

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

UNIVERSITE ABOU-BAKR BELKAID TLEMCCEN

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

Laboratoires de recherche :

« Laboratoire de Biologie et Génétique Moléculaire. Université de Constantine »

« Laboratoire de valorisation des actions de l'Homme pour la protection de l'environnement et applications en santé publique. Université de Tlemcen »

Mémoire

En vue de l'obtention du

Diplôme de Magister en

« Génétique moléculaire des populations humaines »

Présenté par : BOUDOKHANE Ibtissem Mouna

Thème du mémoire

Etude de la relation entre le polymorphisme de la méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR), et la survenue d'un cancer broncho-pulmonaire primitif

Soutenu le.....

Devant le jury composé de :

Président	KHELIL Mohamed Anouar	Professeur	Université de Tlemcen
Encadreur	SATTA Dalila	Professeur	Université de Constantine
Examineur	AOUAR Amaria	M.C.A	Université de Tlemcen
Invitée	DALI YUCEF Majda	M.A.A	Université de Tlemcen

Année Universitaire : 2010/2011

Remerciements

Je tiens à exprimer mes profonds remerciements :

A Mon encadreur madame Dalila SATTI, à qui j'exprime mes sincères remerciements pour ses encouragements et ses conseils, et pour avoir été patiente et compréhensive tout au long de ma période d'encadrement.

A madame Amaria AOUAR mon co-encadreur à qui j'exprime tout mon respect et ma reconnaissance.

A monsieur Nouredine ABADI, professeur au laboratoire de biologie moléculaire au CHUC pour m'avoir accueillie dans son laboratoire.

A tout le personnel du laboratoire de biologie moléculaire CHUC

A madame Khadidja BOUDAOUËD, pour sa collaboration et pour l'intérêt qu'elle a porté à ce travail, tout mon profond respect madame.

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

A madame Katia BENDJEMANA pour son attention et son suivi.

A mademoiselle Moufida BENLATRECHE pour sa disponibilité, son soutien et ses conseils.

A madame Djalila REZGOUNE pour son aide précieuse et sa gentillesse.

Aux membres du jury, qui ont accepté d'évaluer mon travail.

A monsieur Anouar KHELIL pour avoir accepté de présider le jury, mes sincères remerciements monsieur

A madame Dali youcef pour sa participation au jury, et à qui j'exprime toute mon estime.

Ma profonde gratitude à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce travail

A mes très chers parents, pour toute l'attention, toute l'affection, et tout l'amour que vous m'avez donnés. Merci pour votre soutien. Que le tout puissant vous accorde une meilleure santé et une longue vie.

A mes deux frères. Trouvez ici l'expression de mon amour et ma gratitude. Je vous souhaite tout le succès et le bonheur du monde.

A la mémoire de mes grands parents maternels, symboles de bonté et de gentillesse. Que le tout puissant vous accueille en son vaste paradis.

A mes grands parents paternels. Je prie dieu qu'il vous prodigue santé et longue vie.

A toute la famille...trouvez ici toute ma reconnaissance et ma gratitude.

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

A tous ceux et toutes celles que j'aime : Cuppy Cake, Radia, Hadjer...je vous dédie ce travail en témoignage de mon attachement et mon amour, que dieu vous donne santé, bonheur et prospérité.

Je vous aime

Ibtissem

Sommaire

Abréviations

Liste des figures et tableaux

Introduction 1

Chapitre I: Synthèse bibliographique

I. Le carcinome du poumon 4

 1. Rappels anatomiques..... 4

 2. Définition 7

 3. Anatomie pathologique du cancer broncho-pulmonaire 11

 3.1. Les cancers bronchiques non à petites cellules (CBNPC)..... 14

3.1.1. Le cancer bronchique épidermoïd 14

 3.1.2. L'adénocarcinome bronchique 14

 3.1.3. L'épithélioma bronchique à grandes cellules..... 15

 3.1.4. Les carcinomes adénosquameux **Erreur ! Signet non défini.**6

 3.2. Cancers bronchiques à petites cellules (CBPC) 16

 4. Classification TNM 2009 (7^{ème} édition)..... 17

 5. Dépistage systématique 18

 6. Diagnostic clinique..... 18

II. Epidémiologie du cancer broncho-pulmonaire 19

 1. Epidémiologie descriptive..... 19

 1.1. Incidence et mortalité..... 19

 1.1.1. Dans le monde : 19

 1.1.2. En Algérie 20

 1.2. Distribution géographique..... 21

 1.3. Répartition histologique 21

 2. Epidémiologie analytique..... 22

2.1. Tabagisme.....	22
2.2. Facteurs professionnels.....	23
2.2.1. Amiante.....	23
2.2.2. Produits chimiques.....	24
2.3. Autres facteurs impliqués.....	24
2.3.1. Age.....	24
2.3.2. Sexe.....	24
2.3.3. Pathologie pulmonaire préexistante.....	25
2.3.4. Radiations.....	25
2.3.5. Pollution atmosphérique.....	25
2.3.6. Susceptibilité génétique au cancer du poumon.....	26
III. Susceptibilité génétique au cancer broncho-pulmonaire.....	27
1. Polymorphisme des gènes du métabolisme des xénobiotiques.....	27
1.1. Enzymes de phase I (monooxygénases à cytochrome P450).....	28
1.2. Variabilité d'expression des enzymes du métabolisme des xénobiotiques.....	29
1.2.1. Facteurs génétiques.....	29
1.2.2. Facteurs non génétiques.....	29
1.3. Association du polymorphisme des enzymes de détoxification au cancer.....	30
2. Polymorphisme de la Méthylènetétrahydrofolate Réductase MTHFR.....	32
2.1. Implication des folates dans la méthylation de l'ADN.....	33
2.2. Rôle de l'épigénétique en cancérogenèse moléculaire.....	35
2.3. Effet mutagène du déficit en folates.....	35
2.4. Polymorphisme du gène MTHFR.....	36
2.4.1. Polymorphismes de la MTHFR.....	38
2.4.2. La mutation C677T.....	38
2.5. Association entre MTHFR et cancer.....	39
2.6. Association entre polymorphisme MTHFR et cancer du poumon.....	40

Chapitre II : Etude expérimentale

I. Patients et méthodes.....	42
1. Questionnaire et enregistrement.....	42
2. L'étude histopathologique.....	42
3. Prélèvement sanguin	42
4. Extraction de l'ADN	42
4.1. Principe	42
4.2. Estimation de la concentration de l'ADN et contrôle de sa qualité	43
5. Génotypage de la MTHFR.....	44
5.1. PCR (Polymerase Chain Reaction).....	44
5.1.1. Préparation du milieu réactionnel (ou mix) de PCR.....	44
5.1.2. Déroulement des cycles de la PCR	44
5.1.3. Contrôle des produits de la PCR.....	44
5.2. Digestion des produits de PCR	45
5.2.1. Digestion par l'enzyme de restriction <i>Hinf</i> I.....	46
5.2.2. Conditions de migration.....	Erreur ! Signet non défini. 6
5.2.3. Profils RFLP obtenus	46
6. L'analyse statistique.....	47
II. Résultats et discussion.....	48
1. L'enquête statistique	48
1.1. Résultats	48
1.1.1. Aspect sociodémographique de la population malade et témoin.....	48
1.1.1.1. Sexe.....	49
1.1.1.2. Age	50
1.1.1.3. Profession.....	51
1.1.2. Habitudes toxiques.....	52

1.1.2.1. Tabagisme	52
1.1.2.2. Alcool.....	53
1.1.3. Aspect clinique.....	53
1.1.3.1. Type histologique.....	53
1.1.3.2. Antécédents familiaux.....	54
1.1.3.3. Pathologie pulmonaire préexistante	55
1.2. Discussion	56
2. L'étude moléculaire	58
2.1. Résultats	59
2.1.1. Répartition des fréquences génotypiques chez les cas et les témoins	59
2.1.2. Distribution mondiale du polymorphisme C677T	60
2.1.3. Répartition des fréquences alléliques chez les cas et les témoins.....	61
2.1.4. Fréquences alléliques de l'allèle T du gène <i>MTHFR</i> dans le mond.....	61
2.2. Discussion	62
Conclusion.....	65
Références bibliographiques.....	68
Annexes.....	75
Résumé en langue française.....	81
Résumé en langue anglaise.....	82
Résumé en langue arabe.....	83

Abréviations

AhR : Aryl Hydrocarbon receptor

ATCDTS F : Antécédents Familiaux

BaP: Benzo a Pyrène

BBP : Bleu de Bromophénol

BC: Bronchite Chronique

BET: Bromure d'Ethidium

CBNPC : Cancers Bronchiques Non à Petites cellules

CBPC : Cancers Bronchiques à Petites Cellules

CPC: Carcinoma à Petites Cellules

CYP450 : Cytochrome P450

DHF : Dihydrofolate.

GST: Glutathion S Transferase

HAP : Hydrocarbures aromatiques polycycliques

MS : Méthionine synthase/vitamine B12

MTHFR : Méthylènetétrahydrofolate réductase

NAT : N-acétyltransférases

PA : Paquet /Année

RFLP: Restriction Fragments Long Polymorphism

SAH: S-adénosyl-homocystéine

SAM: S-adénosyl-méthionine

SULT: Sulfotransférases

THF: Tétrahydrofolate

TS: Thymidylate synthase

TBCP: Tuberculose Pulmonaire

Liste des figures

Figure 1 : le système respiratoire

Figure 2 : Structure des poumons

Figure 3 : Développement du cancer broncho-pulmonaire

Figure 4 : Progression du cancer broncho-pulmonaire

Figure 5 : Histo-pathogenèse des carcinomes broncho-pulmonaires

Figure 6 : Schéma métabolique du BaP et déclenchement du cancer du poumon

Figure 7 : Métabolisme général des xénobiotiques

Figure 8 : Association du polymorphisme des CYP au cancer du poumon

Figure 9 : Cycle des folates

Figure 10: Relation entre MTHFR, méthylation d'ADN et cancer

Figure 11 : Localisation du gène de la MTHFR au niveau du premier chromosome humain

Figure 12 : Structure du gène de la MTHFR

Figure 13 : Représentation schématique de 41 mutations graves du gène MTHFR et de deux polymorphismes particulièrement étudiés

Figure 14 : Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose des produits de PCR

Figure 15 : Sex-ratio de la population malade

Figure 16 : Sex-ratio de la population témoin

Figure 17 : Répartition de la population malade en tranches d'âge

Figure 18 : répartition de la population témoin en tranches d'âge

Figure 19 : Répartition des malades en catégories socioprofessionnelles

Figure 20 : Répartition des malades selon le statut tabagique

Figure 21 : Répartition de la population malade selon le type histologique

Figure 22: Répartition des patients selon leurs antécédents familiaux

Figure 23 : Répartition des patients selon qu'ils possèdent ou pas une pathologie pulmonaire préexistante

Figure 24 : Profil de digestion par l'enzyme Hinf I des ADN des malades

Figure 25 : Répartition des fréquences génotypiques chez les cas et les témoins

Figure 26 : Fréquence des homozygotes TT pour différentes régions géographiques

Figure 27 : Répartition des fréquences alléliques chez les patients et les témoins

Liste des tableaux

Tableau I : Classification OMS 1999

Tableau II : Comparaison des taux d'incidence standardisés du cancer du poumon entre les différents registres algériens

Tableau III : Répartition mondiale du cancer du poumon

Tableau IV : Méta-analyses étudiant le lien entre polymorphisme *MTHFR* et cancer

Tableau V : Recrutement des patients au service d'onco-radiothérapie CHUC. (2005-2007)

Tableau VI : Répartition des malades selon le sexe

Tableau VII : Répartition des témoins selon le sexe

Tableau VIII : Répartition des patients en tranches d'âge

Tableau IX : Répartition des témoins en tranches d'âge

Tableau X : Répartition des malades en catégories socioprofessionnelles

Tableau XI: Répartition des malades selon leur statut tabagique

Tableau XII : Distribution des malades selon leurs types histologiques

Tableau XIII : Répartition des malades selon qu'ils possèdent ou pas une pathologie pulmonaire préexistante

Tableau XIV : Fréquences génotypiques chez les cas et les témoins

Tableau XV : Fréquences alléliques chez les cas et les témoins

Tableau XVI : Calcul des odds-ratio des sujets ayant un génotype TT,CT par rapport aux sujets ayant un génotype CC

Introduction

Improprement nommé « cancer du poumon », il est mieux désigné sous le terme du « cancer broncho-pulmonaire » car son siège initial est bronchique.

Quasiment inconnu au début du XX^{ème} siècle, le cancer du poumon est devenu au fil des années le premier cancer dans le monde, que l'on parle en termes d'incidence et de mortalité.

Avec plus de 700 000 nouveaux cas annuels, le cancer bronchique primitif est un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale. Premier cancer dans le monde, son incidence augmente annuellement de 1 à 5 % selon les pays (1).

Le cancer est la 2ème cause de mortalité dans les pays industrialisés, juste après les maladies cardiaques. Au sein des cancers le cancer bronchique a le triste privilège d'être à la fois en constante augmentation et en 1^{ère} position en termes de mortalité.

Les tendances épidémiologiques se modifient avec trois points principaux :

1. le cancer du poumon reste la première cause de mortalité par cancer dans le monde
2. l'incidence du cancer du poumon augmente chez la femme
3. l'incidence d'un type histologique particulier du cancer du poumon (adénocarcinome) augmente (2).

Le principal facteur de risque du cancer broncho-pulmonaire est sans aucun doute le *tabagisme*. Le rôle du tabac dans l'étiologie du cancer du poumon n'est plus à démontrer, néanmoins l'existence d'une composante génétique n'est pas à négliger ; dans la mesure où seulement 10 à 15 % des fumeurs développent un cancer du poumon, et où celui-ci peut s'observer chez des non fumeurs.

De nombreuses études ont été réalisées pour la compréhension des origines et des mécanismes génétiques du développement du cancer du poumon ; et c'est la phase d'initiation cancéreuse qui a généré le plus grand nombre d'études, qui se sont penchées sur trois importants mécanismes, à savoir ; le métabolisme des substances exogènes, la formation d'adduits et la réparation d'ADN.

Ainsi de nombreuses études ont mis en évidence le rôle du polymorphisme des gènes impliqués dans le métabolisme des substances exogènes dans la susceptibilité individuelle au risque de cancer du poumon ; la superfamille des cytochromes P450 reste la mieux étudiée. En effet, à niveau constant d'exposition à un carcinogène donné certains individus forment une quantité de métabolites toxiques plus importante que d'autres, modulant ainsi la quantité d'adduits formés, et la probabilité d'initier une cellule cancéreuse. Parmi les cytochromes les mieux étudiées, figure le *CYP1A1* ; impliqué dans le métabolisme des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP).

Un nombre restreint d'études se sont intéressées au métabolisme des folates (indirectement impliqué dans la réparation d'ADN), et plus particulièrement à la méthylènetétrahydrofolate réductase MTHFR ; enzyme clé de ce métabolisme, et indiquent que le polymorphisme C677T de la MTHFR pourrait être un facteur de risque de cancer du poumon.

La MTHFR est codée par un gène localisé au niveau du chromosome 1 en position 1p36 et dont la mutation la plus fréquente est la C677T, une telle mutation crée une enzyme thermolabile qui possède une activité réduite. La mutation a lieu en position 677 et transforme la base C en T, ceci a pour conséquence la formation d'un acide aminé : valine au lieu d'alanine en position 222 de la chaîne protéique. Cette mutation est reconnue dans quelques études comme étant un facteur de risque de cancer du poumon.

Afin de mettre en évidence une éventuelle association entre la mutation C677T du gène *MTHFR* et le cancer du poumon, nous avons à travers une étude cas-témoins tracé les objectifs suivants :

- Réaliser l'étude moléculaire du gène *MTHFR* sur les populations de malades et témoins.
- Etablir la fréquence du polymorphisme *MTHFR* chez les malades et les témoins
- Etablir une relation entre le polymorphisme en question et la survenue d'un cancer du poumon.

CHAPITRE I :
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Le carcinome du poumon

1. Rappels anatomiques

Le système respiratoire peut être divisé en deux parties. Les voies aériennes supérieures comptant la bouche, la cavité nasale, le pharynx et le larynx. Les voies aériennes inférieures : la trachée, les deux bronches souches, leurs branches et les poumons. Les voies inférieures sont également appelées partie thoracique du système respiratoire, parce qu'elles sont enfermées dans le thorax. Les poumons constituent la majeure partie de l'appareil respiratoire.

Les poumons

Situés dans la cage thoracique, ils sont séparés par le médiastin, région médiane thoracique qui contient le thymus, le cœur et ses vaisseaux, les nerfs phréniques, la trachée, l'œsophage, le canal thoracique, les nerfs pneumogastriques et des ganglions lymphatiques. Les poumons sont faits d'un tissu léger et spongieux dont le volume est principalement occupé par des espaces pleins d'air. Ces organes grossièrement en forme de cône remplissent presque totalement la cage thoracique, la base reposant sur les coupes diaphragmatiques. Des voies aériennes de conduction rigides-les bronches-mettent les poumons en relation avec la voie aérienne principale, la trachée (6).

La trachée

Un tube, de 10 à 12 cm de longueur, semi-flexible maintenu ouvert par 15 à 20 anneaux cartilagineux situé entre le larynx et les bronches (5). Au niveau de la bifurcation trachéale, qui correspond à la hauteur de la 4^e/5^e vertèbre thoracique, la trachée se partage en bronches principales : la bronche principale droite et la bronche principale gauche ; Comme la trachée, les bronches sont des tubes semi rigides contenant du cartilage (5).

Dans les poumons, les plus petites bronches se divisent pour devenir des bronchioles, petites voies qui peuvent être comprimées et dont la paroi est faite de muscle lisse. Les bronchioles continuent de se diviser jusqu'aux bronchioles respiratoires qui font la transition entre les voies aériennes et l'épithélium d'échange du poumon (5).

La trachée sert au transport de l'air inspiré et expiré. L'air sur son chemin à travers la trachée, est humidifié, réchauffé et purifié : il ne subit cependant aucun échange de gaz. Elle appartient ainsi à ce qui est connu sous le nom d'espace mort. Celui-ci s'étend de la trachée aux bronches terminales ; ce

n'est qu'au niveau des bronches respiratoires et des alvéoles que s'opèrent les échanges gazeux (5).

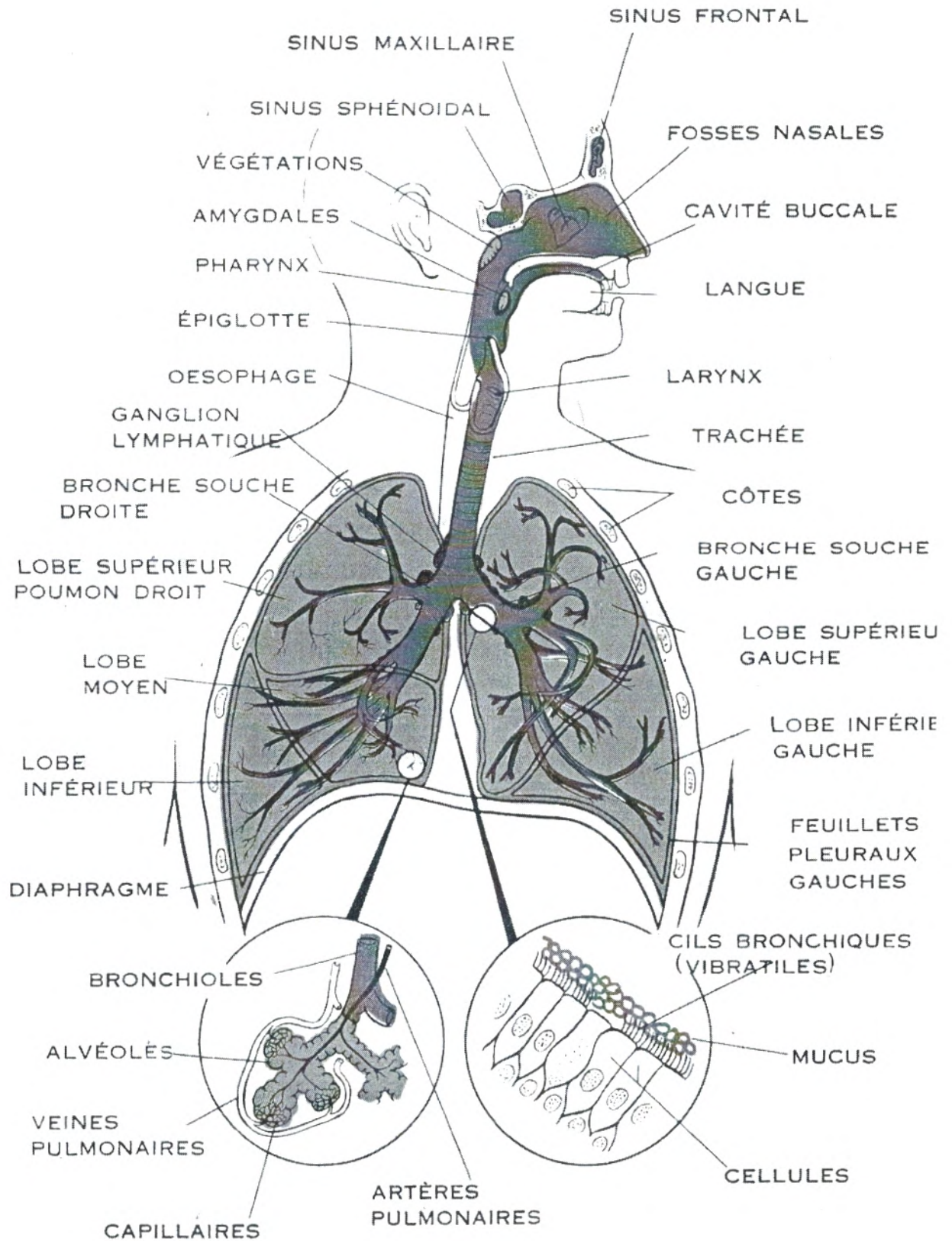


Figure 1 : le système respiratoire (4)

Chaque poumon est entouré d'un double sac pleural dont les feuillets recouvrent l'intérieur du thorax et la surface externe des poumons. Chaque plèvre a deux feuillets : le viscéral qui adhère à la surface externe, et le pariétal qui est accolé à la cage thoracique et au diaphragme. Chaque feuillet pleural ou plèvre, contient plusieurs couches de tissus conjonctifs élastiques et de nombreux capillaires. Les deux feuillets opposés de la plèvre sont collés ensemble par un film de liquide pleural très fin dont le volume total n'est que de quelques millimètres(6). La face médiastinale de chaque poumon présente une région, le hile, par laquelle entrent et sortent les bronches, les vaisseaux sanguins pulmonaires, les vaisseaux lymphatiques et les nerfs. La face médiastinale du poumon gauche présente une échancrure, l'incisure cardiaque, dans laquelle repose le cœur (7).

Les alvéoles pulmonaires

Sites des échanges gazeux, forment des grappes aux extrémités des bronchioles, représentent la plus grande partie du tissu pulmonaire. Chacun des fins alvéoles se compose d'une seule couche d'épithélium. On trouve deux types de cellules épithéliales dans les alvéoles en nombre à peu près égal, les plus petites mais les plus épaisses sont les cellules alvéolaires de type II ; elles synthétisent et sécrètent une substance chimique appelée surfactant. Le surfactant, se mélange à la fine couche de liquide de l'alvéole pour aider le poumon à se dilater pendant l'inspiration. Les cellules alvéolaires de type I, plus grandes sont très fines, si bien que les gaz peuvent diffuser rapidement au travers. Les fines parois des alvéoles ne contiennent pas de muscle car les fibres musculaires entraveraient la rapidité des échanges gazeux. Le tissu pulmonaire lui-même ne peut pas se contracter(5).

