Tan, W., Xing, D. and Lin, D. 2001. CYP 1A1 Polymorphism and Risk of Lung Cancer in Relation to Tobacco Smoking: A Case-Control Study in China. *Carcinogenesis*. 22 (1) : 11-16.
- Sreeja, Leelakumari, Vani Syamala, Sreedharan Hariharan, Jayaprakash Madhavan, Sivanandan Choondal Devan and Ravindran Ankathil, 2005. Possible Risk Modification by CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 Gene Polymorphisms in Lung Cancer Susceptibility in a South Indian Population . *Journal of Human Genetics*. 50 (12): 618-627.
- Sreelekha, T. T., Ramadas, K., Pandey, M., Thomas, G., Nalinakumari, K. R. and Pillai, M. R. 2001. Genetic Polymorphism of CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 Genes in Indian Oral Cancer. *Oral Oncology*. 37 (7): 593-598.
- Wright, C. M., Larsen, J. E., Colosimo, M. L., Barr, J. J., Chen, L., McLachlan, R. E., Yang, I. A., Bowman, R. V. and Fong, K. M. 2010. Genetic Association Study of CYP1A1 Polymorphisms Identifies Risk Haplotypes in Nonsmall Cell Lung Cancer. *The European Respiratory Journal*. 35 (1) : 152-159.
- Xu, X., Kelsey, K. T., Wiencke, J. K., Wain, J. C. and Christiani, D. C. 1996. Cytochrome P450 CYP1A1 MspI Polymorphism and Lung Cancer Susceptibility. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: A Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 5 (9): 687-692.
- Yang, Mihi, Yunhee Choi, Bin Hwangbo and Jin Soo Lee, 2007. Combined Effects of Genetic Polymorphisms in Six Selected Genes on Lung Cancer Susceptibility. *Lung Cancer (Amsterdam, Netherlands)*. 57 (2): 135-142.
- Yoon, Kyong-Ah, Jin Hee Kim, Hyea-Jin Gil, Hyukkee Hwang, Bin Hwangbo and Jin Soo Lee, 2008. CYP1B1, CYP1A1, MPO, and GSTP1 Polymorphisms and Lung Cancer Risk in Never-Smoking Korean Women. *Lung Cancer (Amsterdam, Netherlands)*. 60 (1): 40-46.
- Zhan, Ping, Qin Wang, Qian Qian, Shu-Zhen Wei and Li-Ke Yu, 2011. CYP1A1 MspI and Exon7 Gene Polymorphisms and Lung Cancer Risk: An Updated Meta-Analysis and Review ». *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research: CR 30* (octobre): 99.

Research Article

Association of TERT, OGG1, and CHRNA5 Polymorphisms and the Predisposition to Lung Cancer in Eastern Algeria

Asma Mimouni ^{1,2}, Etienne Rouleau,³ Patrick Saulnier,³ Amina Marouani,⁴ Med Lamine Abdelali,⁵ Taha Filali,⁶ Leila Beddar,⁷ Abdelhak Lakehal,⁸ Ahmed Hireche ^{1,2}, Asma Boudersa,⁹ Mahmoud Aissaoui,¹⁰ Hacene Ramtani,¹⁰ Khalid Bouhedjar,¹¹ Djamel Abdellouche,¹² Messaouda Oudjehih,¹³ Ibtissem Boudokhane,^{1,2} Nouredine Abadi,² and Dalila Satta^{1,2}

¹Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire, University Frères Mentouri Constantine 1, Constantine 25000, Algeria

²Laboratoire de Biologie et Génétique Moléculaire, Univ. Constantine 3, Constantine 25000, Algeria

³AMMICALUS 23 INSERM / UMS 3655 CNRS, Villejuif Cedex 94805, France

⁴Service de Pneumologie, CHU Sétif, 19000, Algeria

⁵Physics Department, Univ. Frères Mentouri Constantine 1, Constantine 25000, Algeria

⁶Service d'Oncologie CHU Constantine, Faculté de Médecine Univ. Constantine 3, Constantine 25000, Algeria

⁷Service d'Anatomie Pathologique, CHU Constantine, Faculté de Médecine Univ. Constantine 3, Constantine 25000, Algeria

⁸Registre de Cancer Constantine et Service d'Épidémiologie et Médecine Préventive, CHU Constantine, 25000, Algeria

⁹Service d'Oncologie, CHU, Annaba 23000, Algeria

¹⁰Clinique Alfarabi, Annaba 23000, Algeria

¹¹Centre de Recherche en Biotechnologie, Constantine 25000, Algeria

¹²Service D'Anatomie Pathologique, CHU Sétif, Sétif 19000, Algeria

¹³Registre de Cancer Batna et Service d'Épidémiologie et Médecine Préventive, CHU Batna, Batna 5000, Algeria

Correspondence should be addressed to Asma Mimouni; asmamimouni@yahoo.com

Received 22 December 2019; Revised 1 February 2020; Accepted 3 March 2020; Published 20 March 2020

Academic Editor: Andrew Sandford

Copyright © 2020 Asma Mimouni et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Lung cancer remains the most common cancer in the world. The genetic polymorphisms (rs2853669 in TERT, rs1052133 in OGG1, and rs16969968 in CHRNA5 genes) were shown to be strongly associated with the risk of lung cancer. Our study's aim is to elucidate whether these polymorphisms predispose Eastern Algerian population to non-small-cell lung cancer (NSCLC). To date, no study has considered this association in the Algerian population. This study included 211 healthy individuals and 144 NSCLC cases. Genotyping was performed using TaqMan probes and Sanger sequencing, and the data were analyzed using multivariate logistic regression adjusted for covariates. The minor allele frequencies (MAFs) of TERT rs2853669, CHRNA5 rs16969968, and OGG1 rs1052133 polymorphisms in controls were C: 20%, A: 31%, and G: 29%, respectively. Of the three polymorphisms, none shows a significant association, but stratified analysis rs16969968 showed that persons carrying the AA genotype are significantly associated with adenocarcinoma risk (pAdj = 0.03, ORAdj = 2.55). Smokers with an AA allele have a larger risk of lung cancer than smokers with GG or GA genotype (pAdj = 0.03, ORAdj = 3.91), which is not the case of nonsmokers. Our study suggests that CHRNA5 rs16969968 polymorphism is associated with a significant increase of lung adenocarcinoma risk and with a nicotinic addiction.

1. Introduction

Lung cancer (LC) remains the most common cancer in the world, both in terms of new cases (2 million new cases, 11.6% of all cancers) and deaths each year (1.7 million deaths 18.4%) [1]. As for Algeria, out of a population of some 42 million, 4000 cases of new LC appear every year; it is the first cause of mortality from cancer in men and the seventh in women [1, 2]. Although cigarette consumption accounts for the largest part of this alarming figure, over 80% of LC deaths are tobacco related but only a small fraction of smokers (usually <20%) develops this disease [3, 4]. In addition, a fraction of lifelong nonsmokers will die from LC, suggesting that LC is a multifactorial disease that results from complex interactions with many genetic and environmental factors [5]. Thus, it is of great importance to perform molecular biology studies in order to gain some understanding of susceptibility factors in action in the LC appearance and identify causal variants, which can be useful in the screening, the early diagnosis, and the therapy of LC. Independent Genome-Wide Association Studies (GWAS), which are considered a gold standard for reporting genotype-phenotype associations, and several other studies have been performed with the aim of looking for single-nucleotide polymorphism (SNP) of predisposition to LC [6–8]. Among the important genes which could modify the risk of LC are TERT, CHRNA5, and OGG1, and these are the genes we have been focusing on in this study.

TERT, encoded by the TERT gene, is one of the major components of telomerase; it is a reverse transcriptase that can add a nucleotide sequence (5'-TTAGGG) to telomere end [9]. The promoter region of TERT, located at positions c.124:C>T and c.146:C>T, is considered a regulatory element of telomerase activity [10]. The rs2853669 variant, located at -245 kb upstream (Ets2 binding site) of the TERT gene, prevents Ets/TCF binding, and it has been associated with lower TERT expression and decreased telomerase activity [11]. A growing number of epidemiological studies have been conducted to determine the associations between this polymorphism and cancer risk, particularly for breast cancer and LC; however, the results were inconclusive [12].

The OGG1 gene is located at chromosome 3p26.2. Its protein is a DNA repair enzyme, having both DNA glycosylase and AP lyse (apurinic or apyrimidinic site lyase) activities to remove 8-hydroxyguanine (8-oxoG) lesion produced by reactive oxygen species [13]. The rs1052133 polymorphisms have been identified in the OGG1 gene; it is a substitution at codon 326 (Ser326Cys), located in the promoter region [14]. The Cys326 protein has been shown to have about 7 times weaker 8-hydrox-yguanine-repair capacity than Ser326 protein in a complementation assay using *Escherichia coli* mutant strain deficient in 8-oxoG [15]. It has been suggested that rs1052133 was associated with LC risk; several studies investigated this association [16–18].

CHRNA genes code for proteins that form receptors which bind to nicotine and its metabolites [19]. In a large GWAS study, Hung et al. found a strong association of LC risk and CHRNA5 rs16969968 SNP; it results in the substitution of arginine for aspartic acid at the highly conserved codon 398 (D398N) of the CHRNA5 protein [7]. In vitro

studies indicate that rs16969968 decreases CHRNA5 function and favors nicotinic addiction [20]. Numerous studies have been performed to find out whether this association is direct, or whether the rs16969968 SNP is simply a proxy for increased exposure to tobacco carcinogens, which were inconclusive [7, 21–26].

In our study, we were interested in SNPs of three different genes, which were selected based upon GWAS and meta-analyses of multiple populations TERT (promoter region rs2853669, c.-124C>T, and c.-146C>T), OGG1 (rs1052133), and CHRNA5 (rs16969968). The aim of our study is to investigate how these SNPs can modify the risk of LC in the Eastern Algerian population. It is important to mention that our population, to the best of our knowledge, has not been the object of any molecular study concerning the LC till now, and thus this study, as any other pioneering work, had to deal with a relative scarcity of data.

Although this study has been conducted within various population centers in Eastern Algeria which thus encompass several ethnic groups, Arabs and Central Algeria Berbers, yet the population mixing which took place at an accelerated pace after Algeria's independence, the standardization of lifestyles, the rural exodus, all concurred to homogenize the genetic stock to a large extent [27]. Furthermore, the complex processes of admixture and isolation at work has made the genetic heterogeneity found in Algeria not strongly correlated with geography or culture. It would thus be improper to assume that the various population groups to be genetically isolated and immune of gene flow [27, 28].

2. Materials and Methods

2.1. Study Population. We have performed in this work a case control study of 144 LC patients and 211 healthy controls. The patients were first diagnosed with NSCLC between June 2015 and July 2016. They came from a wide zone spanning five Wilayas (territorial units) in Eastern Algeria between governmental University Hospitals (Constantine, Sétif, Batna, and Annaba) and private clinics. There was no restriction on gender, histologic subtype, or stage with the exception of patients who refused to participate in the study. Diagnosis was made by cytological imaging and histopathological examinations. We feel confident as explained previously that our samples are largely homogeneous. In addition to that, the democratization of access to medical treatment, freely provided to all, as shown in the fact that city dwellers and those from rural areas are equally represented in the various patient samples, allowed us to make the claim of genetic homogeneity of the samples with a good degree of confidence.

The control group comprised individuals with no history of cancer and without lung-related disease to avoid possible interference from overlapping genes. They were chosen from a pool of volunteers in the blood transfusion centers during the same period of patients without restriction of age or gender. All subjects were Algerians residing in Eastern Algeria.

We used a standard epidemiological questionnaire submitted to patients and controls, and we used the medical files to collect personal data, including residential region, age, gender, profession, smoking status, symptoms, family history of cancer, histologic subtype, and stage TNM.

2.2. Ethics Statement. Our research has been approved by the local Ethics Committee. The use of human blood sample and the protocol in this study strictly conformed to the principles expressed in the Declaration of Helsinki, and informed consent was obtained from all participants or from their family members.

2.3. DNA Extraction and Genotyping. Genomic DNA was extracted from six to eight milliliters of peripheral venous bloods, which was collected into a tube containing ethylenediamine-tetraacetic acid (EDTA) from each participant. We used standard protocols following the salt extraction procedure. The DNA concentration was measured with NanoDrop One spectrophotometer. For genotyping rs16969968 and rs1052133, we used Polymerase Chain Reaction (PCR) TaqMan; with ViiA 7 (Applied Biosystems) and TaqMan® SNP Genotyping assay kits (Applied Biosystems), we used the standard protocol recommended by the manufacturer.

The promoter TERT was amplified by PCR, and the PCR primers used were as follows: 5'ACCGTTCAGTTA GCGATTTCCACGTGCGCAGAGGAC3' (forward), and R: 5'CGGATAGCAAGCTCGTCTCCAGTGGA TTCG CGGGC3' (reverse). Then, it was genotyped with Sanger sequencing in both the forward and reverse directions using the Big Dye Terminator Chemistry V.I and an automated fluorescent sequencer, an ABI 48 Capillary Array Sequencer (Applied Biosystems 3730). Data management and analysis were done using SeqScape. For TERT sequencing, we could do sequencing for only 126 cases and 94 controls.