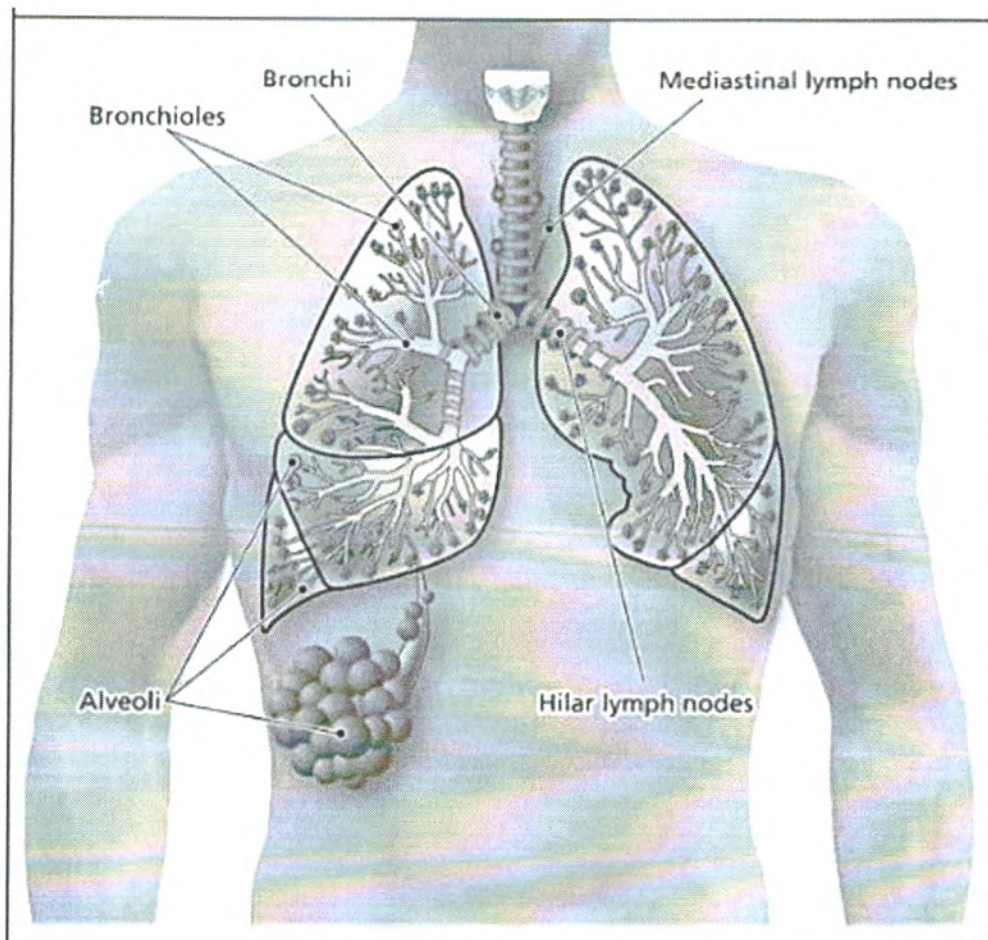


Figure 2 : Structure des poumons (86)

2. Définition

Le carcinome broncho-pulmonaire primitif est une tumeur maligne qui peut se développer à la jonction entre les bronches principales (localisation centrale) (3), dans une des bronches ou à la périphérie, dans les alvéoles pulmonaires. Cinquante pour cent des cancers du poumon ont un siège central c'est-à-dire en amont des bronches segmentaires (74). Les cellules cancéreuses peuvent migrer dans les ganglions lymphatiques voisins ou dans d'autres organes par le biais du système lymphatique (3).

Les cancers bronchiques se développent le plus souvent au niveau des bronches souches ou de leurs principales branches de division, à proximité du hile, et la tumeur progresse conduisant à l'invasion du poumon et des structures voisines (paroi, diaphragme, vaisseaux...). L'extension à la séreuse adjacente est à l'origine des pleurésies néoplasiques (3). Les cellules cancéreuses empruntant les vaisseaux lymphatiques (dissémination lymphatique), peuvent coloniser les ganglions lymphatiques intra-pulmonaires (N1), médiastinaux

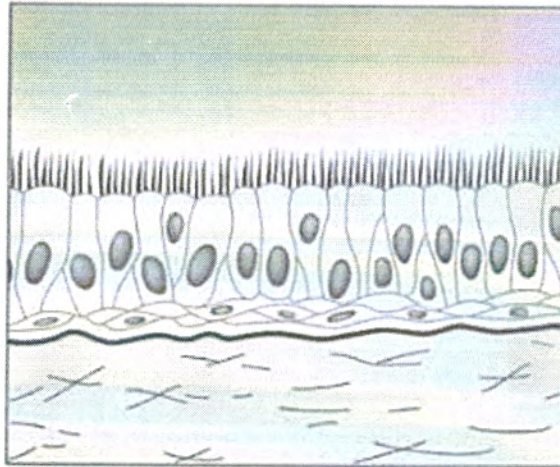
homolatéraux (N2) controlatéraux (N3). En empruntant les vaisseaux sanguins (dissémination hématogène) les cellules peuvent atteindre différents organes conduisant à des métastases (3) ; aux ganglions superclaviculaires, ainsi qu'au foie, à l'os et au cerveau et classiquement aux glandes surrénales(74).

Dans le cas des tumeurs centrales, les cellules cancéreuses se développent aux dépens de la muqueuse bronchique et fait saillie dans la lumière bronchique pouvant l'obstruer : ceci entraîne une atélectasie (ou collapsus) en aval du lobe pulmonaire normalement aéré par cette bronche. Dans ce lobe, l'air est résorbé, laissant place à une opacité systématisée : une atélectasie peut se surinfecter. Les symptômes des tumeurs centrales sont la toux, le wheezing, l'hémoptysie et la pneumonie (74).

Les tumeurs périphériques apparaissent comme des nodules arrondis ou spiculés, lorsqu'il existe un collapsus distalement à la tumeur, celui-ci beaucoup plus petit que celui que l'on observe lorsque la tumeur est centrale. Les tumeurs périphériques peuvent entraîner des douleurs thoraciques ou un syndrome de Pancoast –Tobias(74).

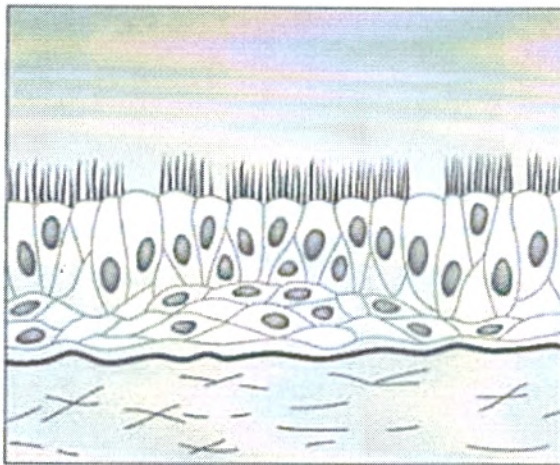
Un syndrome cave supérieur correspondant à une obstruction de la veine cave supérieure entraîne une distension veineuse et un œdème de la tête et du cou : une modification de la voix peut être liée à une atteinte du nerf récurrent : l'ensemble de ces anomalies sont les conséquences des tumeurs centrales. L'envahissement local du nerf phrénique peut entraîner une paralysie du diaphragme (74)

The development of lung cancer



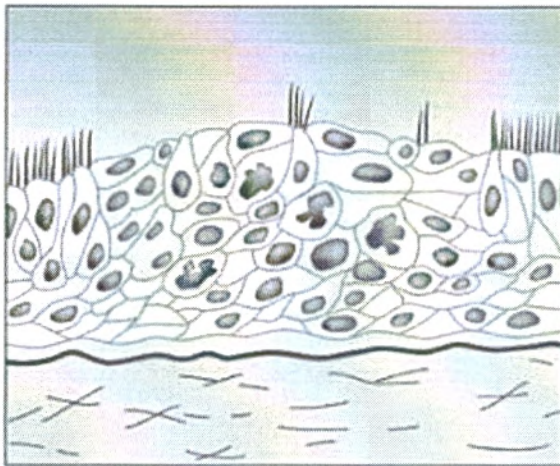
Healthy tissue

The cells that line the airways look like tall columns. Some secrete mucus, which traps harmful particles from the air. Others grow hair-like cilia, which sweep away debris.



Hyperplasia

Genetic damage has occurred. Cells begin to divide more rapidly than usual. At first, the new cells appear normal or close to normal.



Dysplasia

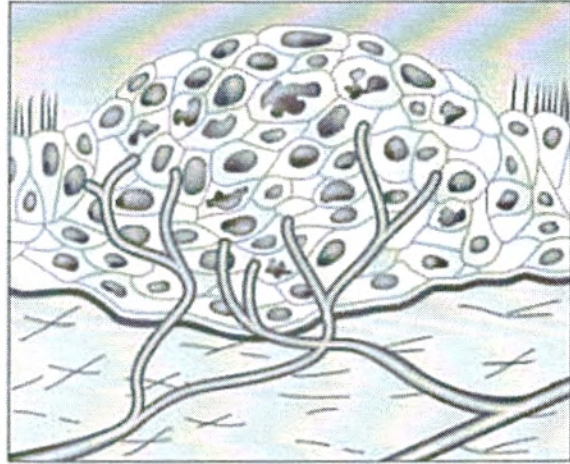
At this stage, cells have de-differentiated. New cells look less like healthy airway cells; some are flat and wide instead of tall and narrow. They may lack cilia, so they can't perform their normal protective functions.

Figure 3 : Développement du cancer broncho-pulmonaire (86)

Spread of Lung Cancer

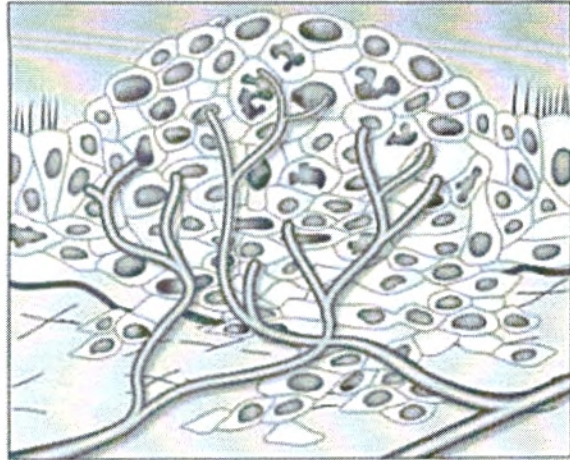
Tumor

Cells have become cancerous and have formed a tumor. Angiogenesis has begun: the tumor is developing a network of new blood vessels to sustain its growth. Depending on its location and size, the tumor may cause symptoms.



Invasive tumor

The cancer has spread beyond its original site. It may grow into the chest wall, the mediastinum (space between the lungs), or adjacent lobes of the lung.



Metastatic cancer

Cancerous cells have broken off and migrated elsewhere in the body via the bloodstream or lymphatic system. Lung cancer can travel to any organ, but it most often spreads to the bones, the brain, the liver, and the adrenal glands.

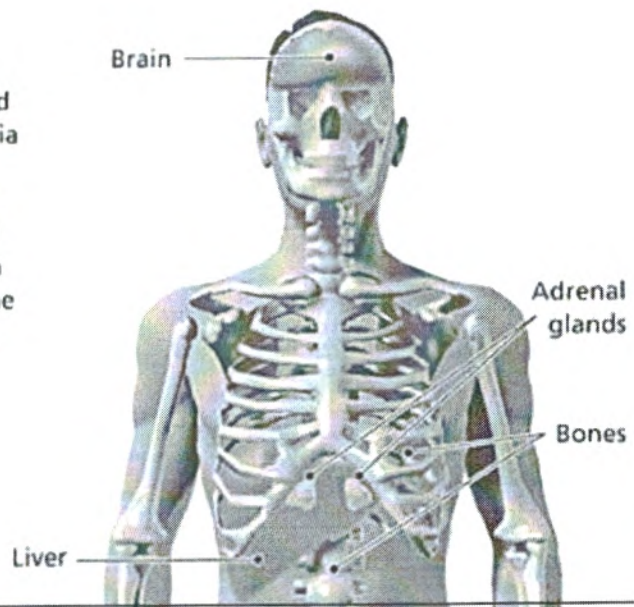


Figure 4 : Progression du cancer broncho-pulmonaire (86)

3. Anatomie pathologique du cancer broncho-pulmonaire

La première classification histologique des tumeurs du poumon remonte à 1967, éditée par l'OMS sous la direction du professeur L.Kreyberg, cette dernière a été révisée en 1981, puis une troisième classification paraissait en 1999 incluant les tumeurs du poumon et de la plèvre. Contrairement aux éditions (1967 et 1981) basées sur des critères morphologiques exclusifs, l'édition 1999 intègre les données immunohistochimiques et moléculaires récentes (8), (9), (10).

La définition anatomopathologique actuelle des différents types histologiques du cancer du poumon repose sur la classification adoptée conjointement en 1999 et réactualisée en 2004 par l'OMS et l'association internationale de l'étude du cancer du poumon (IASLC : International Association for the Study of Lung Cancer). Ses deux apports essentiels sont d'une part la reconnaissance de l'hétérogénéité histologique des cancers bronchiques, et d'autre part le démembrement des lésions précancéreuses en fonction de leur nature histologique diverse, dont la connaissance est essentielle dans la prévention des tumeurs pulmonaires.

Tableau I: Classification histologique internationale des cancers broncho-pulmonaires de l'OMS 2004 (9) (76)

Tumeurs

épithéliales malignes

- › Carcinome épidermoïde
 - Papillaire
 - A cellules claires
 - A petites cellules
 - Basaloïde
- › Carcinome à petites cellules
- › Carcinome à petites cellules combiné
- › Adénocarcinome
 - Adénocarcinome sous-type mixte
- › Adénocarcinome acineux
 - Adénocarcinome papillaire
 - Carcinome bronchioloalvéolaire
 - Non-mucineux
 - Mucineux
 - Mixte mucineux et non-mucineux ou indéterminé
 - Adénocarcinome solide avec formation de mucine
 - Adénocarcinome fœtal
 - Adénocarcinome mucineux (colloïde)
 - Cystadénocarcinome mucineux
 - Adénocarcinome à cellules indépendantes
 - Adénocarcinome à cellules claires
- › Carcinome à grandes cellules
 - Carcinome neuroendocrine à grandes cellules
 - Carcinome neuroendocrine à grandes cellules combiné
 - Carcinome basaloïde
 - Carcinome de type lymphoépithélial
 - Carcinome à cellules claires
 - Carcinome à grandes cellules avec phénotype rhabdoïde
- › Carcinome adénosquameux
- › Carcinome sarcomatoïde
 - Carcinome pléomorphe
 - Carcinome à cellules fusiformes
 - Carcinome à cellules géantes
 - Carcinosarcome
- › Blastome pulmonaire
- › Tumeur carcinoïde
 - Carcinoïde typique
 - Carcinoïde atypique
- › Carcinome de type carcinome des glandes salivaires
 - Carcinome mucoépidermoïde
 - Carcinome adénoïde kystique
 - Carcinome épithélial-myoépithélial

Lésions pré-invasives

- › Carcinome épidermoïde *in situ*
- › Hyperplasie adénomateuse atypique
- › Hyperplasie diffuse idiopathique des cellules neuroendocrines

Tumeurs épithéliales bénignes

- › Papillomes
 - Papillome malpighien
 - Exophytique
 - Inversé
 - Papillome glandulaire
 - Papillome mixte malpighien et glandulaire
- › Adénomes
 - Adénome alvéolaire
 - Adénome papillaire
 - Adénome de type glande salivaire
 - Adénome des glandes muqueuses
 - Adénome pléomorphe
 - Autres
 - Cystadénome mucineux

Tumeurs mésenchymateuses

- › Hémangioendothéliome épithélioïde
- › Angiosarcome
- › Blastome pleuropulmonaire
- › Chondrome
- › Tumeur myofibroblastique péribronchique congénitale
- › Lymphangiomatose diffuse pulmonaire
- › Tumeur myofibroblastique inflammatoire
- › Lymphangioléiomyomatose
- › Sarcome synovial
 - Monophasique
 - Biphaseique
- › Sarcome de l'artère pulmonaire
- › Sarcome de la veine pulmonaire

Tumeurs lymphoprolifératives

- › Lymphome B de la zone marginale de type MALT
- › Lymphome B diffus à grandes cellules
- › Granulomatose lymphomatoïde
- › Histiocytose langerhansienne

Tumeurs rares

- › Hamartome
- › Hémangiome sclérosant
- › Tumeur à cellules claires
- › Tumeurs germinales
 - Tératome mature
 - Tératome immature
 - Autres tumeurs germinales
- › Thymome intra-pulmonaire
- › Mélanome

Tumeurs métastatiques

Les cancers broncho-pulmonaires sont classés d'une manière générale en deux grandes catégories, les cancers bronchiques non à petites cellules (CBNPC) qui représentent 75 à 80 %, et les cancers bronchiques à petites cellules (CBPC) 20 à 25 %(11).

3.1. Les cancers bronchiques non à petites cellules (CBNPC)

3.1.1. Le cancer bronchique épidermoïde

Le carcinome épidermoïde, forme la plus courante de cancer primitif broncho-pulmonaire, débute en général au niveau des bronches souches ou de leurs principales branches de division, à proximité du hile et souvent sur une zone épithéliale déjà modifiée par une métaplasie malpighienne, due par exemple au tabac. C'est une tumeur maligne épithéliale qui se localise préférentiellement dans une bronche lobaire ou segmentaire et se présente volontiers sous la forme d'une tumeur végétante en "chou-fleur" obstruant plus ou moins la lumière bronchique. En même temps que la tumeur progresse dans la lumière bronchique elle envahit la sous-muqueuse et le tissu péribronchique. Les masses pulmonaires périphériques sont beaucoup plus rares. Lorsque la tumeur est périphérique une nécrose centrale est habituelle ; lorsque la tumeur est proximale il s'y associe une pneumonie obstructive. Histologiquement Le degré de différenciation de cette tumeur varie considérablement, d'un côté il en est de très bien différenciés kératinisants, où l'on reconnaît les principaux aspects d'un épithélium malpighien. Et où il existe quelques foyers évidents de kératinisation (75) ; ponts intercellulaires, de kératinisation et par la formation de "perles" cornées(11). A l'autre côté du spectre se trouvent les tumeurs peu différenciées dont le caractère malpighien ne peut être affirmé qu'à fort grossissement sur l'existence de ponts d'union intercellulaires. Certaines tumeurs sont si peu différenciées que leur type malpighien ne peut être déterminé en microscopie optique ; on les classe souvent comme carcinomes à grandes cellules non différenciés (75). L'ultrastructure des formes bien différenciées comporte des cellules à cytoplasme abondant avec un réticulum endoplasmique, un appareil de Golgi et des mitochondries peu importants mais des ribosomes et des filaments intermédiaires abondants. Ces derniers s'agrègent volontiers pour former des desmosomes. En immunohistochimie le marquage pour les cytokératines de haut poids moléculaire, et pour l'Epidermal Growth Factor (EGF) est fréquemment positif(11)

3.1.2. L'adénocarcinome bronchique

Les adénocarcinomes naissent habituellement plus en périphérie du poumon, dans les petites bronches et les bronchioles, avec une prédilection particulière pour les cicatrices fibreuses anciennes (post- tuberculeuses par exemple). C'est une tumeur maligne épithéliale d'architecture glandulaire pouvant produire de la mucine, divisé en 5 sous-groupes histologiques : acineux, papillaire, bronchiolo-alvéolaire, et carcinome solide avec formation de mucine, et mixte.

Acineux : les cellules tumorales forment de petits amas au sein desquels on retrouve de petites cavités. Il existe une stroma-réaction fibreuse.

Papillaire : les cellules tumorales recouvrent des expansions conjonctives en doigt de gant appelées papilles qui sont situées dans des cavités creusées dans des massifs tumoraux.

Solide à sécrétion mucineuse : les cellules tumorales sont disposées en nappes ou en massifs sans agencement particulier dans un stroma fibreux.

Bronchiolo-alvéolaire (pur, non-invasif) : dans cette forme, les cellules tumorales tapissent les parois alvéolaires en respectant l'architecture globale du tissu pulmonaire(12) sans envahir le stroma, ni la plèvre ou les vaisseaux adjacents. Ce sous type a un meilleur pronostic dans sa forme localisée. Il s'agit là du seul vrai cancer du poumon et c'est la forme histologique la moins en relation directe avec le tabagisme(12).

Mixte : combinaison de plusieurs sous types histologiques.

L'adénocarcinome bronchique pose surtout problème de sa nature primitive ou secondaire. L'examen histologique ne permet pas de trancher, seule l'absence de cancer primitif détectable cliniquement et par les examens complémentaires, permet d'éliminer une métastase d'un adénocarcinome thyroïdien, rénal, mammaire ou digestif(11).

3.1.3. L'épithélioma bronchique à grandes cellules

Est essentiellement un diagnostic d'exclusion et s'applique aux tumeurs qui n'ont pas l'aspect d'un cancer bronchique à petites cellules et qui n'ont ni différenciation épidermoïde ni différenciation glandulaire. La proportion d'épithélioma à grandes cellules varie donc largement selon le degré de sophistication des colorations et des techniques anatomo-pathologiques et selon la quantité de tissu disponible pour le diagnostic. Il s'agit en général de tumeurs périphériques volumineuses. Histologiquement les tumeurs consistent en des nappes de cellules contenant un cytoplasme éosinophile abondant(11). On n'observe aucun signe de kératinisation, et il n'existe ni ponts d'union intercellulaires, ni mucus intracytoplasmiques (75)

Ses formes variantes sont

- Carcinome neuroendocrine à grandes cellules
- Carcinome basaloïde dans sa forme pure
- Lymphoépithélial like
- Carcinome à cellules claires
- Carcinome à grandes cellules de phénotype rhabdoïde (11)

3.1.4. Les carcinomes adénosquameux

Ils sont très rares surtout si l'analyse est faite en microscopie optique. Si on se fonde sur la microscopie électronique, la fréquence peut aller jusque 40 %.

3.2. Cancers bronchiques à petites cellules (CBPC)

Les carcinomes à petites cellules représentent une entité à part du fait de leur plus grande agressivité et de leur chimiosensibilité(13). Le cancer bronchique à petites cellules est une tumeur épithéliale maligne caractérisée par des cellules de petite taille à cytoplasme réduit, des limites cytoplasmiques mal définies, une chromatine nucléaire dense finement granuleuse, l'absence de nucléole visible. Les cellules sont rondes, ovales ou d'aspect fusiforme(14).

Il se localise généralement près des voies aériennes proximales, et s'étend dans la sous-muqueuse et les tissus de connexion. L'extension endobronchique est ici beaucoup plus rare et lorsqu'il existe une obstruction bronchique elle est généralement due à une compression extrinsèque. L'invasion des vaisseaux et des lymphatiques est très précoce et les relais ganglionnaires hilaires et médiastinaux sont inévitablement envahis(11).

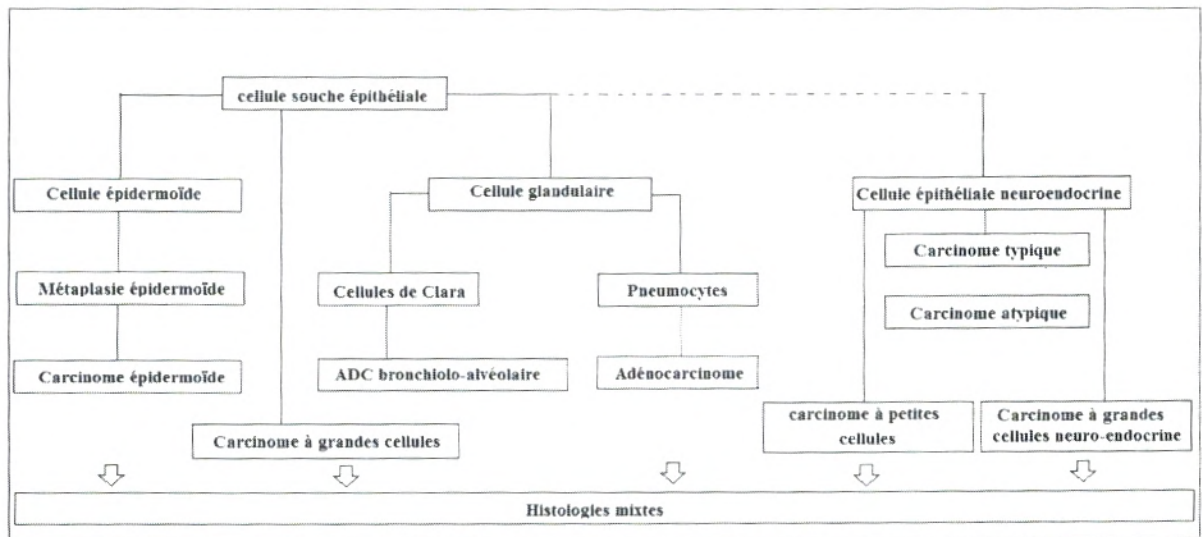


Figure 5 : Histo-pathogénèse des carcinomes broncho-pulmonaires (15)

4. Classification TNM 2009 (7^{ème} édition) (76)

Tumeur primitive T

- **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 in situ
- **T1** Tumeur ≤ 3 cm dans sa plus grande dimension, entourée par le poumon ou la plèvre viscérale, sans évidence bronchoscopique d'invasion de la bronche souche
 - **T1a** Tumeur ≤ 2 cm dans sa plus grande dimension
 - **T1b** Tumeur de plus de 2 cm sans dépasser 3 cm dans sa plus grande dimension
- **T2** Tumeur de plus de 3 cm sans dépasser 7 cm dans sa plus grande dimension ou présentant une des caractéristiques suivantes :
 - atteinte de la bronche souche à 2 cm ou plus de la carène
 - invasion de la plèvre viscérale
 - présence d'une atelectasie ou d'une pneumopathie obstructive s'étendant à la région hilare sans atteindre le poumon complet
 - **T2a** Tumeur de plus de 3 cm sans dépasser 5 cm dans sa plus grande dimension
 - **T2b** Tumeur de plus de 5 cm sans dépasser 7 cm dans sa plus grande dimension
- **T3** Tumeur de plus de 7 cm ; ou envahissant directement une des structures suivantes : la paroi thoracique, le diaphragme, le nerf phrénique, la plèvre médiastinale, pleurale ou pariétale ou le péricarde ; ou une tumeur dans la bronche souche à moins de 2 cm de la carène sans l'envahir ; ou associée à une atelectasie ou une pneumopathie obstructive du poumon entier ; ou présence d'un nodule tumoral distinct dans le même lobe
- **T4** Tumeur de toute taille envahissant directement une des structures suivantes : médiastin, cœur, gros vaisseaux, trachée, nerf laryngé récurrent, œsophage, corps vertébral, carène ; ou présence d'un nodule tumoral distinct dans un autre lobe du poumon atteint

Adénopathies régionales (N)

- **NX** les ganglions régionaux ne peuvent 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 carinaires
- **N3** métastase(s) dans les ganglions lymphatiques médiastinaux controlatéraux, hilaires controlatéraux, scalènes ou sous-claviculaires homo ou controlatéraux.

Métastases à distance (M)

M La présence de métastase(s) à distance ne peut être évaluée.

X

M Absence de métastase à distance

0

M Présence de métastase (s) à distance

1

- nodule(s) tumoral distinct dans un lobe controlatéral ; tumeur avec nodules pleuraux ou épanchement pleural (ou péricardique) malin

M

1a

M métastase à distance.

1b

5. Dépistage systématique

Il s'adresse à des groupes de populations ciblées :

- Les sujets tabagiques : deux facteurs sont déterminants : la quantité de paquets de cigarettes fumés journallement et l'âge de début du tabagisme ; on définit ainsi le score « paquets-année »
- Les groupes professionnels à risques (77).

L'avenir du dépistage précoce du cancer broncho-pulmonaire réside dans les nouvelles techniques de fluorescence ou de colorimétrie endobronchique pour dépister les zones de dysplasie et de métaplasie bronchiques, qui sont des stades précancéreux(77).

6. Diagnostic clinique

Il doit être évoqué devant une multitude de signes et de situations cliniques. Des examens complémentaires suivront en faisant appels d'abord à

un bilan d'imagerie, puis vient l'étape de certitude diagnostique qui fait appel à la cytologie sur crachats et à la broncho-fibroscopie avec aspiration ; au lavage broncho-alvéolaire ; au brosseage dirigé ; à la biopsie bronchique ; à la ponction transthoracique sous échographie ou sous scanner ; à la biopsie ou à la ponction transbronchique d'une adénopathie(77).

II. Epidémiologie du cancer broncho-pulmonaire

Malgré une consommation importante de tabac, le cancer du poumon, était une maladie exponentielle à l'orée du XXe siècle. C'est vers les années 1930 que l'incidence du cancer du poumon, et son corollaire immédiat la mortalité ont commencé à entreprendre une croissance de type exponentiel qui a culminé dans la seconde moitié du siècle lorsque ce cancer est devenu la cause première de décès par cancer chez l'homme (16).

C'est également à ce moment que l'épidémie est apparue chez la femme, devenant -du moins dans certains pays la première cause de mortalité par cancer dans le sexe féminin. Cependant, l'épidémie féminine semble devoir connaître un pic moins élevé car le tabagisme des femmes n'a jamais atteint la prévalence qu'il a connu chez l'homme(16).

Le cancer broncho pulmonaire constitue la première cause de mortalité par cancer dans le monde. L'incidence et la prévalence de la maladie sont proches ce qui témoigne du pronostic désastreux de cette maladie. Le cancer broncho-pulmonaire, est donc un véritable problème de santé publique. Paradoxalement, une de ses particularités est d'être accessible à la prévention puisque son principal facteur de risque, le tabagisme est identifié (16).

1. Epidémiologie descriptive

1.1. Incidence et mortalité

1.1.1. Dans le monde :

Bien qu'il n'existe pas de registres de cancers dans de nombreuses régions du monde, particulièrement dans les pays en voie de développement, il en ressort des estimations faites à partir des données de mortalité et/ou des données d'incidence.

D'après les données de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS.2004) le cancer le plus fréquent dans le monde, aussi bien pour les pays considérés comme développés que pour ceux en voie de développement est le cancer du poumon (17). Dès 1985, le cancer du poumon a conquis cette place (18) devançant celui qui fut longtemps en première position, à savoir le cancer de l'estomac (19).

Un million deux cent mille nouveaux patients ont été atteints de cancer broncho-pulmonaire primitif au cours de l'année 2000 dans le monde (20) ; soit 12,3% de l'ensemble des cancers) ou la mortalité (1,1 million, ce qui correspond à 17,8 % de la mortalité par cancer dans le monde). Le rapport mortalité/incidence est donc égal à 0,9, ce qui reflète la gravité de cette tumeur. Il devance le cancer du sein (1,05 million de cas incidents mais, seulement 373 000 décès), le cancer du côlon/rectum (945 000 nouveaux cas, 492 000 décès), tandis que le cancer de l'estomac n'est plus que le quatrième de la liste (876 000 nouveaux cas, 647 000 décès) (21).

Lancée par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC), organe dépendant de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), la base de données Globocan 2008 estime ; Le cancer du poumon est le cancer le plus diagnostiqué avec plus de 1,6 million de nouveaux cas en 2008, soit 12,7% de l'ensemble des cancers. Suivent le cancer du sein (près de 1,4 million de nouveaux cas), le cancer colorectal (plus de 1,2 million de cas), les cancers de l'estomac (près de 1 million de cas) et de la prostate (plus de 900 000 cas). Le cancer du poumon est également le cancer qui tue le plus de patients. Ainsi, près de 1,4 million de patients sont décédés suite à un cancer du poumon en 2008, soit plus de 18% de l'ensemble des décès par cancer. Suivent les cancers de l'estomac (près de 740 000 décès) et du foie (près de 700 000 décès), le cancer colorectal (plus de 600 000) et le cancer du sein (plus de 450 000) (22). L'incidence de ce cancer ne cesse d'augmenter chaque année avec un taux d'accroissement de l'ordre de 3% par an, le plus élevé de toutes les affections néoplasiques (20). Près de 60 % des cas incidents de cancer broncho-pulmonaire surviennent dans les pays industrialisés. Le cancer bronchique occupe ainsi la première place en termes de prévalence et de mortalité chez l'homme en Europe, Amérique du Nord, les Caraïbes, l'Amérique du Sud, l'Australie, la Nouvelle-Zélande et l'Asie du Sud-Est(20).

1.1.2. En Algérie

Le cancer du poumon est en nette progression en Algérie depuis les années 1980 ; on note une augmentation de 50 % de 1986 à 2000(10). Actuellement, toutes les données d'incidence disponibles sont établies à partir des registres du cancer mis en place au centre, à l'Est, et à l'ouest du pays et des données de l'enquête nationale sur l'incidence et la prévalence des cancers.

Tableau II : Comparaison des taux d'incidence standardisés du cancer du poumon entre les différents registres algériens (24)

Registre	Période	Poumon	
		%	Taux standardisés
Alger	2004	17.6	25.8
Sétif	1996-2005	17.3	17.1
Oran	2001	17.4	29.5

En 2002 il a été estimé 22 772 nouveaux cas de cancers diagnostiqués (23) Selon la même source ; le cancer du poumon occupe la première place chez l'homme avec 1681 cas, Il représente 12.3 % de l'ensemble des cancers masculins (23), il occupe la troisième position ; après celui du sein et du colorectum chez les deux sexes confondus avec 1921 cas, représentant 6.6 % de l'ensemble des cancers (23). Il occupe la première position pour les trois registres du cancer 2004(oran, sétif, alger) (24)

Chez l'homme les cancers liés au tabagisme (cancers du poumon et de la vessie) et les cancers digestifs (cancers colorectaux et de l'estomac) dominent la pathologie masculine, constituant à eux seuls 44.5 % des cancers masculins(23).

Au service d'onco-radiothérapie du CHU de Constantine, durant la période (2005-2007), les cancers du poumon représentaient 5 % du recrutement total. Les cancers bronchiques non à petites cellules représentent 84 % des cancers bronchiques. Les formes localement avancés ou métastatiques représentent 80 %(3).

1.2. Distribution géographique

Près de 60 % des cas incidents de cancer broncho-pulmonaire surviennent dans les pays industrialisés. Le cancer du poumon montre des variations régionales importantes. Schématiquement, il est actuellement plus fréquent dans les pays développés en particulier Amérique du nord et Europe, tandis qu'il est moins répandu dans les zones en développement, essentiellement Afrique et Amérique du sud (25).

Tableau III : Répartition mondiale du cancer du poumon (25)

Région	Chiffres
Asie de l'Est	38 %
Europe	18 %
Amérique du Nord	16 %
Europe de l'Est	12 %
Europe de l'Ouest	6 %

1.3. Répartition histologique

Les carcinomes épidermoïdes, les carcinomes indifférenciés à grandes cellules, les adénocarcinomes et les cancers à petites cellules représentent la quasi-totalité des cancers bronchiques. L'utilisation des cigarettes entraîne une inhalation plus profonde de la fumée de tabac, qui atteindrait ainsi des cibles bronchiolaires et alvéolaires où se développent préférentiellement les adénocarcinomes (26).

2. Epidémiologie analytique

2.1. Tabagisme

Depuis les premières études épidémiologiques publiées dans les années 50, des centaines de travaux effectués dans de nombreux pays ont confirmé le rôle pathogène –et tout spécialement cancérigène- du tabac. Or le tabac était pourtant largement utilisé depuis des siècles sans que ne soient observés de cancers du poumon. C'est la mise au point à la fin du XIX siècle de machines permettant la production industrielle de cigarettes aux propriétés addictives qui a permis le développement de l'épidémie ; on estime aujourd'hui qu'un fumeur sur deux meurt d'une maladie liée au tabac(16).

La fumée de cigarette est un mélange complexe de près de 4000 éléments, dont une soixantaine ont été reconnus cancérigènes pour l'homme (16). Les composants cancérigènes les plus puissants sont les hydrocarbures polycycliques aromatiques HAP (classiquement assimilés aux « goudrons » et parmi lesquels on trouve le fameux benzo-a-pyrène, les N-nitrosamines et les amines aromatiques : d'autres éléments sont plus abondants comme les

aldéhydes et d'autres composés volatils organiques tels le benzène et le butadiène, de même la présence de composés inorganiques (tels que le nickel, le chrome, le cadmium, le polonium-210 l'arsenic ou l'hydrazine) est notée. La nicotine est le médiateur de la dépendance au tabagisme, mais elle n'est pas en elle-même cancérigène, c'est l'association à la nicotine des produits cancérigènes que refferme la fumée (sans oublier le monoxyde de carbone et les divers produits irritants) qui rend son inhalation dangereuse et explique le lien entre la nicotine et le cancer du poumon (16).

Le benzopyrène reste l'un des cancérigènes les plus nocifs du tabac, beaucoup moins mutagène et cancérogène que son métabolite, le diol époxyde, les réactions de son métabolisme sont sous la dépendance d'enzymes dont le niveau d'activité est génétiquement déterminé. Son métabolisme et ses conséquences pour le cancer du poumon sont résumés dans la figure 6 (27).

Contrairement à ce que l'on imaginerait, ce n'est pas la quantité cumulée de cigarettes qui est importante pour le risque d'apparition d'un cancer du poumon mais plutôt la durée du tabagisme (29). A côté du tabagisme dit « actif », il faut tenir compte du tabagisme dit passif mis en évidence seulement à partir de 1981(30). Les sujets soumis involontairement à la fumée de tabac subissent une exposition estimée entre 1 et 10 % de celle des fumeurs actifs à l'origine de l'exposition. Cette exposition est composée à 80 % d'un courant dit « secondaire », fait de la fumée émise directement dans l'air par la combustion de la cigarette et à 20 % d'un courant primaire consécutif à la fumée exhalée par le fumeur après inhalation. Le courant secondaire est particulièrement riche en agents carcinogènes. L'élévation du risque de cancer bronchique par inhalation « passive » de fumée de cigarette a été estimée entre 1,17 à 1,44, avec une relation dose-effet basée sur l'exposition tabagique cumulée (20).

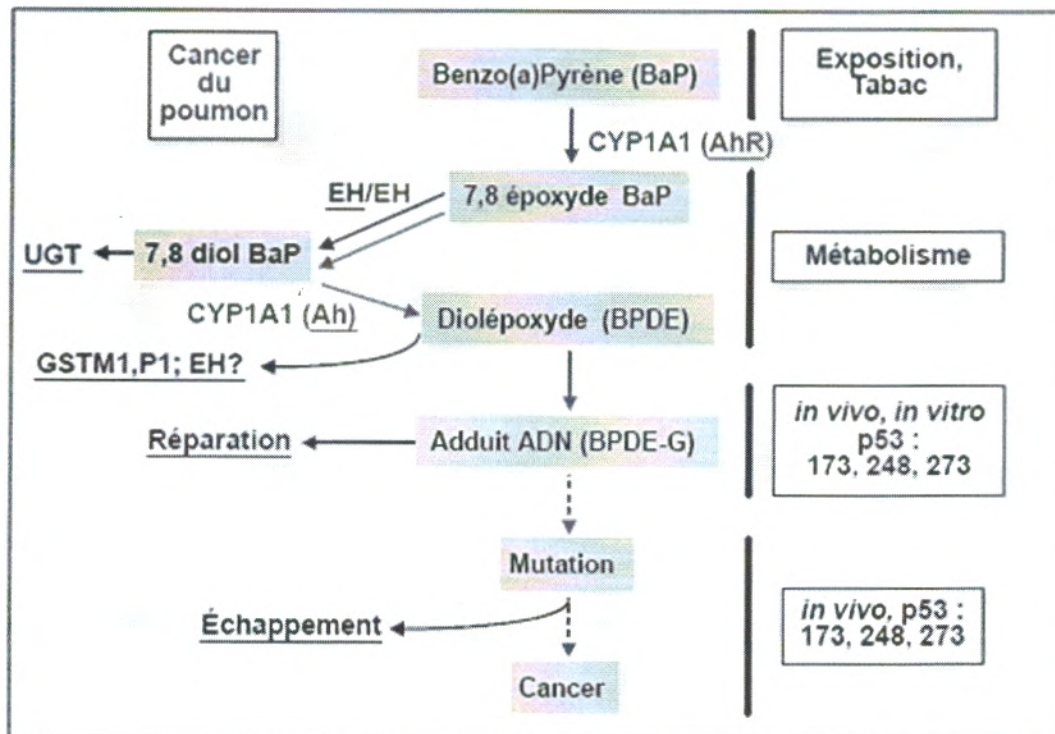


Figure 6 : Schéma métabolique du BaP et déclenchement du cancer broncho-pulmonaire (28)

2.2. Facteurs professionnels

2.2.1. Amiante

Le rôle cancérigène de l'amiante a été reconnu par Richard Doll dès les années 1950 (16). L'exposition à l'amiante est bien connue dans certains secteurs d'activité : production de matériaux contenant de l'amiante, extraction ou traitement du minerai, installation de matériaux friables à base d'amiante, chantiers navals. Mais à côté de ces situations caricaturales, bien d'autres secteurs sont en cause : professionnels du bâtiment (plombiers, maçons, électriciens, etc) mécaniciens (réparation de freins et organes de friction), chimistes (protection contre la chaleur), employés des industries comportant des sources de chaleur fixes (verreries, centrales thermiques...), etc (16). Les risques relatifs rapportés à l'exposition à l'amiante varient en fonction des secteurs industriels, probablement en relation avec les caractéristiques physicochimiques des fibres qui diffèrent selon le procédé industriel(20).

2.2.2. Produits chimiques

D'autres composés chimique et / ou physiques, le plus souvent retrouvés à de faibles niveaux en milieu professionnel (arsenic, nickel, chrome, gaz

moutarde, bichlorométhyléther ...etc), voire dans l'environnement général, ont été reconnus par l'agence internationale de recherche contre le cancer comme étant des agents cancérigènes pulmonaires pour l'homme(16).

2.3. Autres facteurs impliqués

2.3.1. Age

Comme pour la plupart des localisations tumorales, l'incidence du cancer du poumon augmente de façon exponentielle avec l'âge, à la fois chez les fumeurs et les non fumeurs, puis elle a tendance à diminuer aux âges les plus élevés. Ce type de croissance est cohérent avec la théorie de la carcinogenèse multi étapes telle qu'elle est actuellement admise. De ce fait, le délai médian qui sépare l'initiation du tabagisme et du diagnostic du cancer du poumon peut atteindre plusieurs dizaines d'années. Parallèlement il devient banal d'observer des cancers bronchiques chez des patients jeunes, ce qui reflète la responsabilité d'une initiation tabagique précoce. En l'an 2000 l'âge médian du diagnostic d'un cancer bronchique était de 67 ans chez l'homme et de 68 ans chez les femmes (16). L'âge de survenue des cancers bronchiques est variable d'un pays à l'autre, résultant des habitudes tabagiques des populations (31).

2.3.2. Sexe

Selon la littérature il semble que les femmes sont moins sensibles au risque tabagique, tout du moins pour ce qui est du cancer du poumon. Les risques relatifs calculés chez la femme sont effectivement souvent moins élevés que chez l'homme. Cette protection apparente est actuellement considérée comme relevant du fait que le tabagisme féminin a été initialement moins marqué que celui des hommes, et il est probable, compte tenu de l'évolution de l'épidémie tabagique, que les risques finiront par s'égaliser entre les sexes (16).

Dans les pays anglo-saxons, où le tabagisme féminin s'est développé dès les années 1960, que, parmi les patients atteints de cancer bronchique, la proportion des femmes est la plus élevée, avec un sex-ratio de 4/6. Aux États-Unis, le cancer bronchique est devenu le cancer le plus fréquent de la femme, devançant le cancer du sein (20).

Certaines études épidémiologiques ont même suggéré que, au contraire les femmes fumeuses auraient pour un même niveau de tabagisme évalué en durée et en quantité, un risque relatif de cancer bronchique plus élevé que les hommes fumeurs ; cet excès de risque pourrait également s'observer chez les femmes non fumeuses suggérant alors une susceptibilité féminine accrue aux effets des

cancérogènes pulmonaires. Mais jusqu'à maintenant il n'y a pas d'argument formel pour penser que les femmes sont plus ou moins susceptibles de développer un cancer du poumon que les hommes(16).

2.3.3. Pathologie pulmonaire préexistante

De nombreuses maladies respiratoires, qu'elles soient de type obstructif ou restrictif, ont été associées à un risque accru de cancer du poumon. La plus fréquente d'entre elles, la broncho pneumopathie chronique obstructive, est liée à une augmentation significative du risque de cancer du poumon. Quelle que soit leur étiologie, les maladies fibrosantes et les cicatrices pulmonaires exposent également le malade à un risque accru de cancer bronchique, et tout spécialement d'adénocarcinome ; il existe ainsi une association admise entre l'existence d'une silicose et l'augmentation du risque de cancer du poumon(16).

2.3.4. Radiations

Une incidence élevée du cancer bronchique chez les mineurs d'uranium, surtout qu'ils sont également fumeurs, a été reconnue de longue date. Le radon est un gaz radioactif auquel le poumon est exposé par inhalation ; il est formé à partir du radium au cours de la dégradation naturelle de l'uranium. Le radon est émetteur de rayons alpha, de durée de vie très courte, qui ne pénètrent que faiblement dans les tissus mais qui disposent d'une énergie considérable et sont susceptibles d'atteindre l'ADN des cellules de l'épithélium respiratoire. Incolore et inodore, il est retrouvé à de très faibles niveaux dans le sol et les roches et donc potentiellement libéré à l'intérieur même des habitations (16).

2.3.5. Pollution atmosphérique

La responsabilité de la pollution atmosphérique, au sens courant du terme, en milieu urbain est régulièrement discutée. Cette hypothèse est logique puisqu'un adulte inhale, en moyenne, 10 000 litres d'air par jour de sorte que, même à très faible concentration, la présence de produits cancérogènes dans l'air peut finir par engendrer un risque pour la santé. Le fait est que les taux de mortalité par cancer bronchique sont plus élevés en milieu urbain. Les études disponibles, font état après ajustement sur le tabagisme, d'une augmentation de l'ordre de 50 % du risque de cancer bronchique attribuée à la pollution urbaine (16).

2.3.6. Susceptibilité génétique au cancer broncho-pulmonaire

Quoi que l'étiologie du cancer du poumon soit essentiellement de nature environnementale, il est probable qu'il existe des variations dans la susceptibilité individuelle aux produits cancérigènes respiratoires. En effet, une histoire familiale de cancer bronchique augmente le risque de survenue d'un cancer du poumon chez les non fumeurs (16).

Les données les plus avancées concernent l'impact des variations interindividuelles dans la capacité de métaboliser les carcinogènes de la fumée de cigarette. Cependant, les données sont encore préliminaires et insuffisantes pour permettre une prédiction individuelle.

La plupart des carcinogènes de la fumée de tabac sont métabolisés dans l'organisme par des mécanismes d'activation ou de détoxification. L'activation des carcinogènes est liée aux enzymes dites « de phase I » catalysant des réactions d'oxydation, qui permettent, à partir d'agents procarcinogènes, d'obtenir des composés carcinogènes réactifs intermédiaires. Il s'agit des isoenzymes des cytochromes P450 (CYP). La détoxification permet l'élimination de ces carcinogènes par un mécanisme de conjugaison. Elle est réalisée par les enzymes de phase II, telles que la glutathion-S-transférase (GST) et les N-acétyltransférases. Schématiquement, on peut considérer que plus l'activité des cytochromes P450 est élevée, plus l'organisme peut être exposé aux carcinogènes actifs, alors que plus lente est l'action de la GST et plus longue est la période pendant laquelle l'organisme y est exposé (20).

III. Susceptibilité génétique au cancer broncho-pulmonaire

Dans la mesure où 10 à 15 % des fumeurs développent un cancer broncho-pulmonaire, et où celui-ci peut s'observer chez des non fumeurs, se pose donc la question de l'existence d'une composante génétique qui a été suggérée et confirmée par de nombreuses études épidémiologiques.

Cette susceptibilité génétique individuelle dont les mécanismes sont en cours d'investigation ; passerait notamment par des différences dans la capacité de métaboliser les cancérigènes, les capacités de réparation de l'ADN mais aussi d'apoptose ou l'expression des différents gènes impliqués dans la transduction du signal à partir des récepteurs membranaires ou la régulation du cycle cellulaire (16).

Les polymorphismes qui ont été attentivement étudiés, sont ceux des cytochromes P450 ; enzymes de la phase I du métabolisme des xénobiotiques, ainsi que la MTHFR enzyme clé du métabolisme des folates ; indirectement impliquée dans la réparation et le maintien de l'intégrité du génome humain.

1. Polymorphisme des gènes du métabolisme des xénobiotiques

Les organismes vivants sont exposés en permanence à une nuée de substances étrangères naturelles ou fabriquées par l'homme (xénobiotiques), ces dernières sont des molécules de faible masse moléculaire. Il s'agit par exemple des médicaments, des polluants de l'eau ou de l'atmosphère, des additifs alimentaires... nous y sommes constamment et inévitablement exposés. Ces composés sont généralement hydrophobes ce qui leur permet de traverser facilement les membranes cellulaires, de plus certaines comportent également des groupements chimiques réactifs. Leur métabolisation est donc nécessaire soit pour les rendre plus hydrophiles et donc plus faciles à éliminer, soit pour neutraliser leurs groupements réactifs. Les êtres vivants doivent disposer d'un arsenal diversifié d'enzymes pouvant effectuer un large spectre de réactions chimiques sur des substrats ayant des structures très diverses (33).

Les réactions de biotransformation peuvent être classées en :

Réactions de la phase I

Ce sont des réactions qui introduisent des groupements fonctionnels ou modifient des groupements existants, de manière à rendre le composé plus polaire, cette phase est dite phase de fonctionnalisation, ses pièces maîtresses sont des monooxygénases dépendantes des cytochromes P450 qui assurent

dans l'organisme la principale voie de détoxification des composés hydrophobes, essentiellement au niveau du foie. L'insertion d'un atome d'oxygène dans un substrat est l'aboutissement de la réaction d'hydroxylation catalysée par les cytochromes P450 (28).



Réactions de la phase II

Ce sont des réactions de conjugaison, catalysées par des transférases qui vont coupler des molécules très polaires aux composés obtenus après l'action des enzymes de phase I. on obtient ainsi des conjugués très hydrosolubles (33), les principales enzymes sont les N-acétyltransférases (NAT), les glutathion S transférases (GST) et les sulfotransférases (SULT). Les enzymes de phase II sont généralement cytosoliques et sont exprimées dans le foie ainsi que dans de nombreux tissus périphériques (33).