2.4. Statistical Analysis. To estimate sample size, we used functions from the R package "epiCalc" (Version 2.9.0.1) with a minor allele frequency data obtained from NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>) and a study power fixed at 80%. The Hardy–Weinberg equilibrium of the genotype distributions is evaluated in the control subjects using a function from R package "Hardy–Weinberg" (Version 1.6.1).

The strength of association between the three polymorphisms and LC risk is assessed by calculating odds ratios (ORs) with the corresponding confidence intervals (95% CI). The ORs are also performed for a heterozygote model (AA vs. aa, where A: major allele and a: minor allele), homozygote model (Aa vs. AA), recessive model (AA+Aa vs. aa), and dominant model (AA vs. Aa+aa). We used Pearson's chi-square test to compare distributions of demographic variables, smoking status, and genotypes of the three genes between cases and controls. To calculate ORs and 95% CI, unconditional logistic regression analyses are performed. In addition, multiple unconditional logistic regression analyses with adjustment for possible confounders (age, sex, and smoking) are performed to calculate adjusted ORs and 95% CI. Statistical tests along with ORs and corresponding CIs are done using the publicly available packages of R Project

TABLE 1: Characteristics of case and control subjects.

Characteristics	Cases (%) (n = 144)	Controls (%) (n = 211)	p value
Sex			<0.01
Male	119 (83)	134 (63.5)	
Female	25 (17)	77 (36.5)	
Age (years)			<0.01
<60	72 (50)	170 (80.5)	
≥60	72 (50)	41 (19.5)	
Mean age (range)	59.85 (26-80)	52.33 (20-88)	
Smoking status			<0.01
Smokers	104 (73)	61 (38)	
Nonsmokers	38 (27)	100 (62)	
No information	2	50	
Histology			/
Adenocarcinoma	96 (66%)	/	
Squamous cell carcinoma	48 (34%)		

p value based on Pearson's chi-square test.

for Statistical Computing (R version 3.5.1) and especially functions from packages MASS and questionr (Version 0.7.0). All statistical analyses are two sided, and the significance level is set at $p = 0.05$.

3. Results

3.1. Subjects Characteristics. To test the association between TERT, OGG1, and CHRNA5 gene polymorphisms and the risk of LC, we conducted a case-control study consisting of 144 NSCLC cases and 211 controls enrolled in four University Hospitals of Eastern Algeria (Constantine, Sétif, Batna, and Annaba). The distributions of age, gender, smoking history, and histology type among the study subjects were summarized in Table 1. The distribution of gender and that of age were statistically significant between the cases and controls ($p < 0.01$). Thus, the cases and controls were incompletely matched in this study population. Among the cases, 66% were diagnosed with adenocarcinoma and 34% with squamous cell carcinoma. Approximately 73% of case subjects and 37% of control subjects were ever smokers. As expected, case subjects had a significantly higher level ($p = <0.01$) of smoking than control subjects.

3.2. Association Analysis of Candidate SNPs with LC Risk. The distribution of TERT, OGG1, and CHRNA5 gene polymorphisms in cases and controls are presented in Table 2. The allele frequencies of the three gene polymorphisms in controls were consistent with the Hardy–Weinberg equilibrium; the p values are as follows: 0.15 for TERT, 0.49 for OGG1, and 0.15 for CHRNA5.

After sequencing the promoter of TERT gene, the two SNPs could not be found in this population (c.124C>T, c.146C>T), but we observed the presence of the rs2853669 polymorphism with a high frequency.

TABLE 2: TERT, OGG1, and CHRNA5 genotypes and lung cancer risk.

Genes	Genotype/mode ^a	Cases (%)	Controls (%)	<i>p</i>	OR* (CI)	<i>p</i> *
TERT rs2853669		126	94			
	TT	71 (56.3)	57 (61)	Ref	—	—
	TC	49 (38.9)	36 (38)	0.755	0.99 (0.53–1.89)	0.99
	CC	6 (4.8)	1 (1)	0.11	4.15 (0.61–83.73)	0.21
	T	191 (76)	150 (80)	Ref	—	—
	C	61 (24)	38 (20)		1.22 (0.72–2.07)	0.45
	Recessive			0.12	4.72 (0.68–97.04)	0.17
Dominant			0.52	1.11 (0.59–2.07)	0.75	
CHRNA5 ^b rs16969968		143	211			
	GG	60 (42)	93 (44.3)	Ref	—	—
	GA	64 (44.8)	105 (49.8)	0.8	0.98 (0.58–1.63)	0.93
	AA	19 (13.2)	13 (6.2)	0.03	1.75 (0.68–4.69)	0.25
	G	184 (64.3)	291 (69)	Ref	—	—
	A	102 (35.7)	131 (31)		1.16 (0.80–1.68)	0.41
	Recessive			0.02	1.83 (0.78–4.48)	0.16
Dominant			0.69	1.07 (0.65–1.76)	0.78	
OGG1 ^b rs1052133		144	210			
	CC	79 (54.9)	107 (50.9)	Ref	—	—
	CG	54 (37.5)	83 (39.3)	0.58	0.88 (0.52–1.48)	0.62
	GG	11 (7.6)	20 (9.5)	0.46	1.45 (0.53–4.07)	0.46
	C	212 (73.6)	297 (71)	Ref	—	—
	G	76 (26.4)	123 (29)		1.01 (0.68–1.5)	0.92
	Recessive			0.53	1.44 (0.55–3.83)	0.45
Dominant			0.46	0.94 (0.57–1.54)	0.79	

OR = odds ratio; CI = confidence interval. *OR adjusted for sex age and tobacco consumption. ^aThe dominant mode: AA vs Aa+aa, where A is major allele and a is minor allele; the recessive mode: AA+Aa vs aa. ^bNumbers may not add up total number of patients due to genotype failures.

The minor allele frequencies (MAFs) of TERT rs2853669, OGG1 rs1052133, and CHRNA5 rs16969968 and polymorphisms in cases/controls were C: 24%/20%, G: 26.4%/29%, and A: 35.7%/31%, respectively. The genotype distribution of TERT and OGG1 was not significantly different between LC and control groups in all models, although the genotype distribution of CHRNA5 was significantly different in the recessive and homozygote modes ($p = 0.02$ and $p = 0.03$, respectively). After adjustment for the sex and age, the significance becomes marginal (data not shown), and after adjustment for the sex, age, and tobacco consumption factors, we found that the correlation vanished ($p_{Adj} = 0.16$, OR = 1.83, CI = (0.78 – 4.48), and $p_{Adj} = 0.25$, OR = 1.75, CI = (0.68 – 4.69), respectively).

3.3. Stratified Analysis for the Three SNPs Studied with LC Risk. We then performed a stratified analysis according to, tobacco consumption, histological type (Table 3), age, and sex (Table 4), in order to investigate associations between genetic polymorphisms and stratified factors in dominant, codominant recessive models. In addition to that, we studied these associations at the level of alleles (Table 5).

For TERT rs2853669, the results showed that the persons having CT or CC genotypes and passed 60 years had a larger risk of suffering from LC than those carrying TT genotype

($p = 0.04$). Among males, the homozygote genotype CC increase the risk of LC than TT or TC genotypes with $p = 0.03$ (Table 3). In addition to that, the patients with CC genotype have a tendency to have a squamous type rather than adenocarcinoma. Yet after adjustment, there was no statistical signification for the three stratified factors.

The OGG1 rs1052133 did not show any signification with stratified factors, except for age (>60 years), which reveals an association with the increase of LC for the persons having a minor allele (GG), in comparison with person with CC genotype ($p = 0.04$). After adjustment for age, sex, and smoking status, the signification become marginally significant ($p = 0.09$, OR = 0.49, CI = (0.21–1.11)).

As for CHRNA5 rs16969968, we observed an increasing risk for LC among males with a recessive genotype (AA) compared with those having GG or GA genotype with $p = 0.02$. However, after adjustment, the signification disappears. Smokers with an AA allele have a larger risk of LC than smokers with GG or GA genotype ($p = 0.02$); after adjustment for age and sex, the signification persists with $p_{Adj} = 0.03$, OR_{Adj} = 3.91, and CI = (1.24 – 17.34). For the stratified analysis according to the histological type, we observed that the persons with AA allele have preferentially an adenocarcinoma rather than squamous type under the recessive and homozygote models $p = 0.003$ and $p = 0.005$, respectively. This risk

TABLE 3: Association between TERT, CHRNA5, and OGG1 polymorphisms and lung cancer risk, stratified by histology and tobacco consumption.

Population	Gene	Genotype	Cases/controls ^a	<i>p</i>	OR _{Adj}	CI _{Adj}	<i>P</i> _{Adj}
Smokers*	TERT rs2853669	TT	46/20		Ref		
		TC	40/19	0.81	0.86	(0.39-1.88)	0.71
		CC	5/0	0.14	—	—	0.99
		Dominant (TC+CC)	46/20	0.93	0.97	(0.44-2.10)	0.94
		Recessive (TC+TT)	86/39	0.13	—	—	0.98
	CHRNA5 rs16969968	GG	42/24		Ref		
		GA	44/34	0.37	0.72	(0.36-1.42)	0.35
		AA	18/3	0.05	3.29	(0.79-15.28)	0.08
		Dominant (GA+AA)	62/37	0.89	0.93	(0.48-1.79)	0.83
		Recessive (GA+GG)	86/58	0.02	3.91	(1.24-17.34)	0.03
	OGG1 rs1052133	CC	59/35		Ref		
		CG	36/23	0.82	0.81	(0.40-1.63)	0.56
		GG	9/3	0.40	2.01	(0.53-9.80)	0.32
		Dominant (CG+GG)	45/26	0.93	0.92	(0.48-1.78)	0.82
		Recessive (CG+CC)	95/58	0.37	2.03	(0.57-9.59)	0.30
Nonsmokers*	TERT rs2853669	TT	23/30		Ref		
		TC	9/9	0.62	1.32	(0.42-4.19)	0.63
		CC	1/1	0.85	1.54	(0.05-41.59)	0.76
		Dominant (TC+CC)	10/10	0.61	1.38	(0.46-4.17)	0.55
		Recessive (TC+TT)	32/39	0.89	1.71	(0.06-47.92)	0.71
	CHRNA5 rs16969968	GG	16/49		Ref		
		GA	22/44	0.4	1.36	(0.61-3.05)	0.44
		AA	1/7	0.44	0.33	(0.01-2.49)	0.36
		Dominant (GA+AA)	21/51	0.54	1.19	(0.54-2.63)	0.65
		Recessive (GA+GG)	36/93	0.34	0.31	(0.01-1.97)	0.29
	OGG1 rs1052133	CC	18/48		Ref		
		CG	18/45	0.86	0.94	(0.42-2.10)	0.89
		GG	2/7	0.74	0.83	(0.10 - 4.23)	0.84
		Dominant	20/52	0.94	0.91	(0.42-1.99)	0.82
		Recessive	36/93	0.71	0.84	(0.11-3.80)	0.83
Adenocarcinoma**	TERT rs2853669	TT	50/57		Ref		
		TC	33/36	0.88	1.01	(0.50-2)	0.97
		CC	3/1	0.26	3.39	(0.39-72.50)	0.31
		Dominant (TC+CC)	36/37	0.73	1.09	(0.55-2.13)	0.79
		Recessive (TC+TT)	83/93	0.27	3.90	(0.43-85.93)	0.26
	CHRNA5 rs16969968	GG	37/93		Ref		
		GA	42/105	0.98	1.01	(0.57-1.79)	0.95
		AA	16/13	0.005	2.54	(0.95-7.07)	0.06
		Dominant (GA+AA)	58/118	0.40	1.18	(0.68-2.06)	0.53
		Recessive (GA+GG)	79/198	0.003	2.55	(1.07-6.35)	0.03
	OGG1 rs1052133	CC	50/107		Ref		
		CG	39/83	0.98	0.95	(0.53-1.67)	0.86
		GG	7/20	0.53	1.61	(0.52-4.80)	0.39
		Dominant (CG+GG)	46/103	0.85	1.00	(0.58-1.73)	0.97
		Recessive (CG+CC)	89/190	0.52	1.49	(0.50-4.24)	0.45

TABLE 3: Continued.

Population	Gene	Genotype	Cases/controls ^a	<i>p</i>	OR _{Adj}	CI _{Adj}	<i>P</i> _{Adj}	
Squamous**	TERT rs2853669	TT	21/57		Ref			
		TC	16/36	0.63	1.10	(0.43-2.77)	0.83	
		CC	3/1	0.03	10.87	(0.67-573.04)	0.15	
		Dominant (TC+CC)	19/37	0.38	1.26	(0.51-3.12)	0.60	
		Recessive (TC+TT)	37/93	0.04	7.60	(0.65-208.01)	0.14	
		GG	23/93		Ref			
	CHRNA5 rs16969968	GA	22/105	0.61	0.81	(0.37-1.71)	0.58	
		AA	3/13	0.91	0.78	(0.13-3.71)	0.76	
		Dominant (GA+AA)	25/118	0.62	0.80	(0.38-1.68)	0.56	
		Recessive (GA+GG)	45/198	0.98	0.93	(0.18-3.95)	0.93	
		CC	29/107		Ref			
		CG	15/83	0.24	0.64	(0.28-1.42)	0.28	
		OGG1 rs1052133	GG	4/20	0.60	1.50	(0.31-6.72)	0.59
			Dominant (CG+GG)	19/103	0.23	0.71	(0.33-1.52)	0.39
Recessive (CG+CC)	44/190		0.79	1.67	(0.38-6.66)	0.46		

OR = odds ratio; CI = confidence interval; Adj = adjusted. *OR adjusted for gender and age. **OR adjusted for gender, age, and smoking habit. ^aNumbers may not add up the total number of patients due to genotype failures.

was not affected by adjusting for other factors (age, sex, and smoking) $p_{Adj} = 0.03$, $OR_{Adj} = 2.55$, and $CI = (1.07 - 6.35)$.

As for the stratified analysis by sex, smoking, histological type, and age, according to alleles, no significant association was found.

4. Discussion

High incidence and poor prognosis of LC make it a major health problem worldwide. Although the LC is linked to environmental exposure to carcinogens, especially cigarette smoking, only some smokers develop LC, which suggests that there is an interindividual difference in susceptibility to the disease. In this study, polymorphisms in three genes involved in the metabolism of carcinogens or in the repair of damaged DNA in lung cells, TERT (rs2853669), OGG1 (rs1052133), and CHRNA5 (rs16969968), were examined for association with NSCLC risk in a case-control study of 144 patients and 211 control subjects of Eastern Algerian population in an attempt to explain this interindividual difference.

In our population, none of these three genes shows an influence on the LC risk, except the CHRNA5 rs16969968 SNP, which was significantly different between cases and controls, but after adjustment, the signification disappears. These results are in accordance with the findings of numerous studies but contradictory to others [16, 26, 29]. The allelic frequencies were slightly different from those found in other populations and close to those of Caucasian population but differ drastically from Asiatic and African population [30].

For TERT gene, after sequencing its promoter, we identified in our population the rs2853669 polymorphism. The rs2853669 MAFs in our control group is $C = 20\%$. According to literature and HapMap data, there is no big difference between the MAFs of rs2853669 in Caucasian and Asian populations, $C: 26\%-37\%$ [12, 31]. Overall, in our study, no

significant association was found between the rs2853669 and NSCLC. In the stratified analysis, no difference was noticed for all stratified factors. Only two studies were performed in LC which were conducted exclusively on the Asian population, and they found a strong association between rs2853669 and LC risk [32, 33]. A large recent meta-analysis where thirteen studies involving 16 datasets were pooled to evaluate the association between rs2853669 and cancer risk were realized, and researchers demonstrated that rs2853669 alone does not increase or decrease the overall risk and prognosis of cancer. In a stratified analysis by cancer type, a protective effect was found for breast cancer and a significant association was found for LC and glioblastoma; however, the small number of studies limited its credibility [29]. Concurrently, another recent meta-analysis with the same objective of the precedent had the pooled results indicating that the rs2853669 polymorphism was significantly associated with increased cancer risk in a homozygote model. In the stratified analysis, a significantly increased cancer risk was observed for Asians, but not so for Caucasian patients. A subgroup analysis by cancer type also revealed a significant increase in the risk of LC, but not breast cancer [12].

For the OGG1 rs1052133, previous studies have shown that homozygous carriers of the variant appear to have reduced repair capacity toward oxidized DNA lesions, and previous evidence indicated higher levels of 8-oxoG in lung tissue of LC patients than in lung tissue of patients without cancer [34, 35]. Numerous studies have investigated the association between LC and this SNP, and the results are quite diverse [16–18]. In our study, the MAFs in the control group of rs1052133 was $G = 29\%$, which is slightly higher than frequencies previously reported for Caucasians (15% to 25%), and lower than those reported (40% to 62%) for Asian populations, but consistent with those obtained (33%) for the Turkish population, and similar to those found ($G = 27\%$) in a study of the North African population [16, 36, 37]. The

TABLE 4: Association between TERT, CHRNA5, and OGG1 polymorphisms and lung cancer risk, stratified by gender and age.

Population	Gene	Genotype	Cases/controls ^a	<i>p</i>	OR _{Adj}	CI _{Adj}	<i>P</i> _{Adj}
Male**	TERT rs2853669	TT	55/40		Ref		
		TC	40/32	0.76	0.74	(0.35-1.55)	0.43
		CC	6/0	0.04	—	—	0.99
		Dominant (TC+CC)	46/32	0.88	0.90	(0.43-1.86)	0.78
		Recessive (TC+TT)	95/72	0.03	—	—	0.98
	CHRNA5 rs16969968	GG	49/60		Ref		
		GA	51/65	0.88	0.92	(0.50-1.71)	0.80
		AA	18/9	0.04	1.99	(0.70-6.26)	0.20
		Dominant (GA+AA)	69/74	0.60	1.05	(0.58-1.90)	0.85
		Recessive (GA+GG)	100/125	0.02	2.09	(0.82-5.88)	0.13
	OGG1 rs1052133	CC	68/67		Ref		
		CG	42/51	0.43	0.80	(0.44-1.48)	0.47
		GG	9/15	0.24	1.49	(0.44-5.52)	0.52
		Dominant (CG+GG)	51/66	0.28	0.87	(0.48-1.56)	0.64
Recessive (CG+CC)		110/118	0.31	1.51	(0.47-5.36)	0.48	
Female**	TERT rs2853669	TT	16/17		Ref		
		TC	9/4	0.20	2.49	(0.66-10.91)	0.19
		CC	0/1	0.33	—	—	0.99
		Dominant (TC+CC)	9/5	0.32	2.02	(0.56-7.97)	0.29
		Recessive (TC+TT)	25/21	0.28	—	—	0.99
	CHRNA5 rs16969968	GG	11/33		Ref		
		GA	13/40	0.95	1.03	(0.39-2.70)	0.94
		AA	1/4	0.80	0.75	(0.02-8.22)	0.83
		Dominant (GA+AA)	14/44	0.92	1.01	(0.39-2.62)	0.97
		Recessive (GG+AA)	24/73	0.81	0.85	(0.03-7.46)	0.90
	OGG1 rs1052133	CC	11/40		Ref		
		CG	12/32	0.51	1.06	(0.39-2.85)	0.89
		GG	2/5	0.67	1.23	(0.14-7.25)	0.82
		Dominant	14/37	0.48	1.06	(0.41-2.77)	0.89
Recessive		23/72	0.79	1.20	(0.16-6.24)	0.83	
>60*	TERT rs2853669	TT	32/16		Ref		
		TC	28/5	0.06	2.26	(0.72-7.97)	0.17
		CC	3/0	0.22	—	—	0.99
		Dominant (TC+CC)	31/5	0.04	2.49	(0.80-8.72)	0.12
		Recessive (TC+TT)	60/21	0.30	—	—	0.99
	CHRNA5 rs16969968	GG	31/16		Ref		
		GA	29/23	0.30	0.62	(0.26-1.43)	0.27
		AA	12/2	0.15	2.83	(0.62-20.48)	0.22
		Dominant (GA+AA)	42/93	0.52	1.26	(0.66-2.42)	0.46
		Recessive (GG+AA)	64/159	0.36	1.22	(0.38-3.86)	0.72
	OGG1 rs1052133	CC	38/15		Ref		
		CG	29/26	0.04	0.49	(0.21-1.11)	0.09
		GG	5/0	0.16	—	—	0.99
		Dominant (CG+GG)	34/26	0.09	0.58	(0.25-1.29)	0.18
Recessive (CG+CC)		67/41	0.08	—	—	0.98	

TABLE 4: Continued.

Population	Gene	Genotype	Cases/controls ^a	<i>p</i>	OR _{Adj}	CI _{Adj}	<i>P</i> _{Adj}
		TT	39/41		Ref		
		TC	21/31	0.34	0.67	(0.30–1.48)	0.33
	TERT rs2853669	CC	3/1	0.30	2.99	(0.33–65.93)	0.37
		Dominant (TC+CC)	24/32	0.49	0.76	(0.34–1.63)	0.48
		Recessive (TC+TT)	60/72	0.24	3.70	(0.41–82.55)	0.28
		GG	29/77		Ref		
		GA	35/82	0.67	1.26	(0.65–2.44)	0.48
<60*	CHRNA5 rs16969968	AA	7/11	0.31	1.27	(0.35–4.48)	0.70
		Dominant (GA+AA)	42/93	0.52	1.26	(0.66–2.42)	0.46
		Recessive (GG+GA)	64/159	0.36	1.22	(0.38–3.86)	0.72
		CC	41/92		Ref		
		CG	25/57	0.95	1.33	(0.76–2.66)	0.41
	OGG1 rs1052133	GG	6/20	0.42	1.01	(0.30–3.20)	0.97
		Dominant (CG+GG)	31/77	0.72	1.27	(0.67–2.44)	0.45
		Recessive (CG+CC)	66/149	0.42	0.90	(0.27–2.75)	0.86

OR = odds ratio; CI = confidence interval; Adj = adjusted. *OR and *p* adjusted for smoking and gender. **OR adjusted for age and smoking habit. ^aNumbers may not add up the total number of patients due to genotype failures.

frequency of individuals carrying homozygous variant allele GG was slightly higher in the controls (9.5%) than in the cases (7.6%), which suggests a protective effect, but this difference is not statistically significant (*p* = 0.46). Two previous studies found that this SNP could have a protective effect for LC [36, 38]. Overall, the rs1052133 does not have any effect on the risk of NSCLC in our population. These results are in agreement with the finding of three studies but in discordance with evidence from two other studies [13, 36, 39–41]. Duan et al. did a meta-analysis (data from 8 studies), and no association was found between OGG1 rs1052133 and NSCLC risk [16]. It seems that Asians may have a much higher susceptibility to LC than the others due to having a higher frequency for the variant G allele [42, 43].

In our stratified analysis by histological type, gender, age, and smoking habits, only the age showed a marginally significant elevation of risk of NSCLC for persons more than 60 years old and carrying a recessive genotype GG. However, results obtained by Hung et al. were not in agreement with ours [34].

Our findings could not explain the significantly lower capacity to incise 8-oxoG by leukocytes of NSCLC patients in comparison to healthy controls. A possible explication is that OGG1 gene polymorphisms are only one of many parameters that might affect OGG1 activity. Another explanation as suggested by Lee et al. is that the GG genotype is deficient in the repair of oxidatively generated DNA damage only under conditions of cellular oxidative stress [44]. However, both of these hypotheses need to be confirmed in future studies.

The rs16969968 CHRNA5 polymorphism was the subject of a large number of investigations [21, 23, 26, 45]. Different gene expression and disease association studies provided evidence that both nicotine-dependence risk and LC risk are influenced by this polymorphism. This variant is common in populations of European and Middle Eastern

origin, (MAFs = 37%–43%) but uncommon in African, East Asian, and Native American populations (<5%) [20]. For the Algerian population, the MAFs of the rs16969968 in the control group is A = 31%, which is in disagreement with the result found for the Mozabit ethnic group (MAFs = 18%) [46]. This result can be explained because the Mozabit ethnicity stands out genetically from the remaining population due to their practice of endogamy [46]. Our results show a decrease of the variant allele in cases and not in controls, but after adjustment for sex, age, and smoking, the significance disappears (*p* = 0.16). Thus, our data do not support an important role for the SNP in NSCLC risk. However, previous studies on different ethnic groups, predominantly Caucasian, showed a rather important association between rs16969968 and LC risk.

When stratified according to histologic subtype, rs16969968 was associated with LC risk in ADK but not in SCC (*p* = 0.03) under the recessive model. Falvella et al. reported that CHRNA5 mRNA levels are upregulated 30-fold in ADK compared with normal lung tissue in individuals carrying AA genotype compared with those having GG genotype [47]. Nevertheless, Jaworoska et al. showed that this locus is implicated in all histopathologic subtypes of LC [48]. In spite of ADK and SCC being categorized as NSCLC, they have as molecular pattern, and for that reason, the rs16969968 may influence LC susceptibility differently according to histologic subtype. Additional studies are needed to confirm this hypothesis.

The stratified study on the smoking factor showed that smokers with AA genotype exhibit a four-fold higher risk of NSCLC compared with those carrying GA and GG genotypes. Results reported by Le Marchand et al. could explain our results; the authors found that smokers with the AA genotype smoke more cigarettes, but also smoke more intensely, extracting a greater amount of nicotine and carcinogens per cigarette, compared with noncarriers [49]. On the

TABLE 5: Association between TERT, CHRNA5, and OGG1 polymorphisms and lung cancer risk, stratified by gender, age, smoking, and histological at the level of alleles.