Par ailleurs, si le métabolite obtenu est très hydrophile, il devra être transporté à travers la membrane cellulaire par des protéines de **phase III**, telles que le transporteur mrp (Multidrug Related Protein), cette famille de transporteurs comprend de nombreux membres, et s'accroît régulièrement. Le métabolite ainsi produit pourra soit être éliminé dans la bile ou les urines, soit après transport dans le sang ou dans la bile, être métabolisé de nouveau dans d'autres tissus possédant un autre spectre d'enzymes de détoxification c'est la **phase IV**. Toutes les étapes ne sont pas obligatoires et le métabolisme de chaque composé est particulier (28).

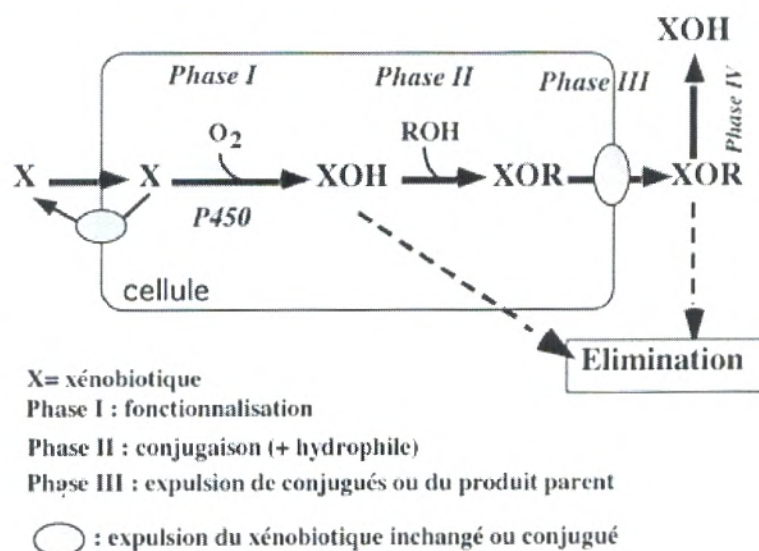


Figure 7: Métabolisme général des xénobiotiques (28)

1.1. Enzymes de phase I (monooxygénases à cytochrome P450)

Les cytochromes P450 constituent une superfamille multigénique d'isoenzymes. Ils assurent dans l'organisme la principale voie de détoxification des composés hydrophobes(33). Leur nom provient de la propriété de ces pigments d'émettre un spectre d'absorbance à 450 nm, spécifique des hémoprotéines (34).

Chez l'Homme, 57 gènes et 47 pseudogènes ont été séquencés

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

Les cytochromes P450 ont été répartis en familles et sous familles. Parmi, les 57 CYP humains, 15 sont impliqués dans le métabolisme des xénobiotiques appartenant essentiellement aux familles 1, 2 et 3. Bien que quelques substrats endogènes aient été identifiés, la grande majorité des molécules transformées sont des xénobiotiques, en effet, plus de 90 % du métabolisme des médicaments passe par l'activité des cytochromes et plus de 2000 substrats ont été identifiés à ce jour (34).

1.2. Variabilité d'expression des enzymes du métabolisme des xénobiotiques

La variabilité d'expression des CYP est modulée à deux niveaux :

- 1- Par des facteurs génétiques (polymorphisme génétique)
- 2- Par des facteurs non génétiques incluant les facteurs environnementaux (inducteurs ou inhibiteurs), le sexe, l'âge, la physiologie, la pathologie, le tissu.

1.2.1. Facteurs génétiques

Polymorphisme d'activité

Dans ce cas, l'expression du gène et la quantité de protéines sont inchangées, seule l'activité enzymatique est modifiée. L'effet peut être une augmentation de l'activité (qualifié de métaboliseur rapide) ou une diminution de celle-ci (qualifié de métaboliseur lent) (34).

Polymorphisme de régulation

L'action des facteurs de transcription sur la régulation transcriptionnelle des gènes étant dépendante de la séquence de l'ADN dans les promoteurs, on peut concevoir que des mutations et/ou polymorphismes géniques de ces régions puissent entraîner des modifications de leur régulation. En retour, le niveau de protéine peut être affecté (34).

1.2.2. Facteurs non génétiques

L'expression des CYP peut également varier en fonction de l'environnement. En effet, ces enzymes sont fréquemment inductibles et répressibles (27) par des molécules qui vont moduler l'activité transcriptionnelle de certains récepteurs nucléaires comme le AhR ayant pour cibles les cytochromes P450 (34). Les HAP constituent les composés majeurs se liant à AhR (35).

Ajoutant à cela les variations physiopathologiques, qui elles aussi peuvent moduler l'expression des CYP ; le foie est quantitativement l'organe prépondérant dans le métabolisme des xénobiotiques et en particulier dans leur élimination. Cependant, dans d'autres tissus, le métabolisme peut jouer un rôle capital dans l'élimination des xénobiotiques et la production in situ de métabolites réactifs susceptibles d'être toxiques ; tels que les voies respiratoires pour les xénobiotiques inhalés, l'intestin pour les xénobiotiques ingérés, ou la peau, sont responsables de l'effet de premier passage et sont des cibles privilégiées pour les xénobiotiques qui les atteignent en premier. Cependant, ils expriment presque les enzymes de détoxification en quantité et qualité différentes de ceux qui sont exprimés dans le foie. En outre, les CYP peuvent de nouveau métaboliser des molécules produites dans le foie et distribués aux autres tissus par le sang ou la bile (intestin, côlon). Dans ces tissus, les CYP peuvent ainsi produire des métabolites dont la production in situ, à proximité de cibles comme l'ADN, peut expliquer la toxicité spécifique dans certains organes.

La capacité métabolique très variable d'un tissu à l'autre, explique, dans une certaine mesure, la susceptibilité spécifique de certains tissus en cas d'exposition à un xénobiotique. Dans le poumon, seules les cellules de Clara et les pneumocytes de type II expriment des CYP (28).

Certaines maladies et/ou circonstances physiologiques jouent également un rôle dans l'expression des CYP ; Au cours du développement, les CYP sont exprimés différemment que chez l'adulte (34). Le jeûne et le diabète augmentent l'expression du CYP2E1 et du CYP3A4 (28). Les maladies hépatiques peuvent aussi modifier l'expression des CYP (34).

1.3. Association du polymorphisme des enzymes de détoxification au cancer

Un grand nombre de cancers sont dus à des facteurs environnementaux. De nombreuses études épidémiologiques ont montré le rôle des expositions professionnelles (HAP, amiante, amines aromatiques, benzène, chlorure de

vinyle) dans le développement de cancers. La plupart de ces substances n'ont pas d'effet cancérigène direct, c'est au cours des étapes de leur métabolisme qu'apparaissent des métabolites réactifs susceptibles de léser l'ADN. Les polymorphismes des gènes codant les enzymes de détoxification impliquées dans le métabolisme des xénobiotiques peuvent être associés à certains cancers (36).

Un des aspects essentiels de la toxicité des xénobiotiques est la notion de susceptibilité individuelle, et de là, des travaux ont été réalisés pour tenter de corréliser l'expression de gènes du métabolisme des xénobiotiques ou leurs polymorphismes et l'apparition de cancers chez l'Homme (37).

D'autres enzymes servent à éliminer les cancérigènes activés, telles les glutathion s-transférases (GST) et les N-acétyltransférases (NAT), et pourraient donc jouer un rôle protecteur (38).

Comme il existe un polymorphisme important des CYP et des enzymes de phase II. L'efficacité du système de détoxification des xénobiotiques varie d'un individu à l'autre, ce qui pourrait expliquer pourquoi certains individus développent un cancer d'autres non (39).

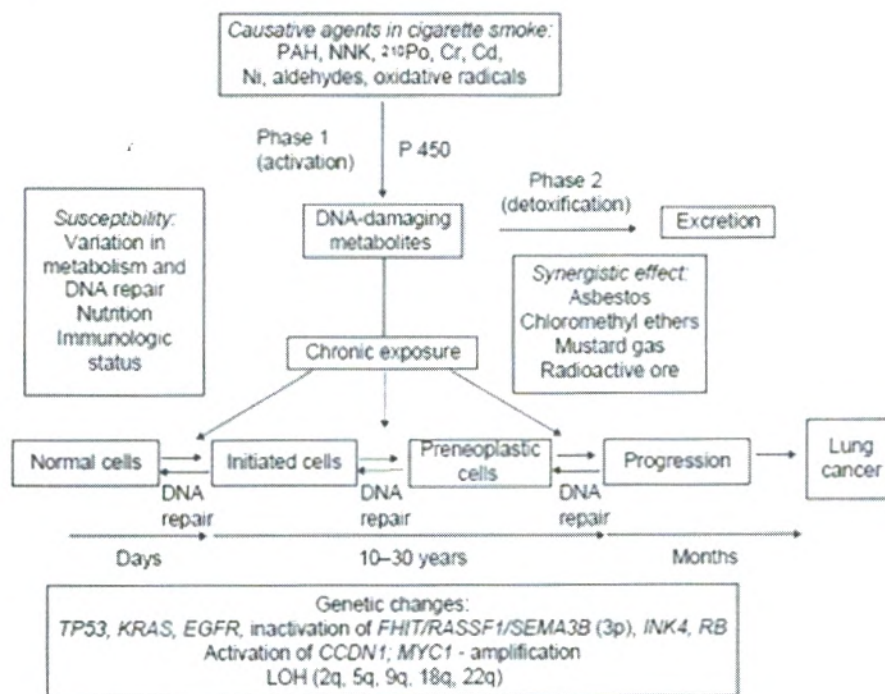


Figure 8: Association du polymorphisme des CYP au cancer broncho-pulmonaire (40)

Diverses combinaisons des variants des CYP qui activent les cancérigènes et des glutathion S transférases qui les conjuguent pour les

éliminer sont attentivement étudiées : Trois des polymorphismes génétiques les plus étudiés sont ceux du CYP1A1, de la GSTM1 et du CYP2D6 (16). Dans le poumon, ces enzymes sont localisées tout le long de l'arbre respiratoire (41).

Chez l'homme le CYP1A1 est principalement impliqué dans l'oxydation des HAP, notamment au niveau des sites extrahépatiques, cette enzyme a la particularité d'être induite par l'exposition aux dioxines et autres composés organochlorés. En outre, le CYP1A1 (anciennement appelé Aryl Hydrocarbon hydroxylase ou AHH) est présente en quantité plus importante dans les poumons et le foie des fumeurs suite à la présence d'hydrocarbures polycycliques dans la fumée du tabac (42).

Pour le cancer bronchique des allèles détectés par RFLP d'enzymes liés aux cytochromes P450 CYP1A1 et CYP2D6, allèles correspondant à un niveau d'activité de ces enzymes impliqués dans la métabolisation des carcinogènes de la fumée de tabac, confèrent à un tabagisme égal un risque très différent de développer un cancer bronchique (43).

D'une façon générale, les risques relatifs associés à chacun des gènes sont relativement modérés, mais ils peuvent augmenter substantiellement lorsque l'individu cumule plusieurs polymorphismes à risque (38).

Il a été suggéré qu'une activité élevée du cytochrome P450 constitue un facteur de risque pour l'apparition du cancer bronchique. De même les mutations spécifiques associées aux gènes du cytochrome P450 seraient des facteurs facilitateurs de la survenue du cancer pulmonaire (44).

2. Polymorphisme de la Méthylènetétrahydrofolate Réductase MTHFR

Les folates connaissent actuellement un grand intérêt, en raison de leur implication dans de nombreux processus métaboliques, et présentent un intérêt discuté pour leur rôle dans la prévention des cancers (45). L'Homme ne peut pas synthétiser l'acide folique et dépend donc des sources alimentaires de cette vitamine (46).

L'acide folique ou vitamine B9 est une molécule relativement simple, l'acide ptérylmonoglutamique de poids moléculaire égal à 441. La vitamine naturelle est surtout présente dans les aliments sous la forme plus complexe de polyglutamates, appelés communément folates. Ces folates doivent être déconjugés par une enzyme intestinale spécifique, avant d'être absorbés (45).

Leur absorption se fait tout au long de l'intestin grêle et plus particulièrement au niveau du jéjunum. Le foie assure l'homéostasie du pool

des folates. Dans le plasma 40 pour cent des folates sont liés avec une faible affinité à l'albumine, le reste étant lié à la transferrine et à l' α 2 macroglobuline (45).

Les folates sont impliqués dans la synthèse des acides nucléiques (ADN, ARN) et dans les processus de méthylation, et de là ils interfèrent avec la carcinogenèse en modulant la méthylation de l'ADN génomique, la méthylation des histones ou en induisant l'instabilité de l'ADN par la réduction de la synthèse de la thymidine (47).

Dans le métabolisme vivant, l'acide folique agit toujours sous une forme non oxydée ou réduite ; c'est-à-dire comportant des atomes d'hydrogène. Cet ajout de quatre atomes d'hydrogène par une enzyme cellulaire (la dihydrofolate réductase) la rend très fragile en présence d'oxygène, donc très vulnérable à l'air. De ce fait, la molécule se trouve protégée, tant dans les aliments que dans l'organisme par la vitamine C (45).

Une enzyme clé du métabolisme des folates est la MTHFR, cette enzyme oriente celui-ci soit vers la méthylation de l'ADN, soit vers la synthèse d'ADN en fonction de l'apport alimentaire quotidien en folates et de ses polymorphismes. (45)

Cette enzyme catalyse la réduction irréversible du 5,10-méthylène-tétrahydrofolate en 5 méthyl THF, avec la flavine adénine dinucléotide (FAD) comme cofacteur et c'est précisément sous la forme 5-méthyl -tétrahydrofolate que le tétrahydrofolate est nécessaire à la synthèse de la thymidine (base pyrimidique spécifique de l'ADN). Cette forme circulante majeure des folates, sert de substrat pour la reméthylation de l'homocystéine en méthionine grâce à la méthionine synthase qui a la vitamine B12 comme cofacteur. La méthionine permet la biosynthèse de novo de S-adenyl-méthionine (SAM) qui est le principal donneur de radicaux méthyl. Chez l'Homme il est à noter que la MTHFR est inhibée par la SAM. Le 5, 10-méthylène -THF est quant à lui utilisé pour la méthylation du dUMP en dTMP via la thymidylate synthase, et donc participe à la synthèse des pyrimidines d'ADN. D'autre part le cycle des folates contribue à la synthèse des purines (ADN et ARN), à partir du 10-formyl-THF qui va donner des carbones à l'adénosine et à la guanine (46).

Les folates, ainsi que les enzymes modulant leur métabolisme ont été liés à nombre de processus pathologiques, y compris le cancer ; ainsi Plusieurs études épidémiologiques ont indiqué, que la consommation des fruits et des légumes pourrait prévenir le cancer y compris celui du poumon, l'acide folique

est connu pour être l'un des constituants majeurs contribuant à cette protection (48).

2.1. Implication des folates dans la méthylation de l'ADN

L'hypométhylation de l'ADN est reconnue pour être un évènement précurseur de la tumorigenèse, de même que l'hyperméthylation (49).

L'hypométhylation est associée à l'activation des oncogènes et l'hyperméthylation des promoteurs est associée à la perte de fonction des gènes suppresseurs de tumeur. Une récente étude montre que les individus homozygotes pour l'allèle C677T avaient un ADN génomique hypométhylé dans leurs leucocytes, caractéristique observée dans beaucoup de cancers (50).

La méthylation de l'ADN peut affecter l'expression de certains gènes à travers des altérations réversibles de l'acétylation des histones qui affecte la structure de la chromatine et de là l'accessibilité des facteurs de transcription à leurs sites de liaison, ce qui affectera la surexpression ou au contraire l'extinction de différents gènes ; un des mécanismes de répression de gènes suppresseurs de tumeurs est la méthylation des îlots CpG au niveau de leurs promoteurs.

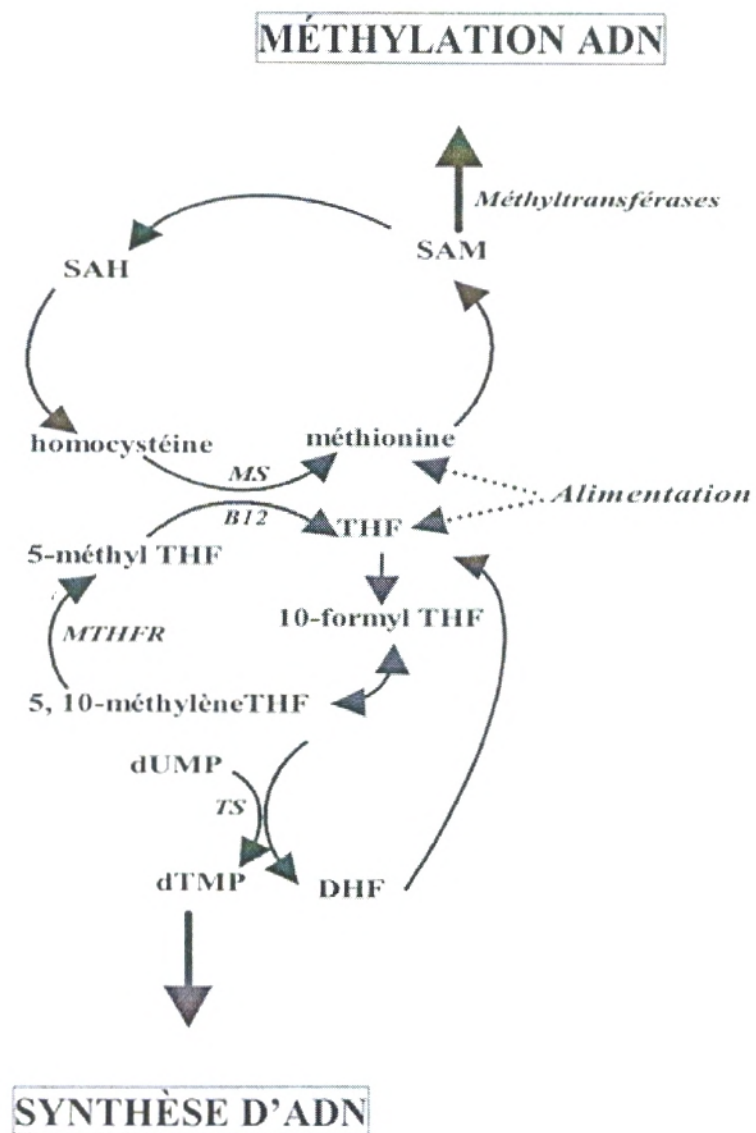


Figure 9 : Cycle des folates (46)

Ce phénomène épigénétique est associé à une chromatine de structure tridimensionnelle « fermée » qui va donc empêcher l'initiation de la transcription du gène hyperméthylé. Les CpG sont présents en faible nombre dans le génome humain et 70 pour cent d'entre eux sont méthylés. La plupart des cytosines méthylées sont retrouvées dans les séquences répétitives de dinucléotides CpG situées en dehors des îlots CpG. Les îlots CpG localisés le plus souvent aux extrémités 5' des gènes (régions où se trouvent les promoteurs des gènes) sont donc habituellement non méthylés dans les cellules normales. La méthylation des cytosine des îlots CpG observée dans certains cancers chez l'Homme a lieu après l'étape de synthèse de l'ADN, par un transfert d'un groupe méthyl sur le carbone en position 5' d'une cytosine, ceci en utilisant la SAM comme donneur de radicaux méthyl et par des réactions enzymatiques médiées par des ADN-méthyl-transférases (famille des DNMT).

2.2. Rôle de l'épigénétique en cancérogenèse moléculaire

Le domaine de l'épigénétique du cancer est devenu un axe de recherche très important, car il promet de faire progresser notre compréhension de l'étiologie des cancers humains ainsi que les mécanismes de la cancérogenèse. Il est bien établi que des événements épigénétiques aberrants peuvent provoquer une mauvaise activation des gènes et un phénomène inadéquat de « gène silencing » (gène silencieux). De récentes observations indiquent qu'une dérégulation des états épigénétiques pourrait contribuer au développement du cancer en compromettant d'autres processus cellulaires fondamentaux, tels que la réparation de l'ADN, la réplication, le cycle cellulaire, et bien d'autres processus. (87)

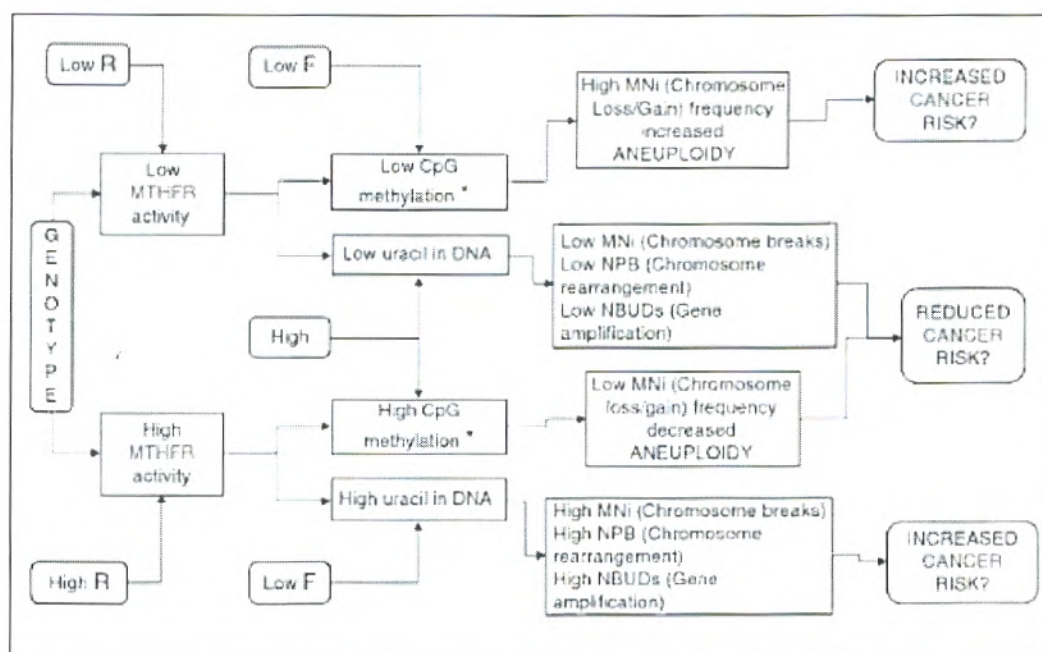


Figure 10: Relation entre MTHFR, méthylation d'ADN et cancer
(88)

2.3. Effet mutagène du déficit en folates

L'uracile est une base exclusive pour la synthèse de l'ARN. Des uraciles peuvent être incorporés dans l'ADN par des ADN polymérases durant la synthèse de l'ADN. L'enzyme ADN uracil-glycosylase répare ces erreurs en excisant les uraciles anormalement présentes dans l'ADN, ce qui peut générer des cassures transitoires d'un des brins d'ADN. Une incorporation très élevée d'uraciles dans l'ADN est observée en cas de carence en folates. Cette incorporation augmente la probabilité que 2 uraciles situés sur deux brins de l'ADN opposés se retrouvent proches dans l'espace. Les mécanismes de réparation de l'ADN peuvent alors induire des cassures des deux brins de l'ADN qui sont difficilement réparables et donc potentiellement cancérogènes

(46). Et donc un apport alimentaire insuffisant en folates associé à un génotype muté du gène *MTHFR* augmenteraient le risque de développer un cancer. (88)

Et de là le métabolisme des folates, ainsi que les variations génétiques des enzymes gouvernant ce métabolisme, indiquent une grande importance dans l'étiologie des cancers ; qui sont le résultat de l'interaction entre des facteurs environnementaux et des facteurs génétiques, pas toujours parfaitement déterminés.