Population	Gene	Allele	Case/control ^a	<i>p</i>	OR _{Adj}	CI _{Adj}	<i>P</i> _{Adj}
Smokers [§]	TERT	T	132/59				
		C	50/19	0.60	1.15	0.62–2.18	0.66
	CHRNA5	G	128/82				
		A	80/40	0.30	1.25	0.78–2.03	0.34
	OGG1	C	154/93				
		G	54/29	0.65	1.07	0.64–1.83	0.79
Nonsmokers [§]	TERT	T	55/69				
		C	11/11	0.62	1.36	0.52–3.54	0.52
	CHRNA5	G	52/142				
		A	22/58	0.91	0.98	0.53–1.78	0.95
	OGG1	C	54/141				
		G	22/59	0.93	0.92	0.50–1.67	0.81
Adenocarcinoma ^{§§}	TERT	T	131/128				
		C	39/30	0.38	1.16	0.66–2.04	0.57
	CHRNA5	G	114/224				
		A	74/98	0.04	1.33	0.89–1.98	0.15
	OGG1	C	137/234				
		G	53/88	0.88	1.07	0.69–1.63	0.75
Squamous ^{§§}	TERT	T	56/128				
		C	22/30	0.11	1.48	0.71–3.08	0.28
	CHRNA5	G	66/224				
		A	28/98	0.90	0.87	0.49–1.52	0.64
	OGG1	C	71/234				
		G	23/88	0.58	0.88	0.48–1.60	0.70
Male ^{**}	TERT	T	146/90				
		C	52/24	0.30	1.15	0.64–2.11	0.63
	CHRNA5	G	145/123				
		A	87/57	0.21	1.21	0.78–1.87	0.38
	OGG1	C	175/133				
		G	60/47	0.91	0.98	0.61–1.57	0.93
Female ^{**}	TERT	T	41/38				
		C	9/6	0.56	1.45	0.47–4.76	0.51
	CHRNA5	G	35/101				
		A	15/41	0.88	0.99	0.47–2.02	0.98
	OGG1	C	34/101				
		G	16/41	0.68	1.07	0.51–2.16	0.85
>60 [*]	TERT	T	92/37				
		C	34/5	0.04	2.21	0.84–6.96	0.13
	CHRNA5	G	91/53				
		A	53/27	0.65	1.12	0.63–2.03	0.69
	OGG1	C	105/55				
		G	39/25	0.51	0.86	0.47–1.61	0.64

TABLE 5: Continued.

Population	Gene	Allele	Case/control ^a	<i>p</i>	OR _{Adj}	CI _{Adj}	<i>P</i> _{Adj}
<60*	TERT	T	95/91				
		C	27/25	0.91	0.94	0.49–1.79	0.86
	CHRNA5	G	89/171				
		A	49/71	0.21	1.18	0.73–1.90	0.48
	OGG1	C	103/179				
		G	37/63	0.93	1.14	0.68–1.89	0.60

OR = odds ratio; CI = confidence interval; Adj = adjusted. ^aOR and *p* adjusted for smoking and gender. ^{**}OR adjusted for age and smoking habit. ^bNumbers may not add up total number of patients due to genotype failures. [§]OR adjusted for gender and age. ^{§§}OR adjusted for gender, age and smoking habit.

other hand, another plausible explanation is that the variant of rs16969968 leads to reduced receptor activity and that individuals carrying the A allele may require larger amounts of nicotine to achieve the same level of dopamine release [20]. On the other hand, a meta-analysis concluded that the rs16969968-A predicts delayed smoking cessation and an earlier age of LC diagnosis [50]. It was confirmed by a recent study realized by Forget et al. showing that transgenic rats expressing a human nicotinic receptor polymorphism self-administer more nicotine at high doses and exhibit higher nicotine-induced reinstatement of nicotine seeking than wild type. This relapse is associated with reduced neuronal activity in the interpeduncular nucleus [51]. All these studies show the importance of the rs16969968, especially for early diagnosis of LC, and may provide potential targets for new therapies for smoking cessation interventions. Especially, prospective studies indicate that in 2030, tobacco use will be responsible for 10 million deaths, making it the leading cause of preventable deaths [52].

It is important to mention that the Algerian population—which belongs to Africa’s largest country—is a very specific population genetically wise due to both historical and cultural reasons with the Berbers being the native population of the region [53]. History of the region bears witness to many invasions, conquests, and migrations by Phoenicians, Romans, Vandals, Byzantines, Arabs, Jews, Spanish, and French, making it a true admixture which could explain why the MAFs of the Algerian population is close to the Caucasian and Middle Eastern ones and that no significant association was found. In addition, it was shown that some Berber populations (Tuareg, Mozabite) are different compared to the genetic North African ones, having gone through long periods of genetic isolation [27]. This can explain the remarkable difference between the rs16969968 CHRNA5 MAFs of Mozabite that were found (*A* = 18%) and ours (*A* = 31%) [46]. Another characteristic of our population, related to cultural factors connected with smoking, is that Algerian women do not smoke except in rare cases, which could explain the lack of significance between rs16969968, (strongly associated with the risk of LC) in Caucasian population.

5. Conclusions

In conclusion, our study, which is the first of its kind related to the molecular of LC for the East Algerian population, has

considered the association of the polymorphisms of three genes TERT (rs2853669), CHRNA5 (rs16969968), and OGG1 (rs1052133) in Eastern Algerian population, and has shown that the rs16969968 CHRNA5 has a significant association with adenocarcinoma LC, and interestingly that the risk is important for smoking patients carrying the AA genotype.

These significant and novel results of our study have however some limitations. First, there is the limited sample size used in the study and the mismatch of our population in sex, age, and smoking, which could result in some bias in the results (although the unconditional logistic regression we used with adjustment for confounding variables, such as sex, age, and smoking, mostly neutralized this effect). Secondly, as the sample was not too large, the statistical power to detect the modest effect of three potential functional SNPs in stratified analyses is relatively low. Besides this, there were some missing information on the smoking status for some people and the duration and intensity of the nicotinic addiction tests. In any case, to fully apprehend the difference in the genetic background of the various North African populations will require more studies, and some of the results reported here may help bring new perspectives on the topic.

Data Availability

The data used to support the findings of this study are included within the article.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflict of interest.

Authors’ Contributions

A.M. is responsible for writing the manuscript and study design. A.M., A.Ma, A.B., H.R., M.A., T.F., L.B., D.A., I.B., and N.A. are responsible for sample collection and data. A.M. and P.S. are responsible for the experiments. A.M., P.S., and E.R. are responsible for the data analysis. M.L.A., A.L., K.B., and M.O. are responsible for the statistical analysis. A.M., E.R., D.S., and A.H. are responsible for the participants in the discussion. D.S. and E.R. are responsible for the validation and supervision. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Acknowledgments

We would like to extend our gratitude to all who contributed to this work, especially: Pr. Vialard François, Dr. Lacroix Ludovic, Boumechoune Saliha, Dadsy Yasmina, Ghalem Habiba, Pr. Moumeni Abdelhak, Pr. Djebbar Abdelmadjid, Dr. Tayeb Abderahmane, Dr. Kherbache Tarek, Dr. Rebahi Faycel, Dr. Kassah Laouar Chouaib, Pr. Messaadi Med Salah, Pr. Djeddi Hanane, Pr. Hamidechi Hafid, Pr. Benbrahim Wassila, Haddad Bahria, and all patients and control subjects for their participation. This study was financially supported by the Ministry of Higher Education and Scientific Research of Algeria.

References

- [1] J. Ferlay, M. Colombet, I. Soerjomataram et al., "Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods," *International Journal of Cancer*, vol. 144, no. 8, pp. 1941–1953, 2018.
- [2] M. Hamdi-Cherif, E. Bidoli, S. Birri et al., "Le cancer à Sétif, Algérie, 1986–2010," *Journal Africain du Cancer/African Journal of Cancer*, vol. 6, no. 3, pp. 166–173, 2014.
- [3] D. M. Parkin, P. Pisani, A. D. Lopez, and E. Masuyer, "At least one in seven cases of cancer is caused by smoking. Global estimates for 1985," *International Journal of Cancer*, vol. 59, no. 4, pp. 494–504, 1994.
- [4] M. Furrakh, "Tobacco smoking and lung cancer: perception-changing facts," *Sultan Qaboos University Medical Journal*, vol. 13, no. 3, pp. 345–358, 2013.
- [5] P. D. P. Pharoah, A. M. Dunning, B. A. J. Ponder, and D. F. Easton, "Association studies for finding cancer-susceptibility genetic variants," *Nature Reviews Cancer*, vol. 4, no. 11, pp. 850–860, 2004.
- [6] C. I. Amos, X. Wu, P. Broderick et al., "Genome-wide association scan of tag SNPs identifies a susceptibility locus for lung cancer at 15q25.1," *Nature Genetics*, vol. 40, no. 5, pp. 616–622, 2008.
- [7] R. J. Hung, J. D. McKay, V. Gaborieau et al., "A susceptibility locus for lung cancer maps to nicotinic acetylcholine receptor subunit genes on 15q25," *Nature*, vol. 452, no. 7187, pp. 633–637, 2008.
- [8] T. E. Thorgeirsson, F. Geller, P. Sulem et al., "A variant associated with nicotine dependence, lung cancer and peripheral arterial disease," *Nature*, vol. 452, no. 7187, pp. 638–642, 2008.
- [9] D. Wu, H. Yu, J. Sun et al., "Association of genetic polymorphisms in the telomerase reverse transcriptase gene with prostate cancer aggressiveness," *Molecular Medicine Reports*, vol. 12, no. 1, pp. 489–497, 2015.
- [10] S. Borah, L. Xi, A. J. Zaugg et al., "TERT promoter mutations and telomerase reactivation in urothelial cancer," *Science*, vol. 347, no. 6225, pp. 1006–1010, 2015.
- [11] U. Nench, A. Rahimian, M. Giry et al., "TERT promoter mutations and rs2853669 polymorphism: prognostic impact and interactions with common alterations in glioblastomas," *Journal of Neuro-Oncology*, vol. 126, no. 3, pp. 441–446, 2016.
- [12] Z. Liu, T. Wang, Z. Wu et al., "Association between TERT rs2853669 polymorphism and cancer risk: a meta-analysis of 9,157 cases and 11,073 controls," *PLoS One*, vol. 13, no. 3, e0191560, 2018.
- [13] H. Wikman, A. Risch, F. Klimek et al., "hOGG1 polymorphism and loss of heterozygosity (LOH): significance for lung cancer susceptibility in a caucasian population," *International Journal of Cancer*, vol. 88, no. 6, pp. 932–937, 2000.
- [14] H. Ito, N. Hamajima, T. Takezaki et al., "A limited association of OGG1 Ser326Cys polymorphism for adenocarcinoma of the lung," *Journal of Epidemiology*, vol. 12, no. 3, pp. 258–265, 2002.
- [15] T. Kohno, K. Shinmura, M. Tosaka et al., "Genetic polymorphisms and alternative splicing of the hOGG1 gene, that is involved in the repair of 8-hydroxyguanine in damaged DNA," *Oncogene*, vol. 16, no. 25, pp. 3219–3225, 1998.
- [16] W.-X. Duan, R. X. Hua, W. Yi et al., "The association between OGG1 Ser326Cys polymorphism and lung cancer susceptibility: a meta-analysis of 27 studies," *PLoS One*, vol. 7, no. 4, p. e35970, 2012.
- [17] Z. Xu, L. Yu, and X. Zhang, "Association between the hOGG1 Ser326Cys polymorphism and lung cancer susceptibility: a meta-analysis based on 22,475 subjects," *Diagnostic Pathology*, vol. 8, no. 1, 2013.
- [18] P.-T. Zhou, B. Li, J. Ji, M. M. Wang, and C. F. Gao, "A systematic review and meta-analysis of the association between OGG1 Ser326Cys polymorphism and cancers," *Medical Oncology*, vol. 32, no. 2, 2015.
- [19] H. M. Schuller, "Nitrosamines as nicotinic receptor ligands," *Life Sciences*, vol. 80, no. 24–25, pp. 2274–2280, 2007.
- [20] L. J. Bierut, J. A. Stitzel, J. C. Wang et al., "Variants in nicotinic receptors and risk for nicotine dependence," *American Journal of Psychiatry*, vol. 165, no. 9, pp. 1163–1171, 2008.
- [21] B. M. Ayesh, R. al-Masri, and A. A. Abed, "CHRNA5 and CHRNA3 polymorphism and lung cancer susceptibility in Palestinian population," *BMC Research Notes*, vol. 11, no. 1, p. 218, 2018.
- [22] E. H. Lips, V. Gaborieau, J. D. McKay et al., "Association between a 15q25 gene variant, smoking quantity and tobacco-related cancers among 17 000 individuals," *International Journal of Epidemiology*, vol. 39, no. 2, pp. 563–577, 2010.
- [23] N. Pandey, S. Pal, L. K. Sharma, R. Guleria, A. Mohan, and T. Srivastava, "SNP rs16969968 as a strong predictor of nicotine dependence and lung cancer risk in a North Indian population," *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, vol. 18, no. 11, pp. 3073–3079, 2017.
- [24] R. Pérez-Morales, A. González-Zamora, M. F. González-Delgado et al., "CHRNA3 rs1051730 and CHRNA5 rs16969968 polymorphisms are associated with heavy smoking, lung cancer, and chronic obstructive pulmonary disease in a mexican population," *Annals of Human Genetics*, vol. 82, no. 6, pp. 415–424, 2018.
- [25] T. Truong, R. J. Hung, C. I. Amos et al., "Replication of lung cancer susceptibility loci at chromosomes 15q25, 5p15, and 6p21: a pooled analysis from the International Lung Cancer Consortium," *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, vol. 102, no. 13, pp. 959–971, 2010.
- [26] Z.-W. Xu, G.-N. Wang, Z.-Z. Dong, T.-H. Li, C. Cao, and Y.-H. Jin, "CHRNA5 rs16969968 polymorphism association with risk of lung cancer - evidence from 17,962 lung cancer cases and 77,216 control subjects," *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, vol. 16, no. 15, pp. 6685–6690, 2015.