2.4. Polymorphisme du gène *MTHFR*

Le gène *MTHFR* humain a été localisé à la position 1p36.3 (51), et se compose de 12 exons comme le montre la carte ci-dessous

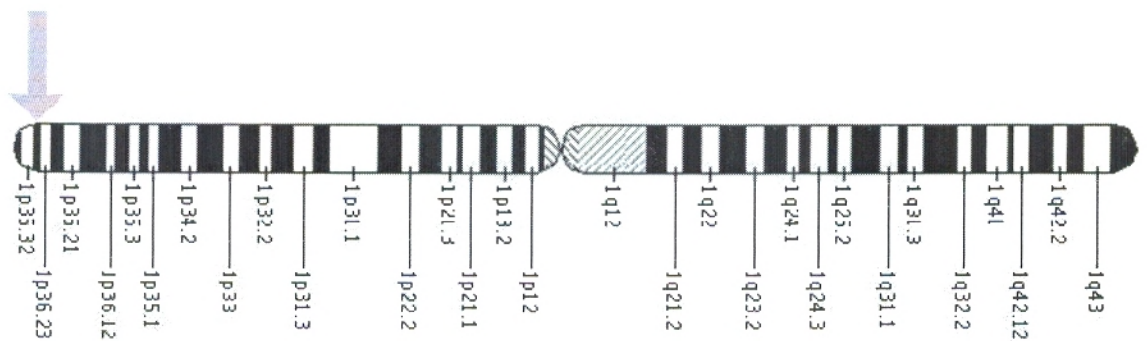


Figure 11: Localisation du gène de la MTHFR au niveau du premier chromosome humain (52)

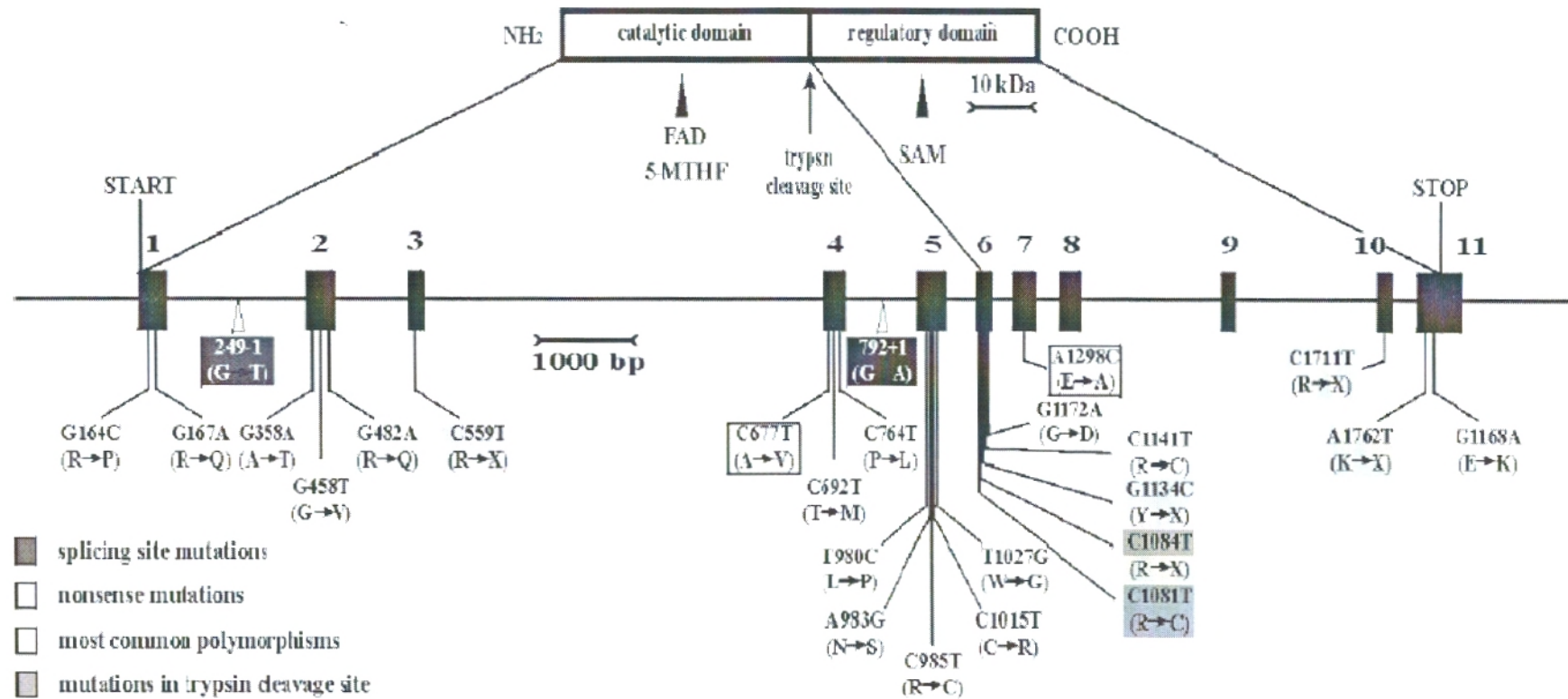


Figure12: Structure du gène de la MTHFR (53)

2. 4.1. Polymorphismes de la MTHFR

Une soixantaine de polymorphismes ont été identifiés pour le gène *MTHFR* (51), cependant certains polymorphismes ne sont pas tous sans conséquence sur la santé, parmi lesquelles 41 ont été décrites comme ayant des conséquences cliniques sévères.

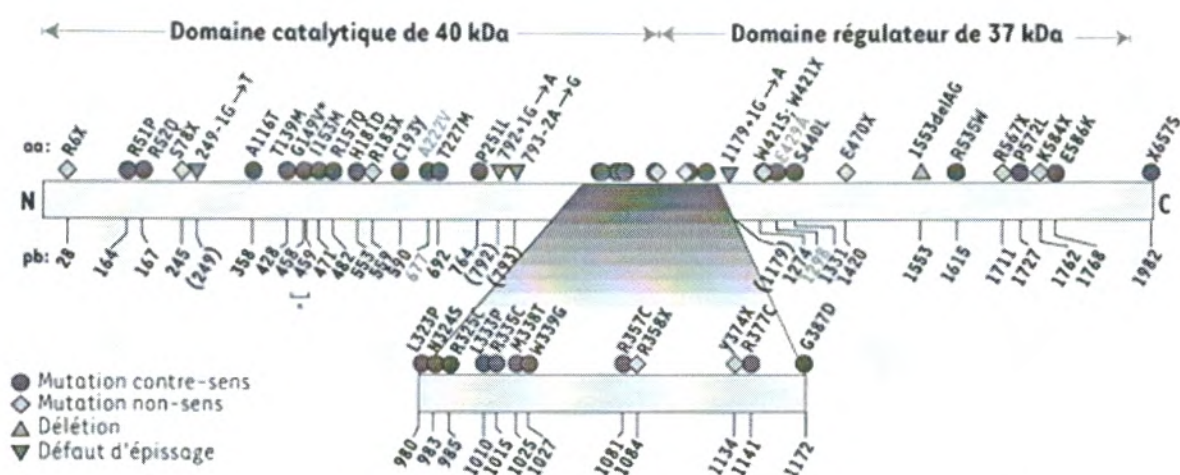


Figure 13 : Représentation schématique de 41 mutations graves du gène *MTHFR* et de deux polymorphismes particulièrement étudiés (51)

Les 41 mutations spécifiées n'ont été identifiées que dans des familles de patients présentant un déficit important de *MTHFR*. La protéine *MTHFR* est représentée par un rectangle et les acides aminés mutés sont indiqués au-dessus, ainsi que les mutations affectant l'épissage du gène. Les nombres sous le rectangle désignent la position des mutations dans la séquence de l'ADNc; les nombres entre parenthèses désignent la présence d'une mutation intronique à proximité du résidu mentionné. Les 2 polymorphismes de *MTHFR* les plus étudiés sont indiqués en vert (51).

2.4.2. La mutation C677T

Identifié en 1995 par Frost et al, le variant C677T (Ala222Val), dans l'exon 4 du gène, a été particulièrement remarquable depuis qu'il a été reconnu comme la cause génétique la plus commune d'hyperhomocystéinémie. L'interruption de métabolisme de l'homocystéine par ce polymorphisme influence le risque pour plusieurs désordres complexes.

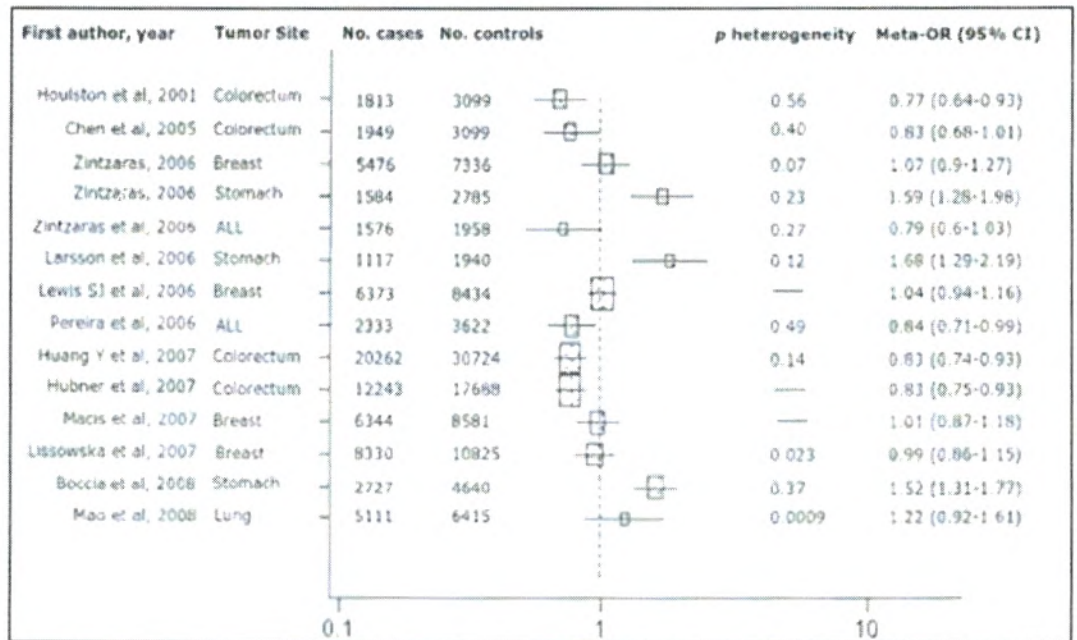
Le variant C677T affecte le domaine catalytique de l'enzyme, créant une enzyme thermolabile dont l'activité catalytique est réduite (54). La prévalence de C677T à l'état homozygote (génotype TT) est variable parmi la population

mondiale selon l'origine ethnique (46). Le phénotype de ce variant génotypique appelé « variant thermolabile » est caractérisé par une diminution d'activité enzymatique de 70 pour cent en cas d'homozygotie et de 35 % en cas d'hétérozygotie (46). Le génotype TT en entraînant une nette diminution de l'activité enzymatique de la MTHFR, est responsable d'une hyperhomocystéinémie qui est d'autant plus importante que la carence en folates éventuellement associée est marquée. Cette hyperhomocystéinémie, à l'origine d'une réduction de la quantité de SAM disponible pour les réactions de méthylation entraîne une hypométhylation globale de l'ADN ; ce qui induit probablement une activation des proto-oncogènes et de là des désordres complexes peuvent s'installer conduisant à un processus tumoral (46).

2.5. Association entre MTHFR et cancer

Plusieurs études épidémiologiques suggèrent l'implication du métabolisme des folates et ses enzymes dans la modulation du risque de cancer ; parmi ces enzymes la MTHFR reste la mieux étudiée. L'allèle C677T du gène *MTHFR* présente un intérêt tout particulier dans ces recherches ; l'association entre *MTHFR* et cancer a été examinée dans plusieurs études pour plusieurs cancers. Certaines de ces études ont rapporté que le génotype muté pour l'allèle C677T pourrait conférer une protection contre le cancer, surtout pour le cancer colorectal (55) et la leucémie lymphoblastique (56). D'autres au contraire ont indiqué une élévation du risque de cancer notamment pour les cancers gastriques (89). La plupart des études indiquent une absence d'association entre le génotype TT et le cancer, à l'exception des cancers gastriques et colorectaux :

Tableau IV : Méta-analyses étudiant le lien entre polymorphisme *MTHFR* et cancer (89)



Le polymorphisme *MTHFR* semble être modificateur du risque de cancer, probablement pour son implication dans le métabolisme des folates connu pour son important rôle dans la synthèse et la méthylation d'ADN, cette dernière est une modification épigénétique qui joue un rôle crucial dans la carcinogénèse.

Plusieurs facteurs environnementaux peuvent interagir avec le polymorphisme *MTHFR* ; notamment l'alcool et le tabac, modifiant ainsi le risque de développer un cancer. L'alcool est connu pour être un perturbateur du métabolisme des folates en réduisant l'absorption de ces derniers. (89)

2.6. Association entre polymorphisme *MTHFR* et cancer bronchique

Peu d'études ont évalué le risque du polymorphisme *MTHFR* sur le cancer broncho-pulmonaire. Comme pour les autres cancers la *MTHFR* interagit surtout par le biais de la méthylation. En effet, la méthylation des cytosines au niveau des îlots CpG est une modification épigénétique qui joue un rôle crucial dans la carcinogénèse pulmonaire. Ces îlots sont généralement localisés au niveau des promoteurs des gènes suppresseurs de tumeur. (90). Une activité enzymatique réduite de la *MTHFR* pourrait être protectrice en inhibant l'hyperméthylation qui conduit à la formation des îlots CpG qui verrouillent certains gènes suppresseurs de tumeur. Par exemple il a été retrouvé chez des patients atteints d'un cancer broncho-pulmonaire que le génotype TT est associé à une surexpression du gène suppresseur de tumeurs p16. (88)

I. Patients et méthodes

L'étude a porté sur une population de 76 malades venant des différentes régions de l'Est Algérien, recrutés au sein du service d'onco-radiothérapie de Constantine, et une population de 101 témoins sains sélectionnés aléatoirement, non apparentés et appariés aux malades selon l'âge et le sexe pour renforcer l'étude.

Méthodes utilisées

1. Questionnaire et enregistrement

- **Questionnaire**

Un recueil de données a été effectué au niveau du service d'onco-radiothérapie; en plus du dossier médical du patient malade un interrogatoire des patients est mené par nous même. (Annexe 1)

- **Enregistrement**

Tous les prélèvements sont étiquetés soigneusement, portant le nom et prénom des sujets associés à la numérotation 1, 2, 3,4...

2. L'étude histopathologique

L'étude histologique est réalisée sur biopsie au service d'anatomopathologie du CHU Ibn Badis

3. Prélèvement sanguin

Le prélèvement sanguin préconisé pour l'extraction de l'ADN est recueilli stérilement dans un tube en présence d'EDTA (en quantité de 6 à 10 ml, L'ETDA : est un agent chélateur des ions divalents (tels que Mg^{2+}) nécessaires au fonctionnement des nucléases. Il est donc couramment employé comme inhibiteur indirect des DNAses)

4. Extraction de l'ADN

Toutes les études génétiques nécessitent la disposition d'échantillons d'acides nucléiques, les leucocytes sanguins représentent la source majeure d'ADN. La méthode employée dans notre étude utilise le solvant inorganique NaCl

4.1. Principe

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

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

Dans le lysat, l'ADN nucléaire ainsi libéré est associé aux différentes protéines qui seront digérées et éliminées par précipitation au Na Cl. 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). Sa pureté ainsi que sa concentration sont estimées par spectrophotométrie à UV. (Annexe 2)

4.2. Estimation de la concentration de l'ADN et contrôle de sa qualité

4.2.1. Contrôle de la qualité d'ADN

- **Principe :**

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

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

La pureté de l'ADN est essentielle pour une action efficace des enzymes de restriction utilisées par la suite. Dans le cas où l'ADN est contaminé, ce dernier ne laisserait pas aboutir à un bon résultat dans les étapes suivantes de son analyse par PCR. Il est donc indispensable de procéder par la réextraction de la pelote de l'ADN afin d'obtenir la pureté souhaitée (Annexe 2). Les ADN purs sont conservés à 4 °C jusqu'à utilisation.

4.2.2. Estimation de la concentration de l'ADN

- **Principe**

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

1 unité de DO₂₆₀ nm = 50 µg/ml d'ADN double brin.

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

5. Génotypage de la MTHFR

Consiste à amplifier une partie de l'ADN contenant le gène, puis de différencier les génotypes par digestion enzymatique.

Notre étude moléculaire a concerné 26 patients.

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

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

5.1. PCR (Polymerase Chain Reaction)

Est une réaction de polymérisation *in vitro* d'une réplification d'ADN effectuée à l'aide de l'enzyme thermorésistante ; la Taq polymérase.

5.1.1. Préparation du milieu réactionnel (ou mix) de PCR

Pour préparer le milieu réactionnel (Annexe 3), multiplier la quantité de chaque composant par le nombre de tubes voulu plus un, c'est le tube témoin négatif dans lequel on met uniquement le mélange sans ADN. L'ADN est amplifié par PCR avec deux amorces encadrant la région avec les deux codons polymorphes d'acide aminé 222 de la MTHFR (Annexe 3).

5.1.2. Déroulement des cycles de la PCR

Chaque cycle de la PCR repose sur trois étapes indispensables : Dénaturation, hybridation et élongation (Annexe 3 tableau)

5.1.3. Contrôle des produits de la PCR

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

Dans chaque puits du gel, il est déposé :

-10 µl de produit d'amplification + 3 µl BBP (Bleu de Bromophénol) qui permet de suivre le front de migration.

-3 µl de marqueur de taille (PM 100pb LADDER, ref.018209) +10µl H₂O +2µl BBP

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

Après la migration, le gel est soumis aux rayons UV. Les molécules de bromure d'éthidium fixées aux ADN émettent une lumière visible et photographiable et permettent de visualiser les fragments amplifiés sous forme de bandes fluorescentes de même taille. Ce contrôle permet aussi de vérifier si une éventuelle contamination de l'ADN est survenue au cours de la PCR grâce au puits contenant le blanc.

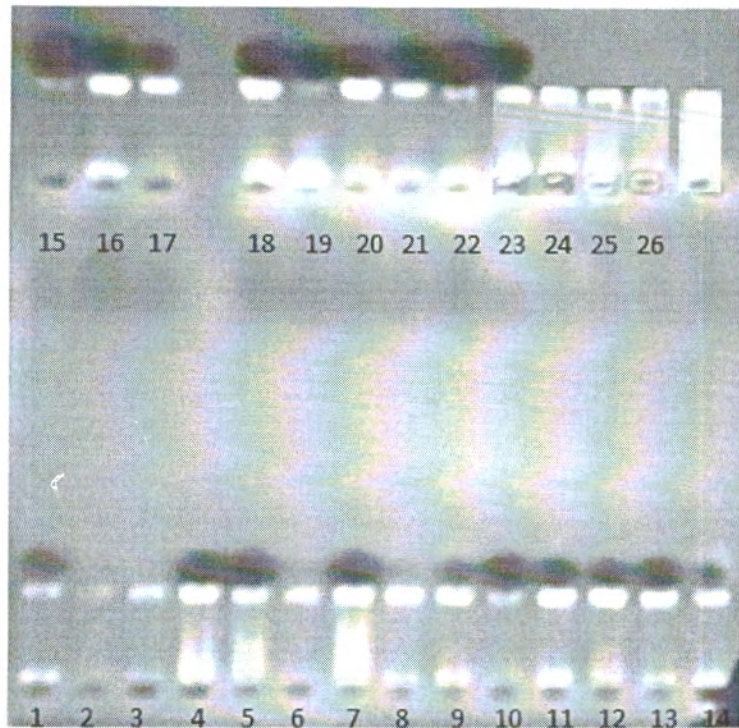


Figure 14 : Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose des produits de PCR

5.2. Digestion des produits de PCR

Préparer le milieu de digestion de l'enzyme *Hinf*I pour les tubes voulus +1 témoin (Annexe 4)

5.2.1. Digestion par l'enzyme de restriction *Hinf*I :

L'*Hinf*I est une enzyme de restriction produite par la bactérie *Haemophilus influenzae*, elle reconnaît et clive la séquence G/ANTC codant pour l'Alanine en position 222. Les produits de la PCR sont soumis à une digestion enzymatique par *Hinf*I. Ils sont incubés pendant une nuit dans un bain marie à 37 °C. Après incubation ils sont concentrés au speed-vac (system ISS 40-SAranta) pendant quelques minutes.

5.2.2. Conditions de migration

Préparation d'un gel d'agarose (Annexe 5)

Après préparation du gel d'agarose (3g d'agarose dans 100 ml de TBE 1 X), homogénéiser, couler immédiatement en versant le contenu de bûcher dans le support en plaques de verre en ayant soin de ne pas faire de bulles.

Placer le peigne plat afin de former les puits et laisser polymériser à température ambiante pendant 1h 30 min à 2h 30 minutes.

Dépôt des échantillons

Quand le gel est polymérisé, plonger le système (gel + électrodes) dans la cuve horizontale contenant un volume (450ml) du tampon Tris Borate EDTA (TBE 1X). Oter le peigne et déposer délicatement au fond de chaque puits un échantillon ou marqueur. Nous déposons dans chaque puits du gel 12 à 14 µl du produit digéré et 3 µl de bleu de Bromophénol.

Migration

La migration se fait en parallèle avec des fragments d'ADN appelés marqueurs de taille (leurs tailles sont connues), à un voltage de 80 volts.

Révélation du profil électrophorétique

Le BET fluorescent aux UV s'est fixé sur l'ADN (cette molécule s'intercale entre les bases de la molécule d'ADN) et va permettre de visualiser les fragments de restriction dans le gel placé sur la table à UV. Lorsqu'on obtient une séparation nette des différents fragments du marqueur (après 2h 30 mn, le gel est photographié après transillumination aux UV.

5.2.3. Profils RFLP obtenus

Ce polymorphisme, noté C677T, correspond à une substitution d'une cytosine par une thymine en position 677 dans la séquence nucléotidique et qui, se traduit dans la séquence protéique par la substitution d'une alanine par une valine sur le codon 222. La digestion enzymatique de l'amplification de la MTHFR par la *Hinf*I donne les fragments : 175 pb, 198 pb, le premier apparaît sur le profil électrophorétique sous forme d'une seule bande qui correspond au type homozygote muté (TT), le deuxième apparaît aussi sous forme d'une seule bande, il s'agit du type homozygote sauvage (CC). Les deux bandes ensemble, correspondent au type hétérozygote (CT)

6. L'analyse statistique

Pour cela on utilise le logiciel Epi Info version 6. L'étude statistique consiste en une étude d'association entre la mutation C677T de la MTHFR et le cancer broncho-pulmonaire. L'étude statistique est de type cas-témoins basée sur le calcul d'odds-ratio afin de déterminer s'il existe une association entre le polymorphisme étudié et le cancer broncho-pulmonaire. Sur une table de contingence, on note la répartition de l'allèle testé :

	Cas	Témoins
Exposés	a	b
Non exposés	c	d
Total	a+c	b+d

Le degré de l'association entre le polymorphisme et la maladie est calculé comme suit :

$$OR = \frac{ad}{cb}$$

Intervalle de confiance IC de l'Odds-Ratio

On choisit pour cela un intervalle de confiance de 95 % ; dans le quel on est sûr à 95 % que se situe la vraie valeur de l'OR.

- Si l'IC 95% ne contient pas la valeur 1, le lien entre le facteur et la maladie est statistiquement significatif.
- Si l'IC 95% contient la valeur 1, le facteur n'est pas statistiquement lié à la maladie.

II. Résultats et discussion

1. l'enquête statistique

L'étude descriptive, rétrospective et prospective cas-témoins (s'étalant entre 2009-2005); a porté sur des cas de cancer bronchique primitif histologiquement prouvé, pris au hasard diagnostiqués depuis 2005 au sein du CHUC, au service d'onco-radiothérapie; où les cancers du poumon représentaient 5 % du recrutement total durant la période (2005-2007), comme indiqué dans le tableau suivant :

Tableau V : Recrutement des patients au service d'onco-radiothérapie CHUC. (2005-2007) (3)

Année	Effectif total	Poumon	%	CBNPC	CBPC
2005	1976	75	4	64	11
2006	1995	99	5	83	16
2007	1988	104	5	86	18
	5933	278	5 %	233	45

Les données étaient recueillies par questionnaire préétabli.

Ce questionnaire permettait d'établir pour chaque patient :

- Les données sociodémographiques (région, âge, sexe, profession)
- Habitudes toxiques à savoir tabac associé ou non à l'alcool
- Antécédents personnels et familiaux.
- Type histologique et stade du cancer au moment du diagnostic

1.1. Résultats

1.1.1. Aspect sociodémographique de la population malade et témoin

Notre étude a porté sur 76 malades âgés entre 30 et 80 ans, répartis en 72 hommes et 4 femmes.

1.1.1.1. Sexe

Tableau VI : Répartition des malades selon le sexe

Population totale	Hommes	Femmes
N= 76	n= 72 94.73 %	n= 4 5.26 %

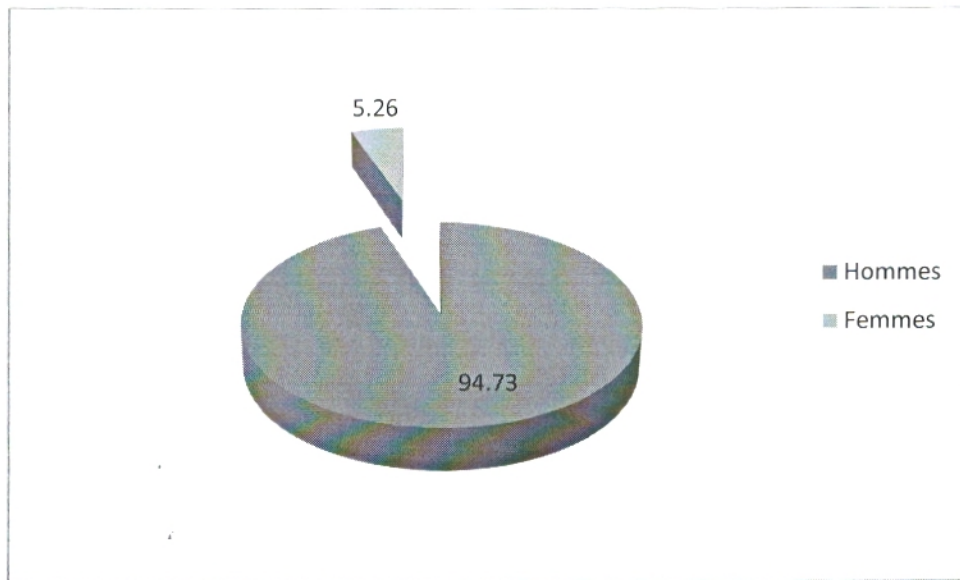


Figure 15 : Sex-ratio de la population malade

Tableau VII : Répartition des témoins selon le sexe

Population témoin	Hommes	Femmes
N= 101	n= 85 84.16 %	n= 16 15.84 %

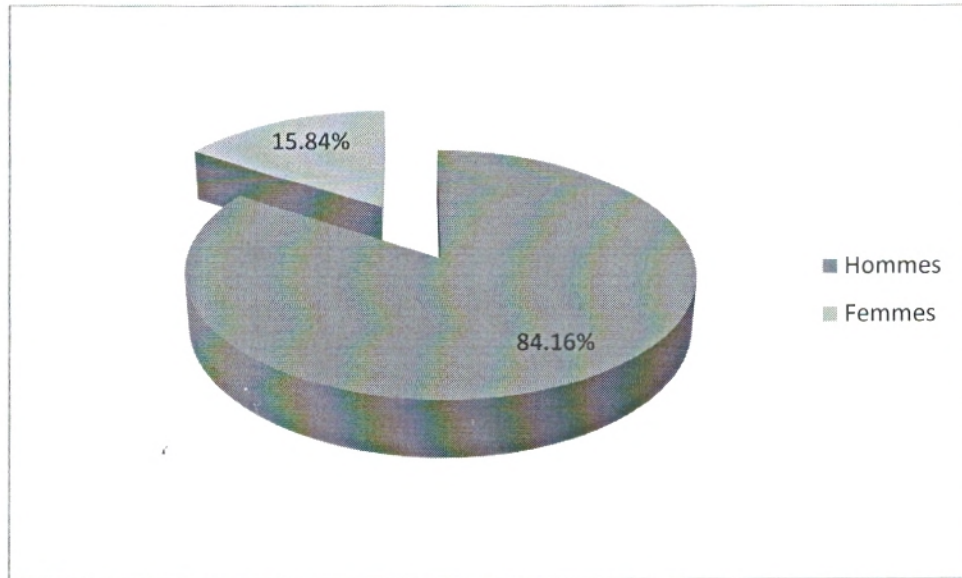


Figure 16 : Sex-ratio de la population témoin

1.1.1.2. Age

Tableau VIII : Répartition des patients en tranches d'âge

Tranches d'âge	n	Pourcentage
< 50 ans	6	7.894 %
50-59 ans	28	36.842 %
60-69 ans	29	38.157 %
≥ 70 ans	13	17.105 %

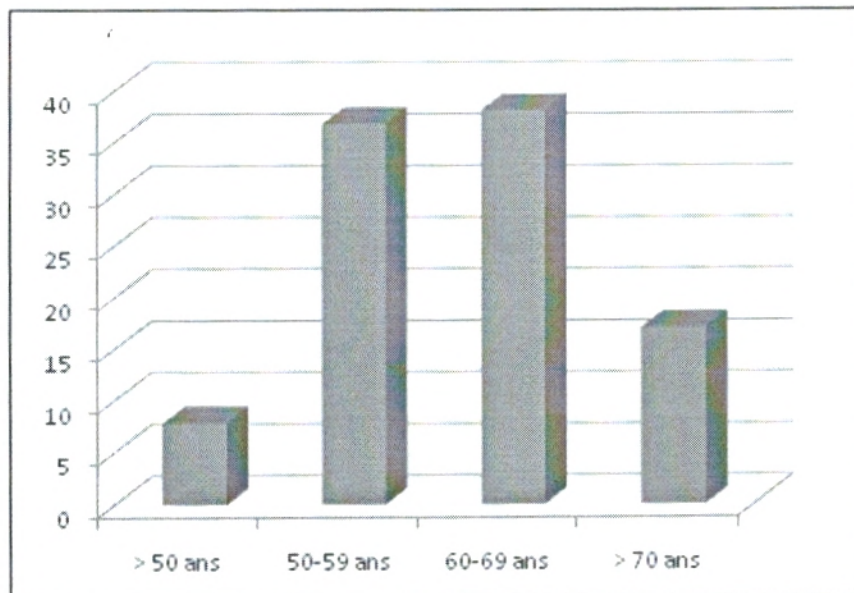


Figure 17 : Répartition de la population malade en tranches d'âge

Tableau IX : répartition des témoins en tranches d'âge

Tranches d'âge	n	Pourcentage
30-39 ans	19	18.81 %
40-49 ans	27	26.74 %
50-59 ans	33	32.67 %
≥ 60 ans	22	21.78 %
Total	101	100 %

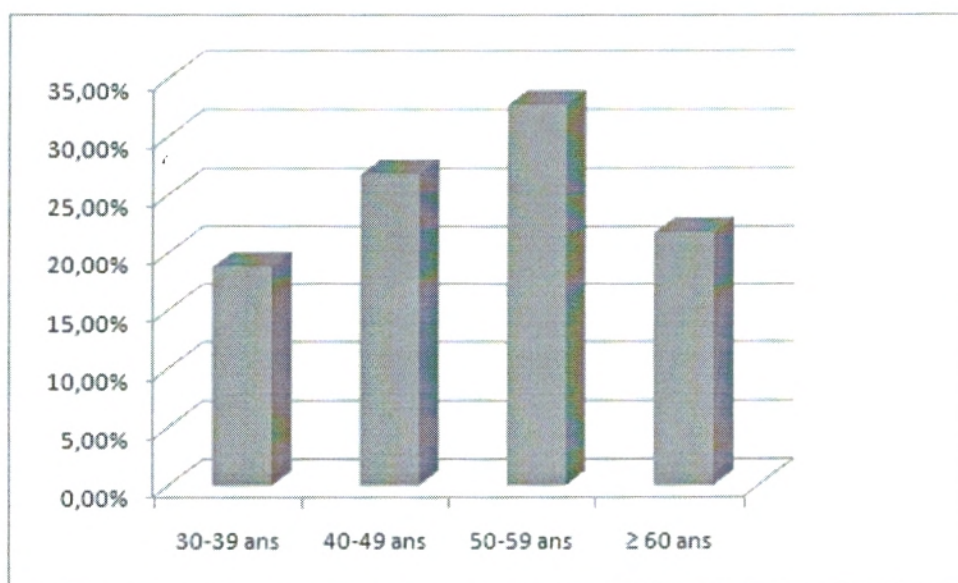


Figure 18 : Répartition des témoins en tranches d'âge

L'âge moyen des patients de l'étude est de 60 ans. Il est à noter que 7.89 % des sujets ont moins de 50 ans, 17.10 % ont plus de 70 ans.

1.1.1.3. Profession

Nous avons à travers l'enquête statistique entreprise, classé les patients en catégories socioprofessionnelles, les résultats ont montré la répartition suivante :

Tableau X: Répartition des malades en catégories socioprofessionnelles

Profession	Pourcentage %
Cadre + Profession intermédiaire	46.052
Agriculteur	5.263

Ouvrier	13.157
Sans profession	35.526

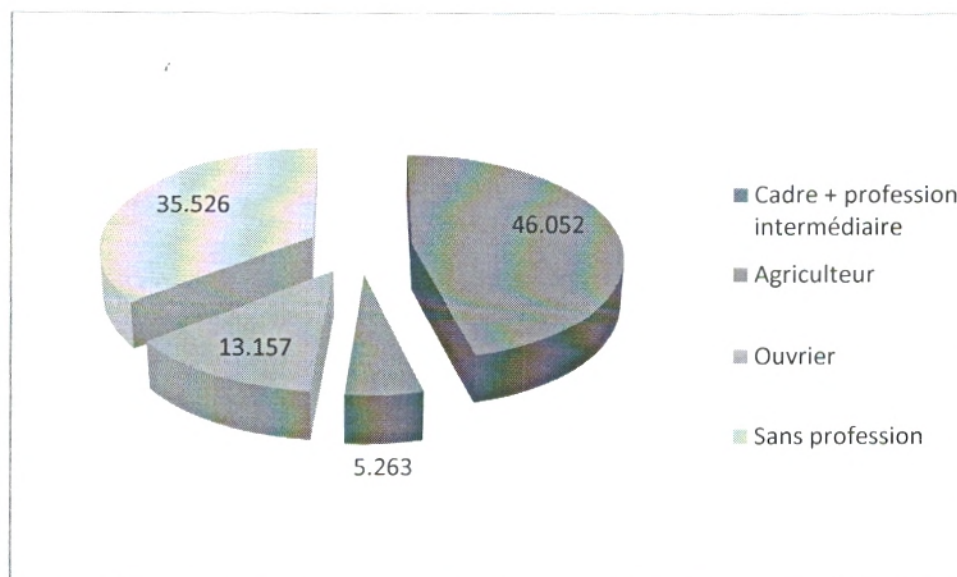


Figure 19 : Répartition des malades en catégories socioprofessionnelles

1.1.2. Habitudes toxiques

1.1.2.1. Tabagisme

Les habitudes tabagiques de la population étudiée sont résumées dans le tableau ci-dessous. Dans le présent travail 100 % des femmes étudiées sont non fumeuses, 4.166 % des hommes sont non fumeurs, le reste des hommes sont des fumeurs ayant commencé à fumer à bas âge, à une moyenne de 54 Paquet-Année (PA).

PA : unité de mesure de la consommation de tabac, Un paquet-année correspond à la consommation de 1 paquet de cigarettes par jour pendant 1 an.

Tableau XI : Répartition des malades selon leur statut tabagique

Tabagisme	Hommes	Femmes
Non fumeurs	4.166 %	100 %
Fumeurs	95.833 %	0 %
Moyenne paquet/année	54.076 PA	0 PA

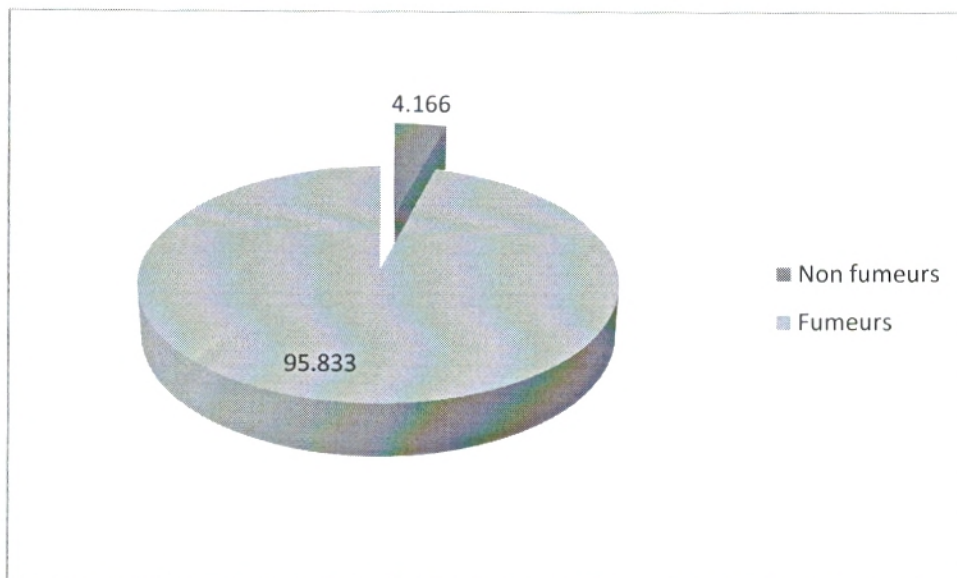


Figure 20: Répartition des malades selon le statut tabagique

1.1.2.2. Alcool

Dans cette étude 39.47 % des patients analysés consommaient de l'alcool

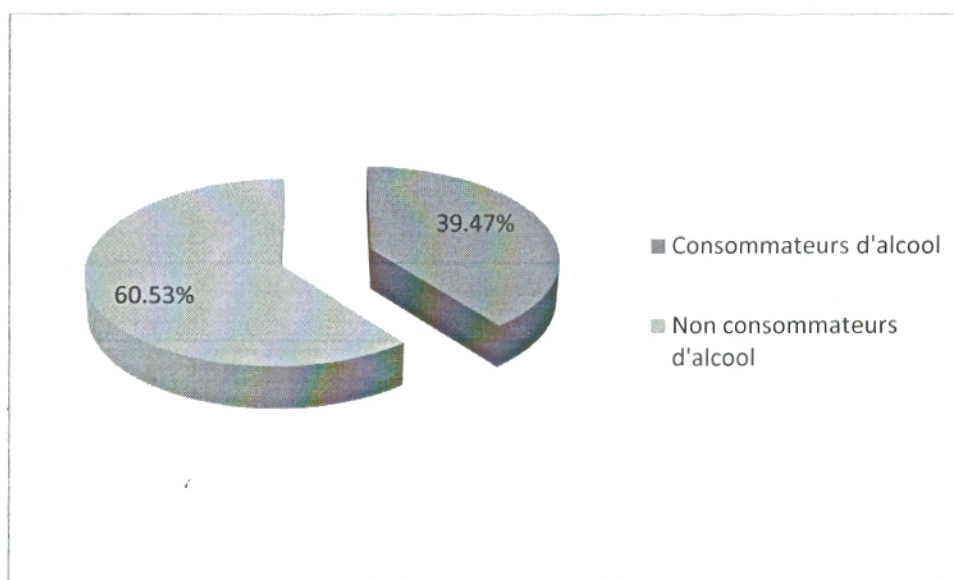


Figure 21 : Répartition des malades selon qu'ils consommaient ou pas de l'alcool

1.1.3. Aspect clinique

1.1.3.1. Type histologique

La répartition des patients selon les types est résumée dans le tableau ci-dessous. On note une nette prédominance du type épidermoïde avec 65.277 %, suivi de l'adénocarcinome avec 27.777 %, puis en dernière position le

carcinome à petites cellules qui représente 6.94 % de la population générale, aucun cas du type à grandes cellules n'a été enregistré.

Tableau XII : Distribution des malades selon leurs types histologiques

Type histologique	Hommes		Femmes	
	Nombre	%	Nombre	%
Epidermoïde	47	65.277	2	50
Adénocarcinome	20	27.777	2	50
CPC	5	6.94	0	0
A grandes cellules	0	0	0	0

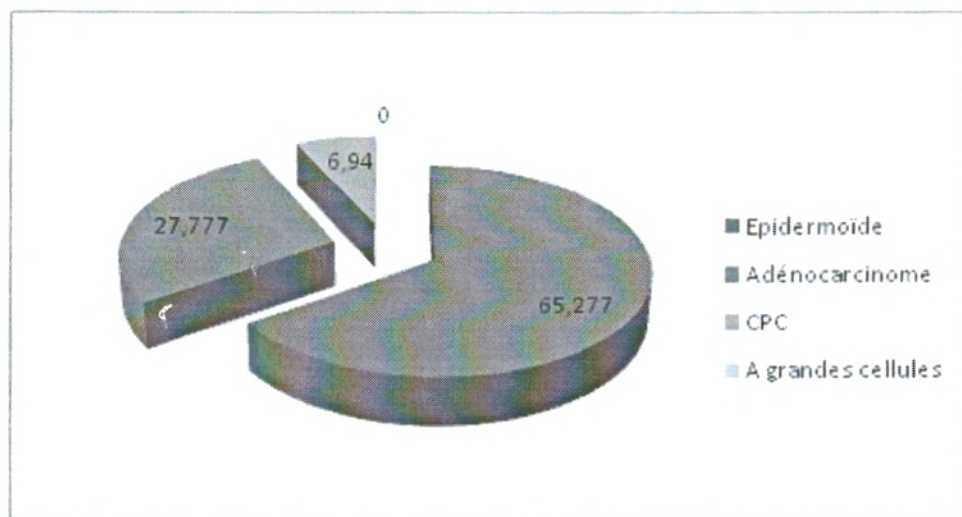


Figure 22 : Répartition de la population malade selon le type histologique

1.1.3.2. Antécédents familiaux

A partir des données recueillies à l'aide du questionnaire, nous avons pu classer nos malades selon leurs antécédents familiaux. La connaissance précise des antécédents familiaux de cancers est essentielle pour savoir s'il existe une transmission héréditaire de ce cancer, quoi que la plupart des cancers diagnostiqués ne semblent pas être reliés à des facteurs héréditaires. Les résultats ont indiqué la répartition suivante:

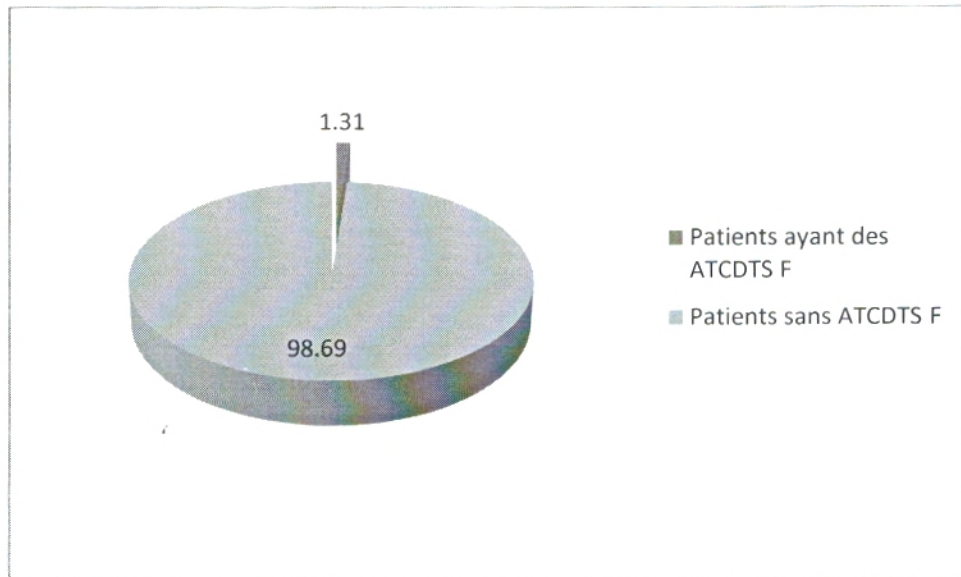


Figure 23 : Répartition des patients selon leurs antécédents familiaux

1.1.3.3. Pathologie pulmonaire préexistante

Dans le but de savoir si une pathologie pulmonaire préexistante expose t-elle le malade à un risque accru de cancer broncho-pulmonaire, nous avons pu recueillir les données suivantes :

Tableau XIII : Répartition des malades selon qu'ils possèdent ou pas une pathologie pulmonaire préexistante

Pathologie	Nombre	Pourcentage(%)
Bronchite chronique (BC)	5	6,58
Tuberculose pulmonaire (TBCP)	6	7,89
Sans pathologie pulmonaire préexistante	65	85,53

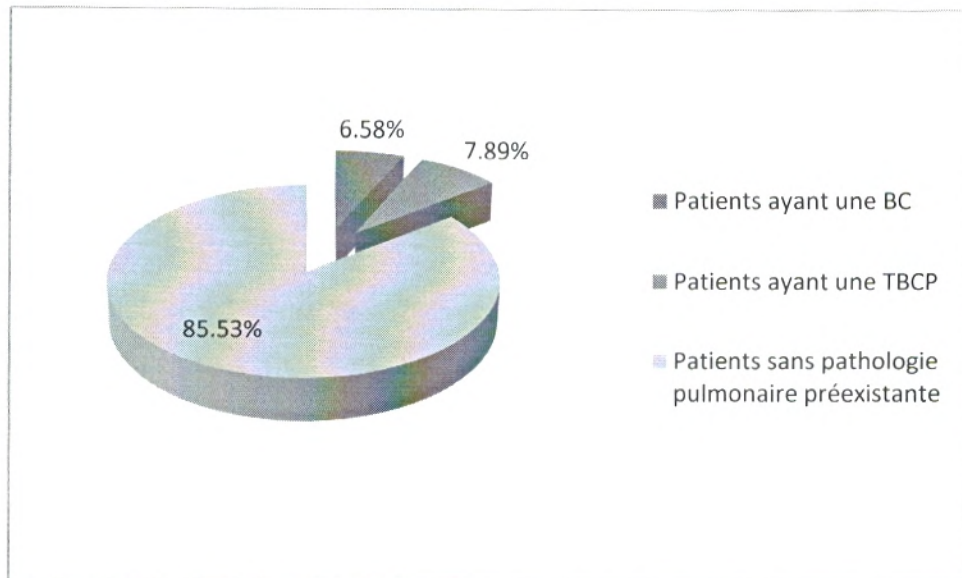


Figure 24: Répartition des patients selon qu'ils possèdent ou pas une pathologie pulmonaire préexistante

1.2. Discussion

Le cancer bronchique constitue un problème majeur de santé publique, et représente la première cause de décès par cancer chez l'homme en Algérie (57). C'est l'un des cancers les plus inquiétants essentiellement pour deux raisons :

- sa fréquence est en augmentation constante
- son pronostic demeure redoutable malgré les progrès thérapeutiques

Caractéristiques sociodémographiques

Les caractéristiques avoisinent celles rapportées dans la littérature. Ainsi, en ce qui concerne le pourcentage des femmes atteintes de cancer broncho-pulmonaire, on remarque qu'il touche beaucoup plus les hommes ; Cette variation importante liée au sexe est en rapport direct avec la consommation tabagique insignifiante dans la population féminine (57). Aujourd'hui, les différences de comportement entre hommes et femmes sont moins marquées, notamment pour les plus jeunes (58).

De même pour l'âge médian, le chiffre indiqué dans cette étude 60 ans est proche de celui rapporté dans la littérature. (59), (60).

Il existerait un risque accru de cancer bronchique primitif pour les catégories sociales les plus défavorisées, indépendamment du risque lié au tabac, ce qui est

également observé dans la littérature, ce cancer est 3.5 fois plus fréquent chez les ouvriers et les employés que chez les cadres supérieurs (58).

Des risques élevés de cancer du poumon ont également été observés dans plusieurs professions ou industries, sans que les expositions en cause aient été clairement identifiées, notamment chez les peintres (78), mais également dans l'industrie du caoutchouc (79), chez les bouchers (80), les coiffeurs (81), les travailleurs du bois (82), du cuir (83), et de l'imprimerie (84), (85).

Le rôle des expositions professionnelles dans la survenue d'un cancer broncho-pulmonaire reste largement méconnu, en raison du nombre limité d'études portant sur les facteurs professionnels de ce cancer.

Tabagisme

Le tabagisme joue un rôle fondamental en tant que facteur de risque dans les deux sexes ; ainsi l'augmentation de l'incidence des cancers pulmonaires au cours de ces dernières années suit la recrudescence du tabagisme. La consommation annuelle de tabac en Algérie est estimée à 25,000 tonnes, avec un accroissement annuel en moyenne de 5 % par an, surtout pour les cigarettes blondes (57).

La fréquence des sujets non-fumeurs est nettement plus élevée chez les femmes que chez les hommes. La survenue d'un cancer bronchique chez un sujet non-fumeur est très rare. Il est à noter que pour le tabagisme les résultats de l'enquête sont parfois biaisés pour les femmes qui pour des raisons socioculturelles nient le fait d'avoir fumé.

Répartition histologique

La répartition des différents types histologiques dans cette étude concorde avec celle observée dans la littérature (59), (61), (91). Le type dominant est le carcinome épidermoïde suivi de l'adénocarcinome, du carcinome à petites cellules puis vient en dernière position le carcinome bronchique à grandes cellules. Ces variations sont étroitement liées aux habitudes et coutumes vis-à-vis du tabac (début, durée, quantité) (62).

Pathologie pulmonaire préexistante

Quelques maladies respiratoires ont été associées à un risque accru de cancer bronchique. La plus fréquente ; la broncho-pneumopathie chronique obstructive, est liée à une augmentation significative du risque de cancer du poumon, et à tabagisme égal les fumeurs bronchitiques chroniques présentent un risque supplémentaire de développer un cancer broncho-pulmonaire(63). Les résultats présentés dans cette étude indiquent qu'uniquement 6,58 % des

patients avaient développé une bronchite chronique, le reste en est parfaitement indemne.