- [27] A. Bekada, L. R. Arauna, T. Deba, F. Calafell, S. Benhamamouch, and D. Comas, "Genetic heterogeneity in Algerian human populations," *PLoS One*, vol. 10, no. 9, 2015.
- [28] A. Bekada, R. Fregel, V. M. Cabrera et al., "Introducing the Algerian mitochondrial DNA and Y-chromosome profiles into the North African landscape," *PLoS One*, vol. 8, no. 2, 2013.
- [29] N. Shen, Y. Lu, X. Wang, J. Peng, Y. Zhu, and L. Cheng, "Association between rs2853669 in TERT gene and the risk and prognosis of human cancer: a systematic review and meta-analysis," *Oncotarget*, vol. 8, no. 31, p. 50864, 2017.
- [30] *rs16969968 RefSNP Report - dbSNP - NCBI* September 2019 https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs16969968#frequency_tab.
- [31] NCBI March 2019 https://www.ncbi.nlm.nih.gov/variation/news/NCBI_retiring_HapMap/.
- [32] S. S. Yoo, S. K. Do, J. E. Choi et al., "TERT polymorphism rs2853669 influences on lung cancer risk in the Korean population," *Journal of Korean Medical Science*, vol. 30, no. 10, pp. 1423–1428, 2015.
- [33] R. Zhong, L. Liu, L. Zou et al., "Genetic variations in TERT-CLPTM1L locus are associated with risk of lung cancer in Chinese population," *Molecular Carcinogenesis*, vol. 52, no. S1, pp. 118–126, 2013.
- [34] R. J. Hung, P. Brennan, F. Canzian et al., "Large-scale investigation of base excision repair genetic polymorphisms and lung cancer risk in a multicenter study," *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, vol. 97, no. 8, pp. 567–576, 2005.
- [35] M. Inoue, T. Osaki, M. Noguchi, S. Hirohashi, K. Yasumoto, and H. Kasai, "Lung cancer patients have increased 8-hydroxydeoxyguanosine levels in peripheral lung tissue DNA," *Japanese Journal of Cancer Research*, vol. 89, no. 7, pp. 691–695, 1998.
- [36] B. Karahalil, E. Emerce, B. Koçer, S. Han, N. Alkiş, and A. Karakaya, "The association of OGG1 Ser326Cys polymorphism and urinary 8-OHdG levels with lung cancer susceptibility: a hospital-based case-control study in Turkey," *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, vol. 59, no. 4, pp. 241–250, 2008.
- [37] N. Laantri, M. Jalbout, M. Khyatti et al., "XRCC1 and hOGG1 genes and risk of nasopharyngeal carcinoma in North African countries," *Molecular Carcinogenesis*, vol. 50, no. 9, pp. 732–737, 2011.
- [38] K. De Ruyck, M. Szaumkessel, I. De Rudder et al., "Polymorphisms in base-excision repair and nucleotide-excision repair genes in relation to lung cancer risk," *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, vol. 631, no. 2, pp. 101–110, 2007.
- [39] B. Qian, H. Zhang, L. Zhang, X. Zhou, H. Yu, and K. Chen, "Association of genetic polymorphisms in DNA repair pathway genes with non-small cell lung cancer risk," *Lung Cancer*, vol. 73, no. 2, pp. 138–146, 2011.
- [40] J. Janik, M. Swoboda, B. Janowska et al., "8-Oxoguanine incision activity is impaired in lung tissues of NSCLC patients with the polymorphism of OGG1 and XRCC1 genes," *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, vol. 709–710, pp. 21–31, 2011.
- [41] S. Zienolddiny, D. Campa, H. Lind et al., "Polymorphisms of DNA repair genes and risk of non-small cell lung cancer," *Carcinogenesis*, vol. 27, no. 3, pp. 560–567, 2006.
- [42] P. Guan, D. Huang, Z. Yin, and B. Zhou, "Association of the hOGG1 Ser326Cys polymorphism with increased lung cancer susceptibility in Asians: a meta-analysis of 18 studies including 7592 cases and 8129 controls," *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, vol. 12, no. 4, pp. 1067–1072, 2011.
- [43] W. Wei, X. F. He, J. B. Qin et al., "Association between the OGG1 Ser326Cys and APEX1 Asp148Glu polymorphisms and lung cancer risk: a meta-analysis," *Molecular Biology Reports*, vol. 39, no. 12, pp. 11249–11262, 2012.
- [44] A. J. Lee, "Interindividual variability in response to sodium dichromate-induced oxidative DNA damage: role of the Ser326Cys polymorphism in the DNA-repair protein of 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine DNA glycosylase 1," *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, vol. 14, no. 2, pp. 497–505, 2005.
- [45] M. E. Gabrielsen, P. Romundstad, A. Langhammer, H. E. Krokan, and F. Skorpen, "Association between a 15q25 gene variant, nicotine-related habits, lung cancer and COPD among 56 307 individuals from the HUNT study in Norway," *European Journal of Human Genetics*, vol. 21, no. 11, pp. 1293–1299, 2013.
- [46] N. A. Rosenberg, J. K. Pritchard, J. L. Weber et al., "Genetic structure of human populations," *Science*, vol. 298, no. 5602, pp. 2381–2385, 2002.
- [47] F. S. Falvella, A. Galvan, E. Frullanti et al., "Transcription deregulation at the 15q25 locus in association with lung adenocarcinoma risk," *Clinical Cancer Research*, vol. 15, pp. 1837–1842, 2009.
- [48] E. Jaworowska, J. Trubicka, M. R. Lener et al., "Smoking related cancers and loci at chromosomes 15q25, 5p15, 6p22.1 and 6p21.33 in the Polish population," *PLoS One*, vol. 6, no. 9, 2011.
- [49] L. Le Marchand, K. S. Derby, S. E. Murphy et al., "Smokers with the CHRNA lung cancer-associated variants are exposed to higher levels of nicotine equivalents and a carcinogenic tobacco-specific nitrosamine," *Cancer Research*, vol. 68, no. 22, pp. 9137–9140, 2008.
- [50] L.-S. Chen, R. J. Hung, T. Baker et al., "CHRNA5 risk variant predicts delayed smoking cessation and earlier lung cancer diagnosis—a meta-analysis," *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, vol. 107, no. 5, 2015.
- [51] B. Forget, P. Scholze, F. Langa et al., "A human polymorphism in CHRNA5 is linked to relapse to nicotine seeking in transgenic rats," *Current Biology*, vol. 28, no. 20, pp. 3244–3253.e7, 2018.
- [52] P. Jha and R. Peto, "Global effects of smoking, of quitting, and of taxing tobacco," *New England Journal of Medicine*, vol. 370, no. 1, pp. 60–68, 2014.
- [53] M. Brett and E. Fentress, *The Berbers*, Wiley-Blackwell, 1997, ISBN 0-631-20767-8.

Annexe 02

Classification anatomo-pathologie 2015 (Couraud 2019)

Types et sous-types histologiques	Code ICDO
TUMEURS EPITHELIALES	
Adénocarcinome	8140/3
Adénocarcinome lépidique†	8250/3
Adénocarcinome acinaire	8551/3
Adénocarcinome papillaire	8260/3
Adénocarcinome micro papillaire†	8265/3
Adénocarcinome solide	8230/3
Adénocarcinome Invasif Mucineux†	8253/3
Adénocarcinome invasif mixte mucineux	
Adénocarcinome invasif mixte non-mucineux	8254/3
Adénocarcinome colloïde	8480/3
Adénocarcinome fœtal	8333/3
Adénocarcinome entérique†	8144/3
Adénocarcinome avec invasion minime†	
Non-mucineux	8250/2
Mucineux	8257/3
Lésions pré-invasives	
Hyperplasie adénomateuse atypique	8250/0
Adénocarcinome <i>in situ</i> †	
Non mucineux	8410/2
Mucineux	8253/2
Carcinome malpighien (ou épidermoïde)	8070/3
Carcinome malpighien kératinisant†	8071/3
Carcinome malpighien non kératinisant†	8072/3
Carcinome malpighien basaloïde†	8083/3
Lésion pré-invasive	
Carcinome malpighien <i>in situ</i>	8070/2
Tumeurs neuroendocrines	
Carcinome à petites cellules	8041/3
Carcinome à petites cellules composite	8045/3
Carcinome neuroendocrine à grandes cellules	8013/3
Carcinome neuroendocrine à grandes cellules composite	8013/3
Tumeurs carcinoïdes	
Tumeur carcinoïde typique	8240/3
Tumeur carcinoïde atypique	8249/3
Lésion pré-invasive	
Hyperplasie neuroendocrine diffuse pulmonaire idiopathique	8040/0
Carcinome à grandes cellules	8012/3
Carcinomes adénosquameux	8560/3
Carcinomes sarcomatoïdes	
Carcinome pléomorphe	8022/3
Carcinome à cellules fusiformes	8032/3
Carcinome à cellules géantes	8031/3
Carcinosarcome	8980/3
Blastome pulmonaire	8972/3
Autres carcinomes et carcinomes inclassés	
Carcinome "lymphoepithelioma-like"	8082/3
Carcinome avec réarrangement NUT †	8023/3

Tumeurs de type glandes salivaires	
Carcinome mucoépidermoïde	8430/3
Carcinome adénoïde kystique	8200/3
Carcinome épithélial-myoépithélial	8562/3
Adénome pléomorphe	8940/0
Papillomes	
Papillome malpighien	8052/0
Exophytique	8052/0
Inversé	8053/0
Papillome glandulaire	8260/0
Papillome mixte malpighien et glandulaire	8560/0
Adénomes	
Pneumocytome sclérosant†	88320
Adénome alvéolaire	8251/0
Adénome papillaire	8260/0
Cystadénome mucineux	8470/0
Adénome des glandes muqueuses	8480/0
Tumeurs mésoenchymateuses	
Hamartome pulmonaire	8992/0
Chondrome	9220/0
PEComes†	
Lymphangioliomyomatose	9174/1
PECome bénin†	8714/0
Clear cell tumor	8005/0
PECome malin†	8714/3
Tumeur myofibroblastique congénitale péri bronchique	8827/1
Lymphangiomatose diffuse pulmonaire	
Tumeur myofibroblastique inflammatoire	8825/1
Hémangioendothéliome épithélioïde	9133/3
Blastome pleuropulmonaire	8973/3
Synovialo-sarcome	9040/3
Sarcome intimal de l'artère pulmonaire	9137/3
Sarcome myxoïde pulmonaire avec translocation EWSR1-CREB1 †	8842/3
Tumeurs myoépithéliales †	
Myoépithéliome	8982/0
Carcinome myoépithélial	8982/3
Tumeurs lymphohistiocytiques	
Lymphome extra-ganglionnaire de la zone marginale du MALT	9699/3
Lymphome diffus à grandes cellules	9680/3
Granulomatose lymphomatoïde	9766/1
Lymphome intravasculaire diffus à grandes cellules †	9712/3
Histiocytose pulmonaire Langerhansienne	9751/1
Maladie d'Erdheim-Chester	9750/1
Tumeurs d'origine ectopique	
Tumeurs germinales	
Tératome, mature	9080/0
Tératome, immature	9080/1
Thymome intra pulmonaire	8580/3
Mélanome	8270/3
Méningiome, NOS	9530

Annexe 03

Classification UICC stades des cancers bronchiques, 2015 (Cazin et Dansin 2016).

T	Tumeur primitive
TX	Tumeur qui ne peut être évaluée, ou tumeur démontrée par la présence de cellules malignes dans les expectorations ou un lavage bronchique sans visualisation de la tumeur par des examens endoscopiques ou d'imagerie
T0	Pas d'évidence de tumeur primitive
Tis	Carcinome <i>in situ</i>
T1	Tumeur de 3 cm ou moins dans sa plus grande dimension, entourée par le poumon ou la plèvre viscérale, sans évidence bronchoscopique d'invasion de la bronche souche
T1a	Tumeur de 2 cm ou moins dans sa plus grande dimension (T1a 2015 : tumeur de moins de 1 cm)
T1b	Tumeur de plus de 2 cm sans dépasser 3 cm dans sa plus grande dimension (T1b 2015 : entre 1 et 2 cm)
T1c 2015	Entre 2 et 3 cm
T2	Tumeur de plus de 3 cm sans dépasser 7 cm dans sa plus grande dimension ou présentant une des caractéristiques suivantes : <ul style="list-style-type: none"> • atteinte de la bronche souche à 2 cm ou plus de la carène • invasion de la plèvre viscérale • présence d'une atélectasie ou d'une pneumopathie obstructive s'étendant à la région hilare sans atteindre l'ensemble du poumon
T2a	Tumeur de plus de 3 cm sans dépasser 5 cm dans sa plus grande dimension (T2a 2015 : entre 3 et 4 cm)
T2b	Tumeur de plus de 5 cm sans dépasser 7 cm dans sa plus grande dimension (T2b 2015 : entre 4 et 5 cm)
T3	Tumeur de plus de 7 cm ; ou envahissant directement une des structures suivantes : la paroi thoracique (y compris la tumeur de Pancoast), le diaphragme, le nerf phrénique, la plèvre médiastinale ou le péricarde pariétal ; ou une tumeur dans la bronche souche à moins de 2 cm de la carène sans l'envahir ; ou associée à une atélectasie ou d'une pneumopathie obstructive du poumon entier ; ou présence d'un nodule tumoral distinct dans le même lobe (T3 2015 : entre 5 et 7 cm)
T4	Tumeur de toute taille envahissant directement une des structures suivantes : médiastin, cœur, grands vaisseaux, trachée, nerf laryngé récurrent, œsophage, corps vertébral, carène ; ou présence d'un nodule tumoral distinct dans un autre lobe du poumon atteint (T4 2015 : supérieur à 7 cm)

N	Adénopathies régionales
NX	Les ganglions ne peuvent pas être évalués
N0	Pas de métastase ganglionnaire lymphatique régionale
N1	Métastase(s) dans les ganglions lymphatiques intrapulmonaires, péribronchiques et/ou hilaires homolatéraux, y compris par envahissement direct
N2	Métastase(s) dans les ganglions lymphatiques médiastinaux homolatéraux et/ou sous-carinaux
N3	Métastase(s) dans les ganglions lymphatiques médiastinaux controlatéraux, hilaires controlatéraux, scalènes ou sous-claviculaires homo- ou controlatéraux

M	Métastase à distance
MX	La présence de métastase(s) à distance ne peut être évaluée
M0	Absence de métastase à distance
M1	Présence de métastase(s) à distance
M1a	Nodule(s) tumoral(aux) distinct(s) dans un lobe controlatéral ; tumeur avec nodules pleuraux ou épanchement pleural (ou péricardique) malin
M1b	Métastase à distance (M1b 2015 : métastase extrathoracique unique dans un organe)
M1c 2015	Métastases extrathoraciques multiples

Annexe 04

Loci de susceptibilité au cancer du poumon

Loci de susceptibilité au cancer du poumon dérivés des études GWAS, spécificité par sous-groupes et gènes candidats (Bossé et Amos 2018).

GWAS loci	Histology	Smoking	Gender	Ethnicity	Age of onset	>1 loci	Suspected causal genes
1p36.32 (29)		s	m	a			AJAP1 (87), NPHP4 (88)
1p31.1 (25)				e			FUBP, DNAJB4
1q22 (56)	SQ						MUC1 (89, 90), ADAM15 (91), THBS3
2p16.3 (39)	AD	n	w	a			NRXN1 (92)
2q32 (22)	SQ			e			NUP35 (93)
2q32.2 (52)	AD	s	m	a			HIBCH, INPP1 (94), PMS1, STAT1
3p26 (44)				e			No genes. Deletions associated with cancer (95, 96)
3q28 (23, 25, 27, 28, 32, 36)	AD		w				TP63 (97, 98)
3q29 (26)				a			C3orf21 (26)
4p15.2 (45, 46)	SQ			e			KCNIP4 (99)
5p15 (18-22, 25-28, 32, 35, 36, 55)	AD	n	w				TERT (100-105), CLPTMIL (106-110)
5q14.2 (42)				e			XRCCA (111)
5q31 (29)				a	o		PAHA2 (112), CSF2 (113), IL3 (113), SLC22A5 (29, 114), ACSL6 (115)
5q32 (29)	AD	n	w	a			STK32A (29), PPP2R2B (116, 117), DPYSL3 (118)
6p22.2 (31)				a			HIST1H1E
6p21 (18, 20-22, 25, 31, 32, 36, 37, 42, 54)	SQ			e			BAG6 (119, 120), APOM (121, 122), TNXB (123), MSH5 (124), BTNL2, PRRC2A (BAT2), FKBP1 (125, 126), HSPA1B (127), FOXP4, FOXP4-AS1, GTF2H4 (42), LRFN2, HLA-A (128), HLA-DQB1 (128)
6q22 (36)	AD	n	w	a			DCBLD1 (129, 130), ROS1 (131-133)
6q27 (25)				a			RNASET2
7p15.3 (54)				a			SP4, DNAH11
8p21.1 (25)				e			EPHX2, CHRNA2
8p12 (25)	AD			e			NRG1 (134)
9p21.3 (22, 25, 37, 56)							CDKN2A (135), CDKN2B (135), CDKN2B-AS1 (136, 137), MTAP
10p14 (29)				a			GATA3 (138-141)
10q23.33 (45)		n	w	e	y		FFAR4 (142)
10q24.3 (25)	AD			e			OBFC1
10q25.2 (36)	SQ		w	a			VTG1A (143-145)
11q23.3 (25)	AD			e			MPZL3, AMICA1
12p13.33 (22, 25, 40)	SQ			e			RAD52 (40, 146-151)
12q13.13 (37, 41)		n	w				ACVR1B (152, 153), NR4A1
12q23.1 (30)	SQ			a			NRIH4 (154), SLC17A8 (155, 156)
12q24 (55)				e			SH2B3
13q12.12 (28)				a	y		MIPEP, TNFRSF19 (157)
13q13.1 (23, 25, 56)	SQ			e			BRCA2 (158)
13q31.3 (34)		n		e			GPC5 (159, 160)
15q21.1 (25)	AD			e			SEMA6D, SECISBP2L (161)
15q25 (14-22, 25, 44)		s		e			CHRNA5, CHRNA3, CHRN4, IREB2, PSMA4 (162), HYKK
17q24.3 (32, 36)				a			BPTF (32, 163, 164)
18p11.22 (38)		n		a			FAM38B (165), APCDD1 (166, 167), NAPG
18q12.1 (46)	AD			e			GAREM (168)
19q13.2 (25, 44)				e			TGFB1 (169), CYP2A6
20q11.21 (31)				a			BPIFB1 (170)
20q13.2 (29)	AD			a			CYP24A1 (171-174)
20q13.33 (25)	AD			e			RTEL1 (175)
22q12.1 (23, 25)	SQ			e			CHEK2 (24, 176)
22q12.2 (28)				a			LIF (177, 178), HORMAD2, MTMR3

Abréviations : AD : adénocarcinome ; a : Asiatiques ; e : Européens ; m : hommes ; n : non-fumeurs ; o : plus âgé ; s : fumeurs ; SQ : carcinome épidermoïde ; w : femmes ; y : jeunes. La couleur de la L'arrière-plan illustre la force des preuves sur une échelle en noir et blanc où le noir indique des preuves convaincantes et le blanc indique qu'il n'y a pas de preuves jusqu'à présent. La force de la preuve était attribué en fonction du contenu des publications citées dans la première colonne, compte tenu du nombre d'études qui ont reproduit les associations, le niveau de signification statistique et la qualité des études, par exemple la taille de l'échantillon. L'absence de preuves (en blanc) ne permet pas de distinguer l'absence d'associations étudiées de celles pas encore examiné et met également en évidence les lacunes en matière de connaissances.

Annexe 05

Principales anomalies cytogénétiques des cancers bronchiques : pertes/ délétions chromosomiques (Madelaine et Zalcman 2005)

N°	Précocité (K épidermoïde c/o le fumeur)	Histologie	Gène (s)*	Influence pronostique péjorative
LOH 3p	Épithélium normal	80 % CBPC	<i>FHIT</i> : 3p14.2	Oui
		50 % CBNPC	<i>FOXP1</i> : 3p14.1 <i>RASSF1</i> : 3p21.3 <i>RAR β</i> : 3p24.2 ? <i>TGFβ RII</i> : 3p22 ? <i>WNT7</i> : 3p25 ? <i>βcaténine</i> :3p21.3 ? <i>Sema3F</i> : 3p21.3 ?	Oui
Amplicon 3q26-3ter	Dysplasie sévère/CIS	45 % CBNPC (88 % épi, 42 % grandes cellules 11 % adénoK)	<i>p63AIS</i>	Pronostic plus favorable
LOH 4p	?	53 % CBNPC 36 % CBPC	<i>SLIT2</i> 4p15.2	?
LOH 5q	Stades tardifs (N°, métastase)	30 % CBNPC	<i>APC/MCC</i> 5q21-22 <i>Séma4D</i> 5q21-22 ?	Oui : délétion locus <i>APC/MCC</i>
LOH 8p	Hyperplasie/métaplasie (après 3p, voire 9p)	40 % CBNPC	<i>8p21-22</i> : <i>DR5/TRAIL-R2</i> dans 11 % des <i>NAPC</i>	?
LOH 9p	Dysplasie	50 % CBNPC	<i>9p21 (INK4a:p16,p19)</i> <i>9p34.1 (DAP-K)</i>	oui oui
LOH 10q	Stades tardifs Lignées cellulaires	10-15 % CPC et épi	<i>PTEN</i> 10q23 ? 10q22-q26 ?	?
LOH 11p	Stades tardifs (métastase)	50 % CBNPC	11p15.5 <i>Ribonucléotide Réductase</i> ? <i>p57^{KIP2}</i> ? <i>IGF2</i> ? <i>TSG101</i> ? 11p11.2: <i>KAI-1</i> ?	?
Amplicon 11q13	Dysplasie	21 % des CBNPC	<i>CCND1 (cyclineD1)</i>	oui
LOH 13q	-	80 % CBPC	<i>Rb</i> : 13q14	?
		44 % NSCLC	<i>ING1b</i> 13q33-34 ?	?
Amplicon 14q13	?	37 % adénoK	<i>HNF3 α</i> 14q13	?
LOH 17p	Métaplasie malpighienne	60 % CBPC 50 % CBNPC	<i>p53</i> : 17p13	oui
Amplicon 17q	?	5 à 20 % des CBNPC	<i>ErbB2</i> : 17q.11.2-12	Non (discuté)
LOH 22q	Stades tardifs	35-5 % CBNPC	<i>MYO18B</i> : 22q12.1	Oui
		45-6 % CBPC	<i>TIMP3</i> 22q12.3	?

*En gras les gènes dont l'implication dans la carcinogenèse bronchique est établie par des séries importantes de groupes différents, avec des données convergentes. Gènes candidats à un rôle dans la carcinogenèse bronchique, non formellement établi (en italique), voire peu vraisemblable (locus délété mais autre gène vraisemblablement en cause, ou données contradictoires ou insuffisantes, en noir avec point d'interrogation). CBNPC : cancers bronchiques non à petites cellules ; CBPC : cancers bronchiques à petites cellules.

Annexe 06

Questionnaire et fiche de consentement (Patients)

Numéro de dossier :

Nom et prénoms :

Date de naissance :.....

Wilaya :

Profession :

Premiers symptômes : Toux :... .. Dyspnée :.....Hémoptysie :... ..Douleur

Date de découverte de la maladie :.....

Date de la première consultation :.....

Tabagisme actif :

Tabagisme passif :

Alcool :

Antécédents personnels :

Antécédents familiaux :.....

Localisation tumorale :

Chirurgie :

Chimiothérapie :

Radiothérapie :

Type histologique :

TNM:

Fiche de Consentement (patient)

- Je donne mon accord à la réalisation des études génétiques qui peuvent aider au diagnostic ou à la prévention de la maladie dont je souffre.
- Je donne mon accord pour que mon prélèvement soit à la disposition de la communauté scientifique à des fins de recherche biomédicale.