Antécédents familiaux

Un facteur héréditaire est le plus souvent soupçonné devant une agrégation familiale de cancers. Cette situation ne concerne que les pathologies ayant un mode de transmission mendélien, qui représentent 5 à 10 % des cancers (64). Quelques agrégations familiales ont été rapportées pour les cancers du poumon, comme pour l'ensemble des autres cancers fréquents ; les apparentés du premier degré d'une personne atteinte d'un cancer donné ont un risque deux à quatre fois plus élevé de développer le même type de cancer que la population générale(32). Les études réalisées sur les jumeaux suggèrent que ces agrégations familiales sont, pour une grande part, dues à des facteurs génétiques. Le risque de développer un cancer du poumon pour une personne dont le vrai jumeau est lui-même atteint d'un cancer du poumon est augmenté de 10 %. Cependant, dans la majorité des cas, les loci associés au cancer ne sont pas encore connus (32). L'analyse de la généalogie des patients de l'étude, montre qu'il n'ya quasiment pas d'agrégations familiales de cancer bronchique ou autre. Ceci s'explique par l'existence d'une composante héréditaire non perceptible par la généalogie, et qui interagit avec l'environnement dans la genèse de ce cancer (64).

2. L'étude moléculaire

2.1. Résultats

L'étude génétique de la mutation C677T du gène MTHFR a concerné 26 cas atteints d'un cancer bronchique, et 101 témoins sains sélectionnés de façon aléatoire.

Dans le présent travail nous nous sommes proposés de déterminer les fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme C677T chez la population malade et de les comparer à celles établies chez les témoins sains.

2. 1.1. Répartition des fréquences génotypiques chez les cas et les témoins

Le tableau ci-dessous indique les fréquences génotypiques du polymorphisme C677T de la MTHFR chez les cas et les témoins.

Tableau XIV : Fréquences génotypiques chez les cas et les témoins

Génotypes	Témoins		Cas	
	n	%	n	%
CC	45	45.5	17	65.38
CT	46	45.5	5	19.24
TT	10	10	4	15.38
Total	101	100	26	100

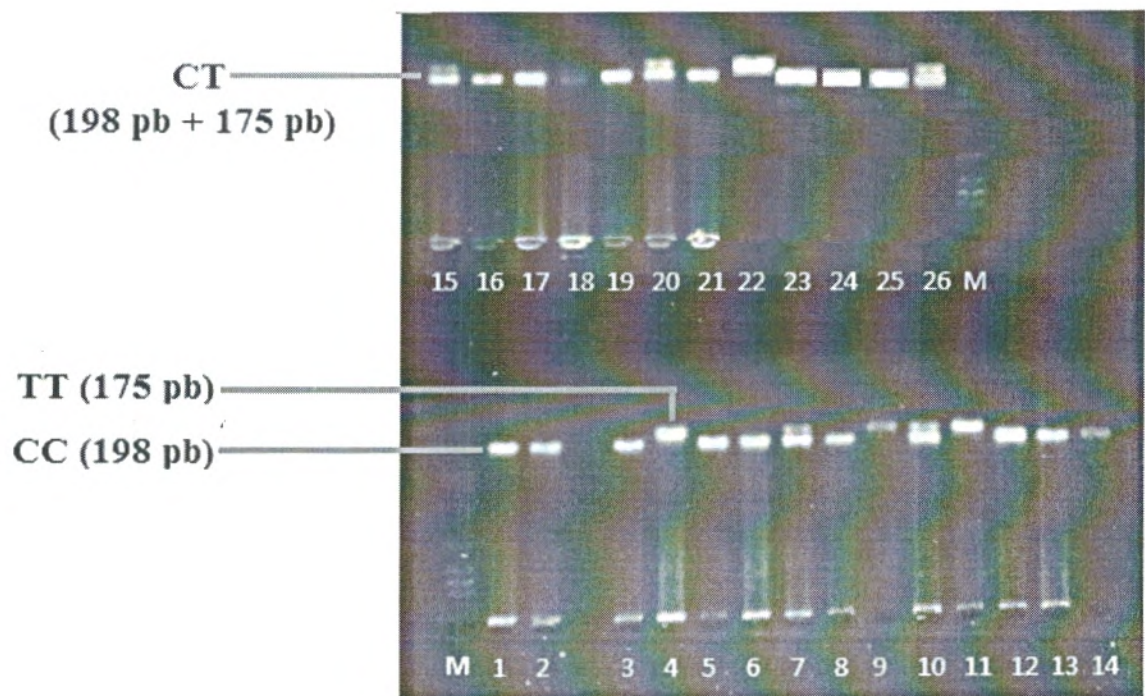


Figure 24 : Profil de digestion par l'enzyme *Hinf* I des ADN des malades

La fréquence génotypique TT du gène *MTHFR* dans la population malade est de 15.38 %, la fréquence des hétérozygotes chez les mêmes sujets est de 19.24 %, et celle du génotype homozygote normal est de 65.38 %. Nous constatons que la fréquence du génotype homozygote muté chez les cas est légèrement élevée par rapport à celle observée dans la population témoin, et que la distribution des trois génotypes suit un ordre décroissant pour les génotypes CC, CT, TT respectivement ; et ce chez les deux populations témoin et saine.

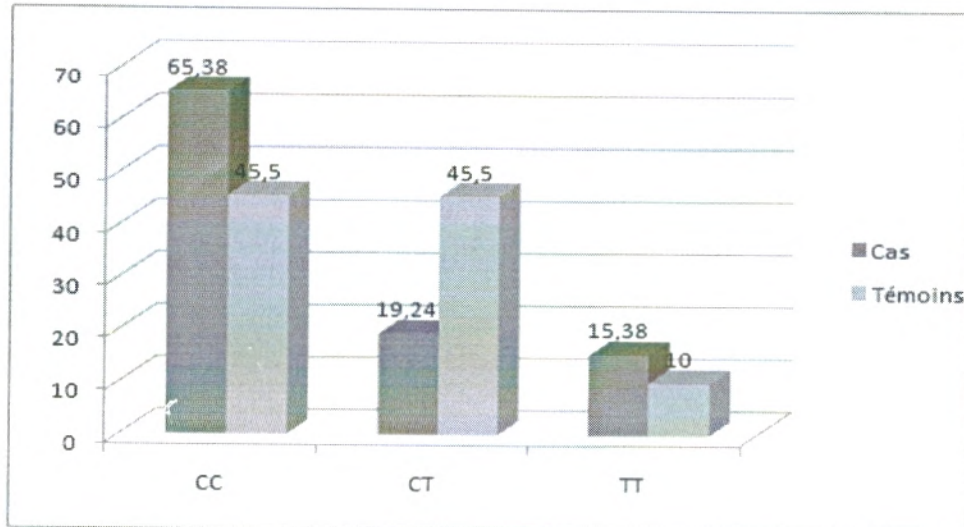


Figure 25 : Répartition des fréquences génotypiques chez les cas et les témoins

2.1.2. Distribution mondiale du polymorphisme C677T

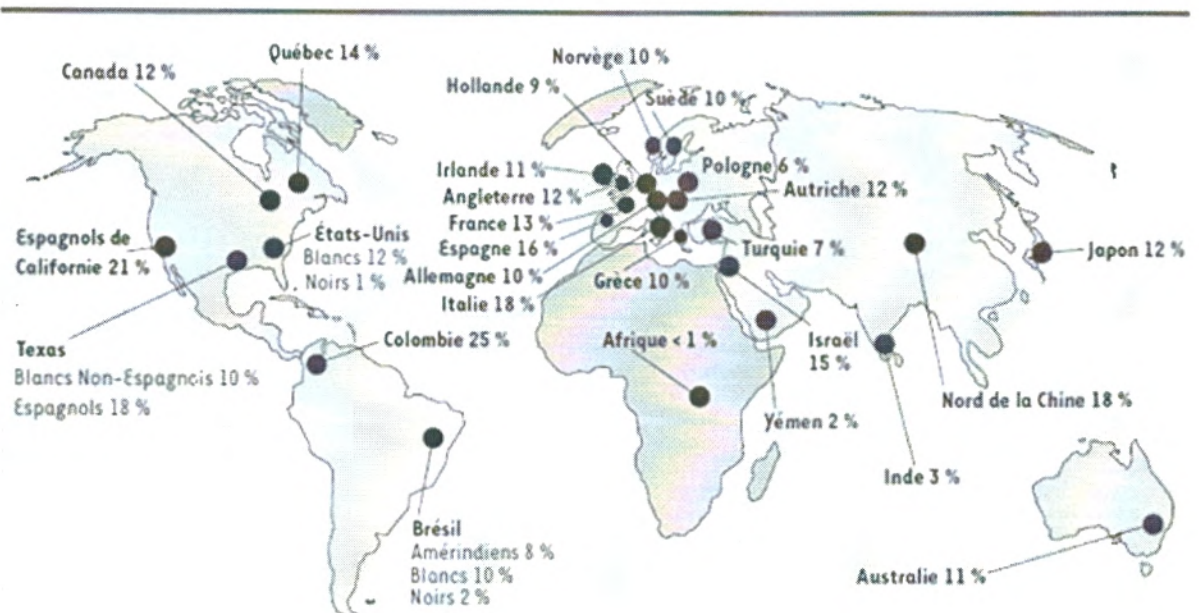


Figure 26 : Fréquence des homozygotes TT pour différentes régions géographiques (51)

La distribution mondiale du polymorphisme C677T est très hétérogène et correspond géographiquement à une répartition croissante Nord-Sud, notamment en Europe et en Amérique du Nord. C'est ainsi qu'en Europe, la fréquence du génotype TT est faible au nord (4 à 7 % en Finlande et en Russie), intermédiaire au centre (8 à 10 % en France, 12 à 15 % en Espagne et au nord de l'Italie) et élevée au sud (20 à 26 % en Sicile). Un gradient similaire a été

trouvé en Amérique du Nord, où la fréquence du génotype TT augmente de l'ouest du Canada (Alberta) au sud-est des États-Unis, pour atteindre un pic au Mexique (65). Une analyse des populations caucasienne et asiatique montre que 12 % sont homozygotes mutés TT, et que plus de 50% sont hétérozygotes CT (92). Les importantes variations géographiques et ethniques du polymorphisme C677T restent toujours mal comprises ; cependant les auteurs ont souligné l'interaction gène-facteurs alimentaires : le contenu alimentaire en acide folique semble plus important dans les populations du sud (riche en végétaux verts et céréales), par rapport aux populations nordiques (65).

2.1.3. Répartition des fréquences alléliques chez les cas et les témoins

Tableau XV : Fréquences alléliques chez les cas et les témoins

Allèles	Témoins		Cas	
	n	%	n	%
C	136	67.3	39	75
T	66	32.7	13	25
Total	202	100	52	100

Le tableau montre que la répartition des allèles de la MTHFR est inégale chez les deux populations malade et saine, avec une nette prédominance de l'allèle C chez les deux groupes. La fréquence de l'allèle T chez les malades est de 25 %, celle retrouvée chez les témoins sains est de 32.7 % ; ce qui témoigne probablement de la non implication de l'allèle T dans la survenue d'un cancer broncho-pulmonaire.

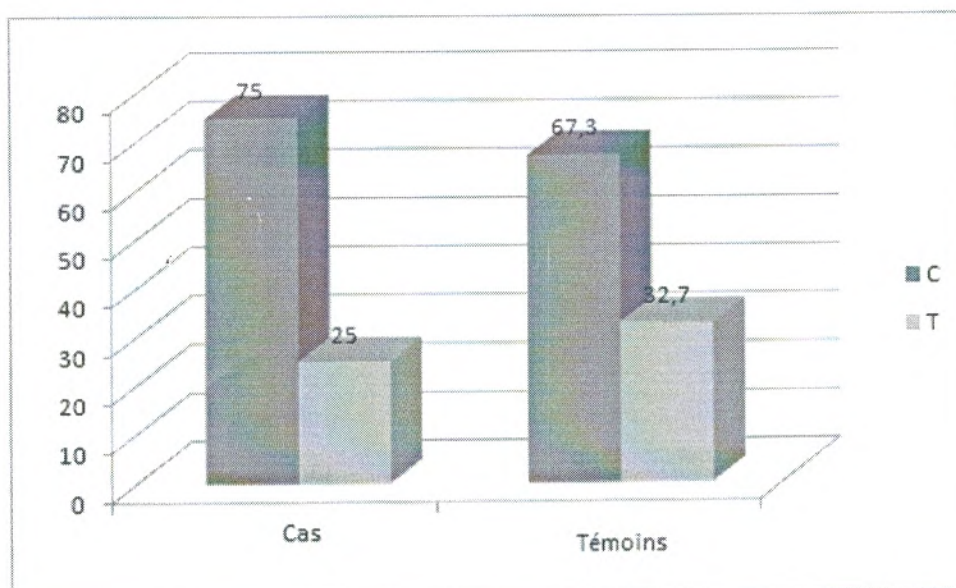


Figure 27 : Répartition des fréquences alléliques chez les patients et les témoins

2.1.4. Fréquences alléliques de l'allèle T du gène *MTHFR* dans le monde

La fréquence allélique comme celle génotypique varie selon l'origine ethnique. La fréquence allélique T du variant C677T est de 0.36-0.44 chez les européens, 0.35-0.53 chez les asiatiques, 0.33-0.35 aux états unis et 0.10-0.24 chez les Américains d'origine africaine. (89)

Tableau XVI : Calcul des odds-ratio des sujets ayant un génotype TT, CT par rapport aux sujets ayant un génotype CC

	Odds Ratio	P
TT vs CC	1.06 0.29<OR<3.8	NS
TT+CT vs CC	0.42 0.17<OR<1.05	NS

2.2. Discussion

Le tableau indique qu'il n'est pas mis en évidence de lien entre le génotype homozygote muté TT et le cancer broncho-pulmonaire, ce qui concorde avec certaines études mais pas avec d'autres ; ainsi Hongbing Shen et al. montrent sur une population aux états unis que le variant C677T ne joue pas un rôle dans l'étiologie du cancer du broncho-pulmonaire (50).

Suzuky et al dans une autre étude au japon n'ont trouvé aucune association entre cancer du poumon et variant C677T (66).

Néanmoins plusieurs autres études ont pu mettre en évidence une association entre cancer du poumon et mutation C677T ;

Shen M et al. Dans une étude en chine portant sur 12 gènes impliqués dans le métabolisme des folates et leur association avec le cancer du poumon, ont indiqué que les porteurs du variant C677T de la MTHFR sont à plus haut risque de cancer du poumon par rapport à ceux ne portant pas l'allèle T (67).

Vineis et al. Dans une étude similaire menée en Europe, ont mis en évidence l'association entre le polymorphisme C677T et le cancer du poumon (68).

Pareillement Siemianowicz et al dans une population polonaise ont trouvé que le variant C677T confèrerait un haut risque au cancer du poumon (69).

Hung et al indiquent aussi -dans leur cohorte menée sur 6 pays de l'Europe centrale un effet modéré du variant C677T sur le risque de cancer du poumon (70).

X.M.Zhang et al démontrent aussi dans leur étude sur une population chinoise que les génotypes portant la mutation C677T sont associés à un haut risque de cancer du poumon, et donc un polymorphisme de fonction touchant l'enzyme est lié à un haut risque de cancer du poumon dans la population chinoise (71).

Une récente méta analyse sur le cancer du poumon rapporte une augmentation du risque de cancer du poumon pour les porteurs du génotype TT de la MTHFR surtout pour ceux ayant un apport alimentaire insuffisant en folates (72).

Des résultats sur le rôle protecteur de la mutation ont également été rapportés, ainsi Jeng et al dans une autre étude menée sur une population chinoise ont indiqué que le variant C677T réduirait peut être le risque de cancer du poumon (73).

CONCLUSION

Conclusion

Afin de mieux connaître l'étiologie du cancer du poumon ; première cause de mortalité par cancer dans le monde, et d'envisager des moyens de prévention nous avons entrepris d'en évaluer l'incidence et les causes.

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

- Une enquête descriptive rétrospective menée sur 76 malades.
- Une étude moléculaire de type cas-témoins portant sur 26 malades et 101 témoins sains, sélectionnés aléatoirement au sein du Centre Hospitalier Universitaire de Constantine (CHUC).

L'étude moléculaire a porté sur l'enzyme MTHFR du métabolisme des folates : L'enzyme 5-10 méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR) est une enzyme clé dans le métabolisme des folates. MTHFR joue un rôle dans les processus de méthylation de l'ADN, qui à son tour joue un rôle primordial dans la régulation de l'expression des gènes et le maintien de la stabilité génomique. La MTHFR est également impliquée dans la production de désoxythymidine monophosphate (dTMP) via la synthèse de purines et la thymidilate synthase. MTHFR est donc un élément essentiel à la provision de nucléotides nécessaires à la synthèse d'ADN et sa réparation. Le gène MTHFR a été localisé sur le chromosome 1, en 1p36.3. Une mutation ponctuelle dans sa région codante, entraînant la substitution d'une cytosine par une thymidine au niveau de la 677^e paire de base dans le quatrième exon (C677T), aboutit à la substitution d'une alanine par une valine dans la séquence protéique.

Dans le présent travail, nous nous sommes proposés de vérifier s'il existe une association entre ce polymorphisme et le cancer du poumon ; en effet, il existe des arguments expérimentaux et épidémiologiques pour penser que le polymorphisme C677T de la MTHFR pourrait être un facteur de risque de cancer bronchique. Cependant, ce polymorphisme a donné lieu à un nombre relativement restreint d'études limitant ainsi les évidences d'un lien direct entre ce polymorphisme et le cancer du poumon.

Les résultats de l'enquête rétrospective ont montré que :

- Le cancer broncho-pulmonaire touche beaucoup plus les hommes 94.73 % que les femmes et représente la première cause de décès par cancer chez l'homme en Algérie
- Le tabagisme reste le facteur étiologique le plus incriminé ; ainsi 95.833 % des malades sont des fumeurs.

- L'âge moyen des malades est de 60 ans.
- Le type épidermoïde est le plus diagnostiqué avec un taux de 65.277 %.
- Le risque est accru pour les catégories sociales défavorisées.
- Il n'y a quasiment pas d'agrégations familiales de cancer du poumon ou autre cancer chez les patients étudiés.

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

Les données sur le polymorphisme MTHFR, tant au plan expérimental que clinique, sont encourageantes et appellent des travaux complémentaires de confirmation.

Les polymorphismes des enzymes du métabolisme des xénobiotiques sont les facteurs de susceptibilité jusqu'à présent les plus étudiés, notamment les cytochromes P450, et l'étude de l'impact de leur polymorphisme sur le cancer bronchique est envisageable.

Enfin, la prévention du cancer du poumon par la lutte contre le tabac et l'aide au sevrage des sujets fumeurs reste la meilleure stratégie qu'il faut opposer à ce cancer.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

1. **Marie Christine Pailler., Jean Francis Morère.** Cancer du poumon chez le sujet âgé: traitement du carcinome bronchique non à petites cellules. Cancer du sujet âgé. Oncologie pratique, N°10, P 133-144, 2007
2. **E. Dansin., CH. Marquette e., JJ. Lafitte.** Cancer bronchique. 2006
3. **K.Boudaoud.** Traitement en radio-chimiothérapie concomitante des cancers bronchiques non à petites cellules (CBNPC) localement avancés. Thèse pour l'obtention du diplôme de doctorat en médecine. 2009
4. **Denise Léger Boucher.** Anatomie et physiologie. 3^{ème} édition. Edition du renouveau pédagogique. 1985
5. **T.Bommas.** Cours d'anatomie. Editions de boeck. 2008
6. **Dee Unglaub Silverthorn et al.** Physiologie humaine; une approche intégrée. éditions pearson education. 2007
7. **Gerard J. Tortora., Sandra R. Grabowski.** Principes d'anatomie et de physiologie. De Boeck Université, 2002
8. **WD.Travis., T.V.Colby., B.Corrin et al.** Histological typing of lung and pleural tumors. In collaboration with L.H.Sobin and pathologists from 14 countries. World health organization. International histological classification of tumors. springer 1999
9. **E.Brambilla.** Classification des cancers broncho-pulmonaires (OMS 1999). Maladies respiratoires, 19: 455-66. 2002
10. **www.iaslc.org**
11. **Phil. Nicolas Broccard., Susanne Lanz.** Le cancer du poumon. ligue suisse contre le cancer. 2007
12. **Nicolas Daly Schweitzer.** Cancérologie clinique. Elsevier Masson. 2008
13. **Quoix., Mennecier.** Cancers Bbronchopulmonaires primitifs, épidémiologie, étiologie, anatomie pathologique, diagnostic et traitement. Faculté de médecine de Strasbourg. 2006
14. **Benjamin Besse., Thierry Le Chevalier.** Cancers bronchiques opérables. John Libbey Eurotext.2008
15. **Alain Depierre.** Cancers broncho-pulmonaires : mise au point. John Libbey Eurotext.2006
16. **Jean Trédaniel.** Le cancer du poumon. Elsevier Masson. 2004
17. **Annie J. Sasco.** Epidémiologie des cancers. Médecine thérapeutique vol 6, N° 10 P 820-825, 2000
18. **Pisani P., Parkin D.M., Ferlay J.** Estimates of the worldwide mortality from eighteen major cancers in 1985. Implications for prevention and projections of future burden. Journal of Cancer 55: 891-903. 1993.

19. **Parkin D.M., Läära E., Muir C.S.** Estimates of the world wide frequency of sixteen major cancers in 1980. *International Journal of Cancer* 41: 184-197. 1988.
20. **L. Thiberville., C. Paris.** Epidémiologie et facteurs de risque des cancers bronchiques primitifs. *EMC Pneumologie*. Vol 1, p 7-18.2004
21. **H.Bartsch., E.Hietanen.** The role of individual susceptibility in cancer burden related to environmental exposure. *Environ Health Perspect* N°104, P 569-577. 1996
22. <http://globocan.iarc.fr/>
23. **D.Hammouda., N.ait hamadouche., M.Afiane., A.Bouhadef.** Enquête nationale sur l'incidence et la prévalence des cancers.2002
24. **A.Nehal., N.Kaced., C.Idder Laib., A.Lebib., R Alloula, M.Haddar.** Cancers du poumon et de la plèvre d'origine professionnelle.
25. **Robert N. Anderson.** United States Cancer Statistics: Incidence and Mortality.2007 www.cdc.gov/uscs
26. **E.L.Winder, J.E.Muscat.** The changing epidemiology of smoking and lung cancer histology. *Environ health perspect* 103. P 143-148. 1995
27. **Philippe H Beaune., Marie.Anne.Lauriot.** Bases moléculaires de la susceptibilité aux xénobiotiques : aspects métaboliques. In *médecine /sciences*. Octobre 2000
28. **Philippe Beaune.** Alimentation et cancer: interactions entre génétique et xénobiotiques. *Gastroentérologie Clinique et Biologique* Vol 25, N° 4 - 2001
29. **Michel Boiron., Michel Marty.** Eurocancer 2007. John Libbey Eurotext.2007
30. **Etienne Cabarrot., Jean léon lagrange., jean michel zucher.** Cancérologie Générale, édition 2. Elsevier Masson, 2007
31. **H.Skuladottir., J.H.Olsen.** Epidemiology of lung cancer. *European respiratory Journal* 17.P 1-12. 2001
32. **S.Benhamou.** Susceptibilité génétique au cancer du poumon et aux cancers des voies aérodigestives supérieures. *Pathol Biol*. 2009
33. **P .Kamoun., A. Lavoine., H. de verneuil.** Biochimie et biologie moléculaire. Flammarion. 2003
34. **Y. Guéguen., K.Mouzat., L.Ferrari et al.** Cytochrome P450 : Xenobiotic metabolism. *Annales de biologie clinique*. Décembre 2006
35. **Emilien Palletier., P.G.C.Campbell., Francine Denizeau.** Ecotoxicologie moléculaire : principes fondamentaux et perspectives de développement. 2004
36. **S.Benhamou.** Polymorphismes des enzymes du métabolisme des xénobiotiques, tabac et cancer: bilan des données épidémiologiques: 2001
37. **S Alexander.** Induction des cytochromes P450: stress oxydant et susceptibilité individuelle. INSERM.2000