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

Fait à Constantine, leSignature

Annexe 07

Questionnaire et fiche de consentement (Témoins)

Numéro de caractérisation :

Nom et prénom :

Date de naissance :

Wilaya :

Profession :

Tabagisme actif :

Tabagisme passif :

Alcool :

Antécédents familiaux :

Fiche de Consentement (Témoïn)

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

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

Fait à Constantine, leSignature

Annexe 08

Protocole d'extraction d'ADN

1. Préparation des leucocytes

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

2. Extraction de l'ADN

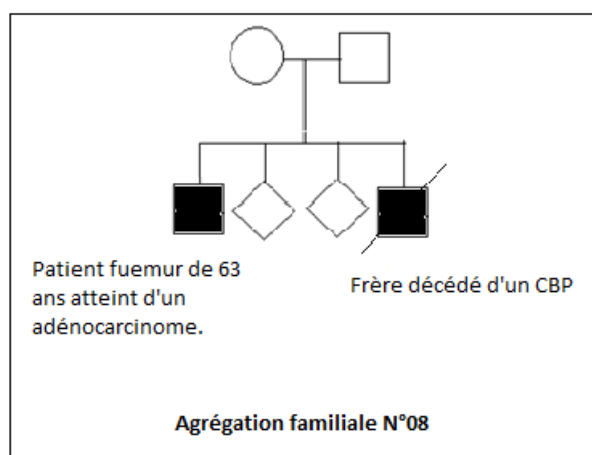
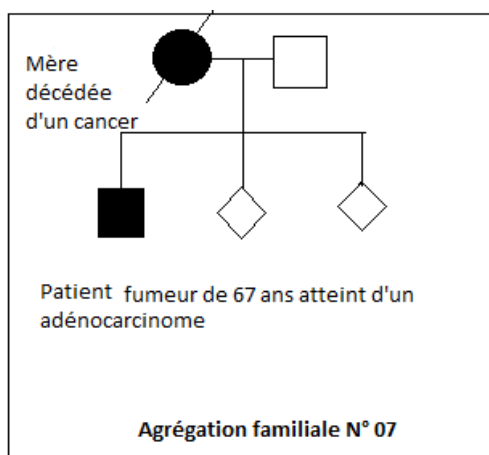
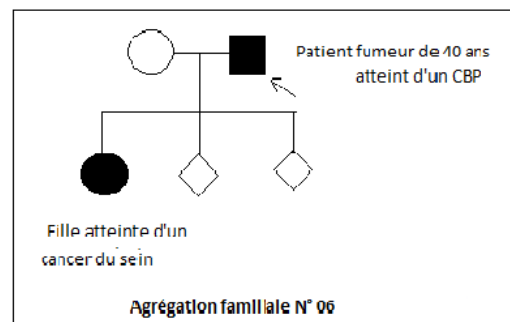
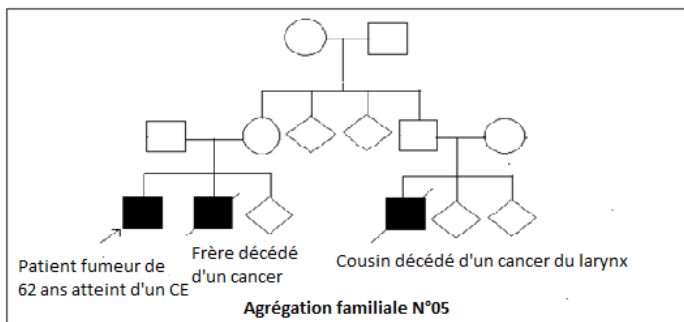
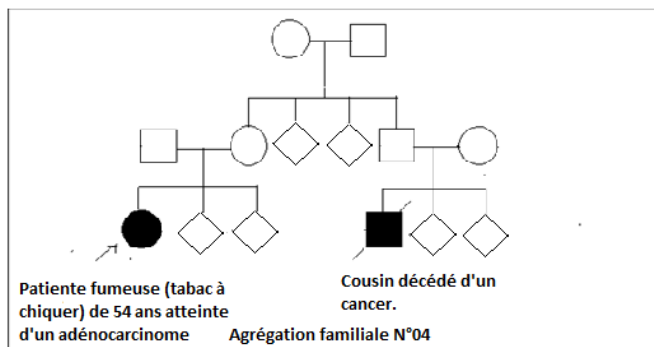
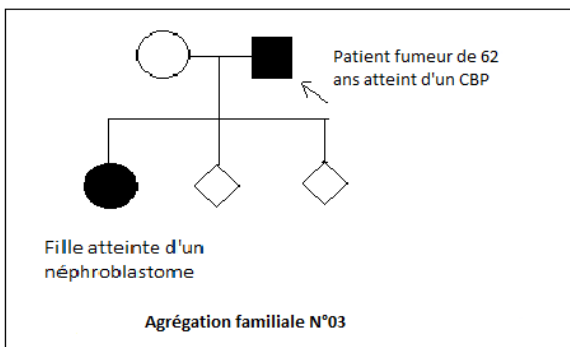
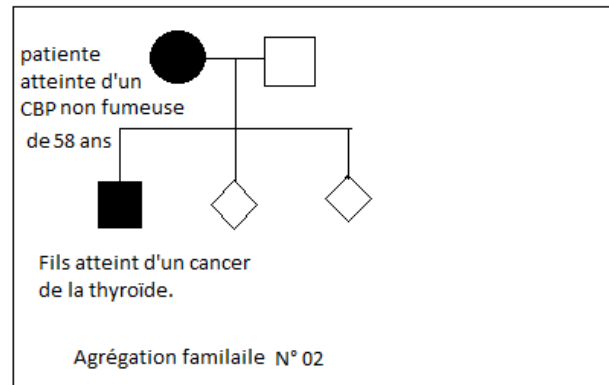
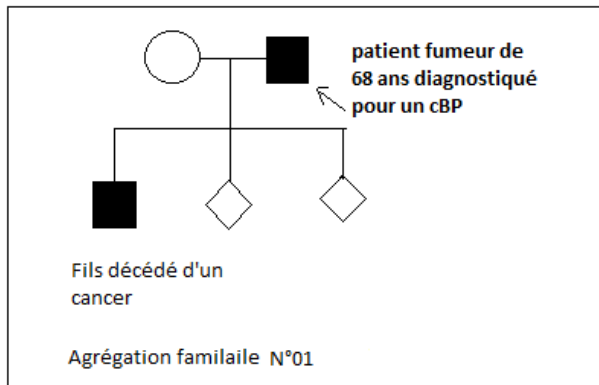
- Décongeler les leucocytes.
- Centrifuger pendant 15 min à 3900 rpm
- Dilacerer le culot de leucocytes soigneusement afin de les prendre complètement et les mettre dans un tube Falcon conique de 15 ml.
- Ajouter 3 ml de tampon de lyse (Na Cl 400 mM, EDTA 2mM, Tris 10mM, PH 8.2)
- Ajouter 200 µL de SDS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

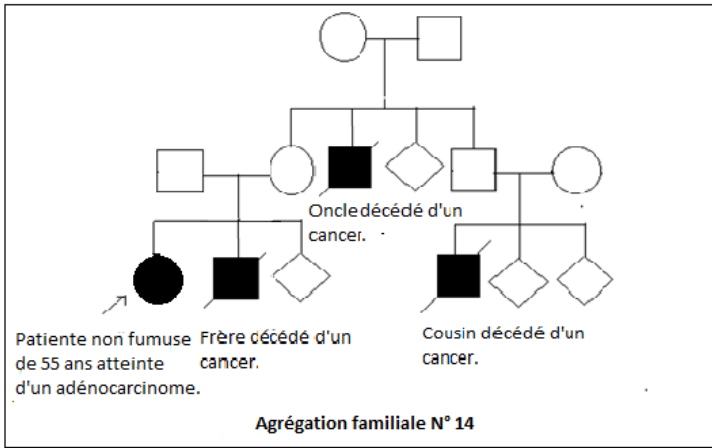
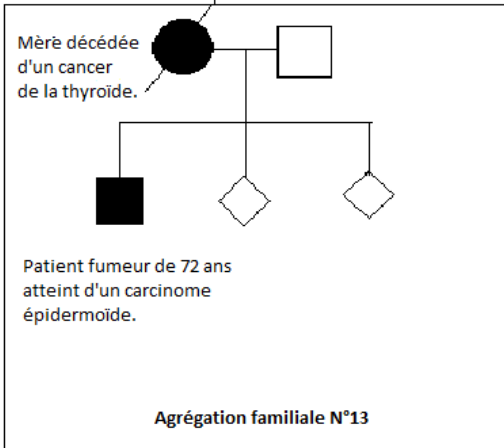
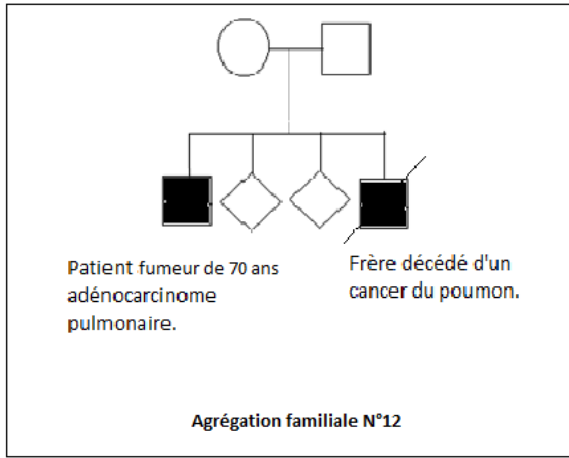
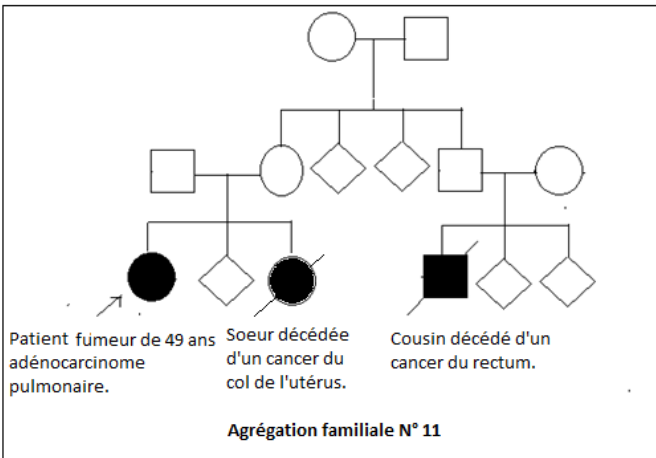
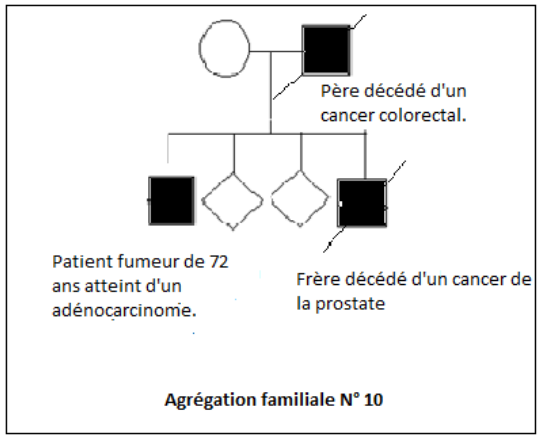
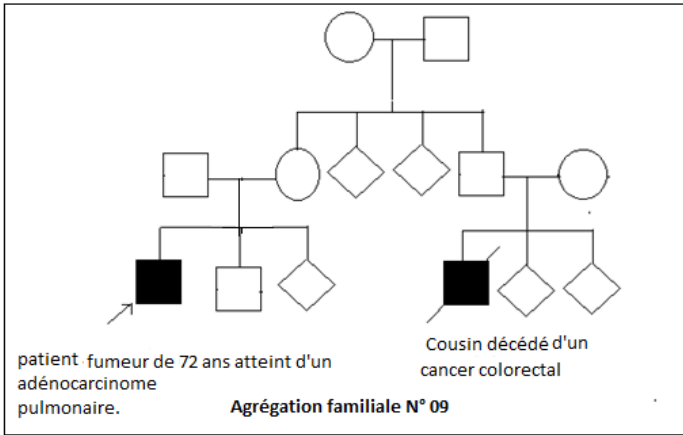
3. Solubilisation de l'ADN :

- 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).
- Pour la réextraction de l'ADN, dans le cas où il est contaminé (par des protéines ou par un ARN), ajouter à la solution d'ADN, 200 µl SDS et 200 µl PK, agiter et laisser dans la roue à une température de 37°C pendant 7 jours, puis déterminer la DO de cette ADN.

Annexe 09

Agrégations familiales de la population d'étude





RESUMES

المخلص

يعتبر سرطان الرئة عبئاً حقيقياً على الصحة العمومية في الجزائر. مسبباته البيئية الأكدية، ونخص بالذكر التدخين لا تلغي التركيبة الوراثية وارتباطها الوثيق بخطر الإصابة بهذا السرطان. في هذا السياق، ارتبطت العديد من الجينات بخطر الإصابة بسرطان الرئة. في العينة البحثية تواجدت الحالات العائلية بمعدل 21,25% ما قد يفسر بوراثة سائدة ذات إختراق غير مكتمل للإستعداد الوراثي الملحوظ، أو بتوارث بعض الطفرات الجنسية لبعض الجينات ذات صلة ببعض المتلازمات السرطانية الوراثية مثل متلازمة لي فرومني. للعلم لم يتوصل العلماء ليومنا هذا إلى تحديد الجينات المسؤولة عن الحالات الوراثية. تطرقنا في هذا البحث إلى الفروق النمطية الجينية بالنسبة للجينات CYP1A1 و GSTM1 و CHRNA5 من أجل إنشاء ارتباط محتمل بين هذه الأنماط الجينية وحدوث سرطان الرئة عند عينة من الشرق الجزائري. من أجل ذلك، أجرينا دراسة تحكم للمتغيرات الجينية التالية: (rs4646903) CYP1A1m1، GSTM1، و CHRNA5 rs16969968. شملت دراستنا 80 شخصاً تم تشخيص إصابتهم ب سرطان الرئة و85 شاهد يتمتعون بصحة جيدة، متطابقين مع المرضى حسب السن والجنس والتدخين، وشملت دراسة النمط الجيني CHRNA5 22مريضاً و51 شاهد. تم إجراء التنميط الجيني لتعدد الأشكال المختلفة بواسطة تقنية PCR-RFLP. تم إجراء مقارنة بين التكرارات الأليلية والأنماط الجينية بين المجموعتين من خلال حساب نسبة الأرجحية بفاصل ثقة 95%. أظهر التحليل الإحصائي عدم وجود فرق معنوي في توزيع الأليل والترددات الوراثية لتعدد الأشكال GSTM1 و CYP1A1، و CHRNA5 بين الحالات والضوابط ($p > 0.05$). في الختام، سيكون من المثير للاهتمام استكشاف الأشكال المتعددة الأخرى للجينات المرشحة من أجل التنبؤ بشكل أفضل بعلاقة هذه الجينات بسرطان الرئة في هذه المجموعة السكانية. سيكون من الضروري أيضاً توسيع العينة من أجل فهم أفضل لعلاقة هذه الأنماط الجينية بالاستعداد الوراثي لسرطان الرئة.

الكلمات الرئيسية: CYP1A1، GSTM1، الأنماط الجينية، CHRNA5، CBP.

Résumé

En Algérie, le cancer broncho-pulmonaire (CBP) est considéré comme un réel fardeau pour la santé publique. Son étiologie majoritairement environnementale n'exclut nullement l'association de la composante génétique avec le risque de développer ce cancer. Dans cet axe, de nombreux gènes ont été associés au risque de développer un CBP. Les agrégations familiales dans notre population étaient présentes à un taux de 21,25 %, ces dernières peuvent être compatibles avec une prédisposition génétique. Dans le présent travail, nous nous sommes focalisés sur les différences interindividuelles observées dans le métabolisme des xénobiotiques, particulièrement les polymorphismes génétiques CYP1A1, GSTM1 et CHRNA5 dans le but d'établir une éventuelle association entre ces polymorphismes génétiques et la survenue d'un CBP dans une population de l'Est Algérien. Pour cela nous avons entrepris une étude d'association cas/témoins portant sur les variants génétiques suivants : CYP1A1m1 (rs4646903), la délétion homozygote GSTM1, et le polymorphisme du gène CHRNA5 (rs16969968). Notre étude a porté sur 80 sujets diagnostiqués pour un CBP et 85 sujets contrôles en bonne santé apparente, appariés aux patients selon l'âge, le sexe et le statut tabagique, l'étude du troisième polymorphisme CHRNA5 a concerné 22 patients et 51 témoins sains. Le génotypage des différents polymorphismes a été réalisé par PCR-RFLP. La comparaison des fréquences alléliques et génotypiques entre les deux groupes a été établie par le calcul de l'odds ratio avec un intervalle de confiance à 95%. L'analyse statistique a montré qu'il n'existait aucune différence significative de distribution des fréquences alléliques et génotypiques des polymorphismes CYP1A1, GSTM1 et CHRNA5 entre les cas et les contrôles ($p > 0,05$). En conclusion, il serait intéressant d'explorer d'autres polymorphismes des gènes candidats afin de mieux prédire le déterminisme génétique du CBP dans cette population. L'élargissement de l'effectif serait aussi nécessaire afin de mieux cerner l'intervention de ces polymorphismes dans la prédisposition génétique aux cancers broncho-pulmonaires.

Mots clés : CYP1A1, GSTM1, polymorphisme, CHRNA5, CBP.

Abstract

In Algeria, lung cancer is considered as a real public health burden. Its predominantly environmental aetiology does not in any way exclude the association of the genetic component with the risk of developing this cancer. In this area, many genes have been associated with the risk of developing lung cancer. Familiar aggregations in our population were present at a rate of 21.25%, which may be consistent with a genetic predisposition. To date, the gene(s) involved in the occurrence of these familial forms remain unknown. In the present work, we focused on the interindividual differences observed in the metabolism of xenobiotics, particularly the genetic polymorphisms CYP1A1, GSTM1. On the other hand, we analyzed the influence of the polymorphism CHRNA5 on the risk of developing lung cancer, with the aim of establishing a possible association between these genetic polymorphisms and the occurrence of lung cancer in a population of Eastern Algeria. For this purpose we undertook a case-control association study on the following genetic variants: CYP1A1m1 (rs4646903), the homozygous deletion GSTM1, and the polymorphism of the CHRNA5 gene (rs16969968). Our study involved 80 subjects diagnosed with lung cancer and 85 control subjects in apparent good health, matched to patients according to age, gender and smoking status, the third polymorphism CHRNA5 involved 22 patients matched to 51 controls. Genotyping of the different polymorphisms was performed by PCR-RFLP. Comparison of allelic and genotypic frequencies between the two groups was established by calculating the odds ratio with a 95% confidence interval. Statistical analysis showed that there was no significant difference in the distribution of the allelic and genotypic frequencies of the polymorphisms CYP1A1, GSTM1 and CHRNA5 between cases and controls ($p>0.05$). In conclusion, it would be interesting to explore other polymorphisms of candidate genes in order to better predict the genetic determinism of lung cancer in this population. Expansion of the population would also be necessary to better understand the role of these polymorphisms in the genetic predisposition to bronchopulmonary cancers.

Key Words: CYP1A1, GSTM1, polymorphism, CHRNA5, lung cancer.

المخلص

يعتبر سرطان الرئة عبئاً حقيقياً على الصحة العمومية في الجزائر. مسبباته البيئية الأكيدة، ونقص بالذكر التدخين لا تلغي التركيبة الوراثية وارتباطها الوثيق بخطر الإصابة بهذا السرطان. في هذا السياق، ارتبطت العديد من الجينات بخطر الإصابة بسرطان الرئة. في العينة البحثية تواجده الحالات العائلية بمعدل % 21,25 ما قد يفسر بوراثية سائدة ذات إختراق غير مكتمل للإستعداد الوراثي الملحوظ أو بتوارث بعض الطفرات الجنسية لبعض الجينات ذات صلة ببعض المتلازمات السرطانية الوراثية مثل متلازمة لي فرومني. للعلم لم يتوصل العلماء ليومنا هذا إلى تحديد الجينات المسؤولة عن الحالات الوراثية بتطرقنا في هذا البحث إلى الفروق النمطية الجينية بالنسبة للجينات CYP1A1 و GSTM1 و CHRNA5 من أجل إنشاء ارتباط محتمل بين هذه الأنماط الجينية وحدث سرطان الرئة عند عينة من الشرق الجزائري. من أجل ذلك، أجرينا دراسة تحكم للمتغيرات الجينية التالية: (rs4646903) CYP1A1m1، GSTM1، و CHRNA5 (rs16969968). شملت دراستنا 80 شخصاً تم تشخيص إصابتهم ب سرطان الرئة و85 شاهد يتمتعون بصحة جيدة، متطابقين مع المرضى حسب السن والجنس والتدخين، وشملت دراسة النمط الجيني CHRNA5 22 مريضاً و51 شاهد. تم إجراء التنميط الجيني لتعدد الأشكال المختلفة بواسطة تقنية PCR-RFLP. تم إجراء مقارنة بين بين التكرارات الأليلية والأنماط الجينية بين المجموعتين من خلال حساب نسبة الأرجحية بفاصل ثقة 95%. أظهر التحليل الإحصائي عدم وجود فرق معنوي في توزيع الأليل والتكرارات الوراثية لتعدد الأشكال CYP1A1, GSTM1, و CHRNA5 بين الحالات والضوابط ($p > 0.05$). في الختام، سيكون من المثير للاهتمام استكشاف الأشكال المتعددة الأخرى للجينات المرشحة من أجل التنبؤ بشكل أفضل بعلاقة هذه الجينات بسرطان الرئة في هذه المجموعة السكانية. سيكون من الضروري أيضاً توسيع العينة من أجل فهم أفضل لعلاقة هذه الأنماط الجينية بالاستعداد الوراثي لسرطان الرئة.

الكلمات الرئيسية: CYP1A1، GSTM1، الأنماط الجينية، CHRNA5، CBP.

Résumé

En Algérie, le cancer broncho-pulmonaire (CBP) est considéré comme un réel fardeau pour la santé publique. Son étiologie majoritairement environnementale n'exclut nullement l'association de la composante génétique avec le risque de développer ce cancer. Dans cet axe, de nombreux gènes ont été associés au risque de développer un CBP. Les agrégations familiales dans notre population étaient présentes à un taux de 21,25 %, ces dernières peuvent être compatibles avec une prédisposition génétique. Dans le présent travail, nous nous sommes focalisés sur les différences interindividuelles observées dans le métabolisme des xénobiotiques, particulièrement les polymorphismes génétiques CYP1A1, GSTM1 et CHRNA5 dans le but d'établir une éventuelle association entre ces polymorphismes génétiques et la survenue d'un CBP dans une population de l'Est Algérien. Pour cela nous avons entrepris une étude d'association cas/témoins portant sur les variants génétiques suivants : CYP1A1m1 (rs4646903), la délétion homozygote GSTM1, et le polymorphisme du gène CHRNA5 (rs16969968). Notre étude a porté sur 80 sujets diagnostiqués pour un CBP et 85 sujets contrôles en bonne santé apparente, appariés aux patients selon l'âge, le sexe et le statut tabagique, l'étude du troisième polymorphisme CHRNA5 a concerné 22 patients et 51 témoins sains. Le génotypage des différents polymorphismes a été réalisé par PCR-RFLP. La comparaison des fréquences alléliques et génotypiques entre les deux groupes a été établie par le calcul de l'odds ratio avec un intervalle de confiance à 95%. L'analyse statistique a montré qu'il n'existait aucune différence significative de distribution des fréquences alléliques et génotypiques des polymorphismes CYP1A1, GSTM1 et CHRNA5 entre les cas et les contrôles ($p > 0,05$). En conclusion, il serait intéressant d'explorer d'autres polymorphismes des gènes candidats afin de mieux prédire le déterminisme génétique du CBP dans cette population. L'élargissement de l'effectif serait aussi nécessaire afin de mieux cerner l'intervention de ces polymorphismes dans la prédisposition génétique aux cancers broncho-pulmonaires.

Mots clés : CYP1A1, GSTM1, polymorphisme, CHRNA5, CBP.

Abstract

In Algeria, lung cancer is considered as a real public health burden. Its predominantly environmental aetiology does not in any way exclude the association of the genetic component with the risk of developing this cancer. In this area, many genes have been associated with the risk of developing lung cancer. Familiar aggregations in our population were present at a rate of 21.25%, which may be consistent with a genetic predisposition. To date, the gene(s) involved in the occurrence of these familial forms remain unknown. In the present work, we focused on the interindividual differences observed in the metabolism of xenobiotics, particularly the genetic polymorphisms CYP1A1, GSTM1. On the other hand, we analyzed the influence of the polymorphism CHRNA5 on the risk of developing lung cancer, with the aim of establishing a possible association between these genetic polymorphisms and the occurrence of lung cancer in a population of Eastern Algeria. For this purpose we undertook a case-control association study on the following genetic variants: CYP1A1m1 (rs4646903), the homozygous deletion GSTM1, and the polymorphism of the CHRNA5 gene (rs16969968). Our study involved 80 subjects diagnosed with lung cancer and 85 control subjects in apparent good health, matched to patients according to age, gender and smoking status, the third polymorphism CHRNA5 involved 22 patients matched to 51 controls. Genotyping of the different polymorphisms was performed by PCR-RFLP. Comparison of allelic and genotypic frequencies between the two groups was established by calculating the odds ratio with a 95% confidence interval. Statistical analysis showed that there was no significant difference in the distribution of the allelic and genotypic frequencies of the polymorphisms CYP1A1, GSTM1 and CHRNA5 between cases and controls ($p > 0.05$). In conclusion, it would be interesting to explore other polymorphisms of candidate genes in order to better predict the genetic determinism of lung cancer in this population. Expansion of the population would also be necessary to better understand the role of these polymorphisms in the genetic predisposition to bronchopulmonary cancers.

Key Words: CYP1A1, GSTM1, polymorphism, CHRNA5, lung cancer.