38. **Lacave Roger., Jaques Larsen Christian., Robert jaques.** Cancérologie fondamentale : part des facteurs génétiques et environnementaux dans le cancer. John Libbey Eurotext. 2005
39. **Martinet Yves., Bohadana Abraham.** Le tabagisme: substances cancérigènes. Medical.2004
40. **Sophia Agelaki., Hisao Asamura., Thierry Berghmans et al.** lung cancer. Editions Heine Hansen.2000
41. **M.Haag., N.Frossard, F.Pons.** Cytochromes P450 et GST pulmonaires. 2001
42. **Robert R Lauwerys., Vincent Haufroid., Perrine Huet et al.** Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles. Edition 5.Elsevier Masson. 2007
43. **Jean Marie Andrieu., Pierre Colonna., Raphaël Lévy.** Cancers : guide pratique d'évaluation, de traitement et de surveillance. Estem.1997
44. **François Moère Jean., Le chevalier Thierry.** Les cancers intrathoraciques. Springer 2004
45. **Geneviève potier de courcy.** Le point sur le rôle des folates. cholé doc. 2005
46. **Laurent Peyrin-Biroulet.,Hélène Barraud .,David Ancel et al .** Métabolisme des folates et cancérogenèse colorectale. Gastroentérologie Clinique et Biologique Vol 28, N° 6-7p. 582-592.2004
47. **A.Chango.** Les folates dans la prévention et dans le déterminisme du cancer. Journal Africain du Cancer, Vol 2. P 171-177. 2010
48. **Voorrips L. E., Goldbohm R. A., Verhoeven D. T., et al.** Vegetable and fruit consumption and lung cancer risk in the Netherlands Cohort Study on diet and cancer. Cancer Causes Control, 11: 101-115, 2000
49. **Thomas O.Frommel., Sohrab Mobarhan.** Folate: effects on carcinogenesis and the potential for cancer chemoprevention. Oncology vol 10 N°11. 1996
50. **Hongbing Shen., Margaret R.Spitz et al.** Polymorphisms of MTHFR and risk of lung cancer a case-control Study.Cancer EpidemiologyBiomarkers&Prevention. 10. 397-401. 2001
51. **Daniel Leclerc., Rima Rozen.** Génétique moléculaire de MTHFR. Medecine/Science N° 25.P 297-302. 2007
52. **Franco RF., Morelli V., Lourenço D., et al.** A second mutation in methylenetetrahydrofolate reductase gene and the risk of venous thrombotic disease. British Journal of Haematology; 105(2): 556-559. 1999
53. **Monika GOS., Agnieszka Szpecht.** Genetic basis of neural tube defects. II. Genes correlated with folate and methionine metabolism; J. Appl. Genet. 43(4), P511-524. 2002
54. **Sinnet Daniel., N'diaye Nina., Labuda Damian et al.** Les déterminants génétiques de la leucémie de l'enfant. Bulletin du cancer. Vol 93, N°9, 857-65,2006

55. **Ma J, Stampfer M. J., Giovannucci E et al.** Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, dietary interactions, and risk of colorectal cancer. *Cancer Res.*, 57: 1098-1102, 1997
56. **Skibola C. F., Smith M. T., Kane E et al.** Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene are associated with susceptibility to acute leukemia in adults. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96: 12810-12815, 1999
57. **Hamdi Cherif.** Epidémiologie du cancer. Service Epidémiologie et Médecine Préventive de Sétif.2010
58. **Laurence Aveline.** Cancérologie. Estem 2001
59. **F. Blanchon., M. Grivaux., T. Collon et al.** Epidémiologie du cancer bronchique primitif pris en charge dans les centres hospitaliers généraux français. *Revue des maladies respiratoires*. Vol 19, N°6. P
60. **F.El Mezni., N. Mrabet., O.Ismail.** Profil anatomopathologique du cancer du poumon en Tunisie. *Tunisie médicale*. Vol 83. N°3. P 157-162.2005
61. **Bertrand Dauzenberg.** Pneumologie et soins infirmiers. Lamarre. 2008
62. **Alain Depierre.** Cancers broncho-pulmonaires : mise au point. John Libbey Eurotext.2006
63. **M.Tockman.** Other host factors and lung cancer susceptibility. *Epidemiology of lung cancer* N°74. P 397-412.1994
64. **Serge Évrard., François Guillemin., Jacques Dauplat.** Chirurgie oncologique : concepts et techniques. John Libbey Eurotext. 2006
65. **Z. Jerbi., M. Abdennebi., H. Douik., H. Ben Romdhane et al.** Étude du polymorphisme C677T du gène de la méthylène-tétrahydrofolate réductase dans la population tunisienne. *Annales de Biologie Clinique*. Vol 63, N° 5, 487-91, 2005
66. **Takeshi Suzuki., Keitaro Matsuo et al.** Impact of one carbon metabolism related gene polymorphisms on risk of lung cancer in Japan a case control study. *Carcinogenesis*. 28. P 1718-1725. 2007
67. **Shen M et al.** Polymorphisms in folate metabolic genes and lung cancer risk in Xuan Wei China. *Lung Cancer* 49, 299-309. 2005
68. **P.Vineis., F.Veglia et al.** Genetic susceptibility according to three metabolic pathways in cancers of the lung and bladder and in myeloid leukemias in nonsmokers. *Annals of Oncology*. 18 p 1230-1242; 2007
69. **K.Siemianowicz., J.Gminski et al.** Methylenetetrahydrofolate Reductase gene C677T and A1298C polymorphisms in patients with small cell and non small cell lung cancer. *Oncology Reports* 10. P 1341-1344. 2003
70. **Hung R.J et al.** Folate related genes and the risk of tobacco related cancers in Central Europe. *Carcinogenesis* 28; P 1334-1340. 2007

71. **X.M.Zhang., X.P.Miao et al.** Association between genetic polymorphisms in methylenetetrahydrofolate reductase and risk of lung cancer. *Zhongguo Yie XueKeXue Yuan Xue Bao.*27(6) p 700-703.2005
72. **Stefania Boccia., Paola Boffetta et al.** Meta –Analyses of the MTHFR C677T and A1298C polymorphisms and risk of head and neck and lung cancer. *Cancer Letters* 273 p55-61 2009
73. **Y.LinJeng., Mei.Hsuan Wu et al.** The MTHFR C677T polymorphism and lung cancer risk in a chinese population. *Anticancer Research* 23: 5149-5152. 2003
74. **Peter Renton., Paul Butter.** *Imagerie médicale.* Elsevier Masson. 2005
75. **Alan Stevens.,James-S Lowe,Barbara Young.** *Anatomie pathologique: Atlas de Wheater.* Editions de boeck. 2004
76. **Travis WD., Brambilla E., Muller-Hermelink HK. ,Harris CC** World Health Organization. *Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart.* IARC Press : Lyon 2004.
77. **Daniel Anthoine., Jean-Claude Humbert.** *Atlas de pathologie thoracique.* Springer 2007
78. **Siemiatycki J., Richardson L., Straif K., Latreille B., Lakhani R., Campbell S., Rousseau MC., Boffetta P.** Listing occupational carcinogens. *Environ Health Perspect.* 2004, 112 :1447-59
79. **Kogevinas M., Sala M., Boffetta P., Kazerouni N., Kromhout H., Hoar-Zahm S.** Cancer risk in the rubber industry: a review of the recent epidemiological evidence. *Occup Environ Med* 1998; 55:1-12
80. **Boffetta P., Gridley G., Gustavsson P., Brennan P., Blair A., Ekstrom AM., Fraumeni JF Jr.** Employment as butcher and cancer risk in a record-linkage study from Sweden. *Cancer Causes Control.* 2000;11:627- 33.
81. **Czene K., Tiikkaja S., Hemminki K.** Cancer risks in hairdressers: assessment of carcinogenicity of hair dyes and gels. *Int J Cancer.* 2003;105:108–112.
82. **Barcenas CH., Delclos GL., El-Zein R., Tortolero-Luna G., Whitehead LW., Spitz MR.** Wood dust exposure and the association with lung cancer risk. *Am J Ind Med.* 2005;47:349-57
83. **Iaia TE., Bartoli D., Calzoni P., Comba P., De Santis M., Dini F., Farina GA., Valiani M., Pirastu R.** A cohort mortality study of leather tanners in Tuscany, Italy. *Am J Ind Med.* 2006;49:452-9
84. **Lynge E., Rix BA., Villadsen E., Andersen I., Hink M., Olsen E., Moller UL., Silfverberg E.** Cancer in printing workers in Denmark. *Occup Environ Med.* 1995;52:738-44
85. **Leon DA., Thomas P., Hutchings S.** Lung cancer among newspaper printers exposed to ink mist: a study of trade union members in Manchester, England. *Occup Environ Med.* 1994;51:87- 94
86. **Carmen Ferreiro., I. Edward Alcamo.** *Lung Cancer.* Infobase Publishing, 2007
87. **Pierre Hainaut.** Mécanismes de la cancérogenèse. Rapport biennal 2009
88. **Gerald Litwack.** Folic acid and folates , Volume 79. Academic Press, 2008

89. **Alexander Haslberger.** Epigenetics and Human Health: Linking Hereditary, Environmental and nutritional aspects. Wiley-VCH, 2010
90. **Robert L. Carafaro.** Focus on lung cancer research. Nova publishers. 2005
91. **Jean-Luc Moretti., Pierre Weinmann., Feyzi Tamgac.** Imagerie fonctionnelle par positons en oncologie nucléaire. Springer, 2004
92. **Gary J. Kelloff.** Cancer chemoprevention: volume 2 : strategies for cancer chemoprevention. Humana press. 2005

ANNEXES

Annexes

Annexe 1 : le questionnaire

Nom : Prénom :

Sexe :

Date de naissance :Lieu :

Ville ou Gouvernorat d'origine :

Adresse

.....

Etat civil :

Profession.....

Lieu de travail:

Habitudes toxiques

Tabac

Quantité/jours:

Depuis combien d'année:

Alcool

Quantité / jours.....

Depuis combien d'année.....

Aspect clinique

Antécédents personnels :

.....

.....

Age de la découverte de la maladie/... ..

Type histologique :

Classification TNM.....

Evolution (métastases).....

.....

Antécédents familiaux

Consanguinité : ,

L'un de vos proches parents est-il malade : antécédents familiaux notamment cancéreux

Père

Mère

Fratric

Descendants un enfant

Si Oui, préciser : - la maladie :

Annexe 2 : 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).

3- Extraction de l'ADN

- Décongeler les leucocytes.
- Centrifuger pendant 15 min à 3900 rpm
- dilacérer le culot de leucocytes soigneusement afin de les prendre complètement et les mettre dans un tube Falcon conique de 15 ml.
- Ajouter 3 ml de tampon de lyse (Na Cl 400 mM, EDTA 2mM, Tris 10mM, PH 8.2)
- Ajouter 200 µL de SDS à 10% (100 g SDS + 1000 ml 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 (eppendorf) 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 3 : préparation du milieu réactionnel de la PCR pour MTHFR

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

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

Oligo nucléotides utilisés :

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

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

- Dilutions des solutions mères utilisées

- Oligo F solution mère 268,2 μ l (dilution 1/25)
Oligo F solution fille : 37,28 μ l de Oligo F solution mère + 62,72 μ l H₂O distillé
- Oligo R solution mère 333 μ l
Oligo R solution fille : 30 μ l de Oligo R solution mère + 69,97 μ l H₂O distillé
- dNTP solution mère
dNTP solution fille : 10 μ l de dNTP solution mère + 90 μ l H₂O
- MgCl₂ solution mère
50 μ l MgCl₂ + 50 μ l H₂O distillé

Tableau : déroulement des cycles de la PCR dans le thermocycleur (TECHNE GENIUS)

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

Annexe 4 : Préparation du milieu de digestion par l'enzyme Hinf I

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

X (nombre de produit de PCR)

30 μl produit PCR + 10 μl de Mix

Annexe 5 : Préparation des gels d'agarose

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

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

Dépôts des échantillons :

- 15 μl de produits de digestion + 2 à 3 μl de Bleu de promophénol
- 3 μl de marqueur (PM 20pb LADDER ref.018206) + 2 à 3 μl de Bleu Bromophénol.

Etude de la relation entre le polymorphisme MTHFR et la survenue d'un cancer broncho-pulmonaire primitif

La mutation C677T de la MTHFR est reconnue dans quelques études comme étant un facteur de risque génétique de cancer du poumon.

L'objectif du présent travail est d'examiner la relation entre le polymorphisme MTHFR, et le risque de développer un cancer broncho-pulmonaire dans une population de malades recrutés au sein du service d'onco-radiothérapie du CHU Ibn Badis de Constantine.

L'étude moléculaire nous a permis d'estimer que la fréquence de l'allèle muté T chez les malades est de 25 %, celle retrouvée dans la population de référence est de 32.7 %.

Nos résultats montrent aussi que la distribution des trois génotypes suit un ordre décroissant pour les génotypes CC, CT, TT respectivement, et ce chez les deux populations malade et témoin.

Ces résultats nous ont permis de mettre en évidence la non-implication causale de la mutation C677T ; aucune corrélation entre la mutation C677T du gène de la MTHFR et le cancer du poumon n'est observée dans notre échantillon de malades.

L'étiologie moléculaire, ainsi que l'identification des gènes de susceptibilité à développer un cancer du poumon restent toujours mal connues. La recherche découvre chaque année de nouveaux gènes et de nouvelles protéines impliqués dans le cancer du poumon, ce qui reflète l'aspect multifactoriel de la maladie.

Mots clés : Cancer du poumon, MTHFR, gènes de susceptibilité, polymorphisme

Study of the relationship between methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and occurrence of lung cancer

The common MTHFR mutation C677T was identified in some studies as a risk factor for lung cancer.

The objective of this study is to examine the relationship between this common variant and the risk of developing lung cancer, in a population of lung cancer cases recruited in radiotherapy oncology service at the university hospital of Constantine.

Molecular study shows that the frequency of the mutant allele among patients is 25 %, the mutant allele frequency among controls is 32.7 %.

Our results show also, that the three genotypes present a decreasing order corresponding to the genotypes: CC, CT, TT respectively both in patients and controls.

These results suggest that the MTHFR C677T variant did not show any association, and no evidence of an effect of C677T variant on lung cancer was found.

Molecular etiology and susceptibility genes of lung cancer remain unclear. Each year, research discovers new genes and new proteins implicated in lung cancer; this reflects the multifactorial aspect of the disease.

Key words: lung cancer, MTHFR, susceptibility genes, polymorphism

دراسة العلاقة بين التغير الجيني للأنزيم MTHFR، و ظهور سرطان الرئة

أوضحت بعض الدراسات أن الطفرة الوراثية C677T في الجين المسؤول عن تكوين الأنزيم MTHFR قد تكون مسؤولة عن الإصابة بسرطان الرئة.

الهدف من هذه الدراسة هو معرفة العلاقة بين التغير الجيني لل MTHFR و ظهور سرطان الرئة عند عينة من المرضى القادمين للعلاج بالأشعة بمستشفى قسنطينة.

أوضحت الدراسة الجزيئية أن نسبة الأليل T عند المرضى هي 25 % و نسبته في العينة العادية هي 32,7 %.

نتائج هذه الدراسة أوضحت أيضا توزيعا تنازليا للأنماط الوراثية الثلاثة CT TT CC على الترتيب، و هذا عند العينتين المريضة و العادية.

خلصت هذه النتائج إلى عدم وجود علاقة بين الأليل T و الإصابة بسرطان الرئة.

تبقى الأسباب الجزيئية و الجينات المسؤولة عن ظهور سرطان الرئة غير معروفة جيدا ليومنا هذا، في حين يبقى البحث العلمي في اكتشاف دائم لجينات و بروتينات جديدة قد تكون مسؤولة عن تكوين سرطان الرئة، مما يدل على تعدد العوامل المساهمة في تكوين هذا السرطان.

الكلمات الدالة: سرطان الرئة، MTHFR، القابلية الوراثية، التغير الجيني.

دراسة العلاقة بين التغير الجيني للأنزيم MTHFR، و ظهور سرطان الرئة

أوضحت بعض الدراسات أن الطفرة الوراثية C677T في الجين المسؤول عن تكوين الأنزيم MTHFR قد تكون مسؤولة عن الإصابة بسرطان الرئة. الهدف من هذه الدراسة هو معرفة العلاقة بين التغير الجيني لل MTHFR و ظهور سرطان الرئة عند عينة من المرضى القادمين للعلاج بالأشعة بمستشفى قسنطينة. أوضحت الدراسة الجزئية أن نسبة الأليل T عند المرضى هي 25% و نسبته في العينة العادية هي 32,7%. نتائج هذه الدراسة أوضحت أيضا توزيعا تنازليا للأنماط الوراثية الثلاثة CT TT CC على الترتيب، و هذا عند العينتين المريضة و العادية. خلصت هذه النتائج إلى عدم وجود علاقة بين الأليل T و الإصابة بسرطان الرئة. تبقى الأسباب الجزئية و الجينات المسؤولة عن ظهور سرطان الرئة غير معروفة جيدا ليومنا هذا، في حين يبقى البحث العلمي في اكتشاف دائم لجينات و بروتينات جديدة قد تكون مسؤولة عن تكوين سرطان الرئة، مما يدل على تعدد العوامل المساهمة في تكوين هذا السرطان لكلمات الدالة: سرطان الرئة، MTHFR، القابلية الوراثية، التغير الجيني.

Résumé

Etude de la relation entre le polymorphisme MTHFR et la survenue d'un cancer broncho-pulmonaire primitif

La mutation C677T de la MTHFR est reconnue dans quelques études comme étant un facteur de risque génétique de cancer du poumon. L'objectif du présent travail est d'examiner la relation entre le polymorphisme MTHFR, et le risque de développer un cancer broncho-pulmonaire dans une population de malades recrutés au sein du service d'onco-radiothérapie du CHU Ibn Badis de Constantine. L'étude moléculaire nous a permis d'estimer que la fréquence de l'allèle muté T chez les malades est de 25 %, celle retrouvée dans la population de référence est de 32.7 %. Nos résultats montrent aussi que la distribution des trois génotypes suit un ordre décroissant pour les génotypes CC, CT, TT respectivement, et ce chez les deux populations malade et témoin. Ces résultats nous ont permis de mettre en évidence la non-implication causale de la mutation C677T ; aucune corrélation entre la mutation C677T du gène de la MTHFR et le cancer du poumon n'est observée dans notre échantillon de malades. L'étiologie moléculaire, ainsi que l'identification des gènes de susceptibilité à développer un cancer du poumon restent toujours mal connues. La recherche découvre chaque année de nouveaux gènes et de nouvelles protéines impliqués dans le cancer du poumon, ce qui reflète l'aspect multifactoriel de la maladie.

Mots clés : Cancer du poumon, MTHFR, gènes de susceptibilité, polymorphisme

Abstract

Study of the relationship between methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and occurrence of lung cancer

The common MTHFR mutation C677T was identified in some studies as a risk factor for lung cancer. The objective of this study is to examine the relationship between this common variant and the risk of developing lung cancer, in a population of lung cancer cases recruited in radiotherapy oncology service at the university hospital of Constantine. Molecular study shows that the frequency of the mutant allele among patients is 25 %, the mutant allele frequency among controls is 32.7 %. Our results show also, that the three genotypes present a decreasing order corresponding to the genotypes: CC, CT, TT respectively both in patients and controls. These results suggest that the MTHFR C677T variant did not show any association, and no evidence of an effect of C677T variant on lung cancer was found. Molecular etiology and susceptibility genes of lung cancer remain unclear. Each year, research discovers new genes and new proteins implicated in lung cancer; this reflects the multifactorial aspect of the disease.

Key words: lung cancer, MTHFR, susceptibility genes, polymorphism

دراسة العلاقة بين التغير الجيني للأنزيم MTHFR، و ظهور سرطان الرئة

أوضحت بعض الدراسات أن الطفرة الوراثية C677T في الجين المسؤول عن تكوين الأنزيم MTHFR قد تكون مسؤولة عن الإصابة بسرطان الرئة. الهدف من هذه الدراسة هو معرفة العلاقة بين التغير الجيني لل MTHFR و ظهور سرطان الرئة عند عينة من المرضى القادمين للعلاج بالأشعة بمستشفى قسنطينة. أوضحت الدراسة الجزيئية أن نسبة الأليل T عند المرضى هي 25% و نسبته في العينة العادية هي 32,7%. نتائج هذه الدراسة أوضحت أيضا توزيعا تنازليا للأنماط الوراثية الثلاثة CT TT CC على الترتيب، و هذا عند العينتين المريضة و العادية. خلصت هذه النتائج إلى عدم وجود علاقة بين الأليل T و الإصابة بسرطان الرئة. تبقى الأسباب الجزيئية و الجينات المسؤولة عن ظهور سرطان الرئة غير معروفة جيدا ليومنا هذا، في حين يبقى البحث العلمي في اكتشاف دائم لجينات و بروتينات جديدة قد تكون مسؤولة عن تكوين سرطان الرئة، مما يدل على تعدد العوامل المساهمة في تكوين هذا السرطان لكلمات الدالة: سرطان الرئة، MTHFR، القابلية الوراثية، التغير الجيني.

Résumé

Etude de la relation entre le polymorphisme MTHFR et la survenue d'un cancer broncho-pulmonaire primitif

La mutation C677T de la MTHFR est reconnue dans quelques études comme étant un facteur de risque génétique de cancer du poumon. L'objectif du présent travail est d'examiner la relation entre le polymorphisme MTHFR, et le risque de développer un cancer broncho-pulmonaire dans une population de malades recrutés au sein du service d'onco-radiothérapie du CHU Ibn Badis de Constantine. L'étude moléculaire nous a permis d'estimer que la fréquence de l'allèle muté T chez les malades est de 25 %, celle retrouvée dans la population de référence est de 32.7 %. Nos résultats montrent aussi que la distribution des trois génotypes suit un ordre décroissant pour les génotypes CC, CT, TT respectivement, et ce chez les deux populations malade et témoin. Ces résultats nous ont permis de mettre en évidence la non-implication causale de la mutation C677T ; aucune corrélation entre la mutation C677T du gène de la MTHFR et le cancer du poumon n'est observée dans notre échantillon de malades. L'étiologie moléculaire, ainsi que l'identification des gènes de susceptibilité à développer un cancer du poumon restent toujours mal connues. La recherche découvre chaque année de nouveaux gènes et de nouvelles protéines impliqués dans le cancer du poumon, ce qui reflète l'aspect multifactoriel de la maladie.

Mots clés : Cancer du poumon, MTHFR, gènes de susceptibilité, polymorphisme

Abstract

Study of the relationship between methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and occurrence of lung cancer

The common MTHFR mutation C677T was identified in some studies as a risk factor for lung cancer. The objective of this study is to examine the relationship between this common variant and the risk of developing lung cancer, in a population of lung cancer cases recruited in radiotherapy oncology service at the university hospital of Constantine. Molecular study shows that the frequency of the mutant allele among patients is 25 %, the mutant allele frequency among controls is 32.7 %. Our results show also, that the three genotypes present a decreasing order corresponding to the genotypes: CC, CT, TT respectively both in patients and controls. These results suggest that the MTHFR C677T variant did not show any association, and no evidence of an effect of C677T variant on lung cancer was found. Molecular etiology and susceptibility genes of lung cancer remain unclear. Each year, research discovers new genes and new proteins implicated in lung cancer; this reflects the multifactorial aspect of the disease.

Key words: lung cancer, MTHFR, susceptibility genes, polymorphism

دراسة العلاقة بين التغير الجيني للأنزيم MTHFR، و ظهور سرطان الرئة

أوضحت بعض الدراسات أن الطفرة الوراثية C677T في الجين المسؤول عن تكوين الأنزيم MTHFR قد تكون مسؤولة عن الإصابة بسرطان الرئة. الهدف من هذه الدراسة هو معرفة العلاقة بين التغير الجيني لل MTHFR و ظهور سرطان الرئة عند عينة من المرضى القادمين للعلاج بالأشعة بمستشفى قسنطينة. أوضحت الدراسة الجزيئية أن نسبة الأليل T عند المرضى هي 25% و نسبته في العينة العادية هي 32,7%. نتائج هذه الدراسة أوضحت أيضا توزيعا تنازليا للأنماط الوراثية الثلاثة CT TT CC على الترتيب، و هذا عند العينتين المريضة و العادية. خلصت هذه النتائج إلى عدم وجود علاقة بين الأليل T و الإصابة بسرطان الرئة. تبقى الأسباب الجزيئية و الجينات المسؤولة عن ظهور سرطان الرئة غير معروفة جيدا ليومنا هذا، في حين يبقى البحث العلمي في اكتشاف دائم لجينات و بروتينات جديدة قد تكون مسؤولة عن تكوين سرطان الرئة، مما يدل على تعدد العوامل المساهمة في تكوين هذا السرطان لكلمات الدالة: سرطان الرئة، MTHFR، القابلية الوراثية، التغير الجيني.

Résumé

Etude de la relation entre le polymorphisme MTHFR et la survenue d'un cancer broncho-pulmonaire primitif

La mutation C677T de la MTHFR est reconnue dans quelques études comme étant un facteur de risque génétique de cancer du poumon. L'objectif du présent travail est d'examiner la relation entre le polymorphisme MTHFR, et le risque de développer un cancer broncho-pulmonaire dans une population de malades recrutés au sein du service d'onco-radiothérapie du CHU Ibn Badis de Constantine. L'étude moléculaire nous a permis d'estimer que la fréquence de l'allèle muté T chez les malades est de 25 %, celle retrouvée dans la population de référence est de 32.7 %. Nos résultats montrent aussi que la distribution des trois génotypes suit un ordre décroissant pour les génotypes CC, CT, TT respectivement, et ce chez les deux populations malade et témoin. Ces résultats nous ont permis de mettre en évidence la non-implication causale de la mutation C677T ; aucune corrélation entre la mutation C677T du gène de la MTHFR et le cancer du poumon n'est observée dans notre échantillon de malades. L'étiologie moléculaire, ainsi que l'identification des gènes de susceptibilité à développer un cancer du poumon restent toujours mal connues. La recherche découvre chaque année de nouveaux gènes et de nouvelles protéines impliqués dans le cancer du poumon, ce qui reflète l'aspect multifactoriel de la maladie.

Mots clés : Cancer du poumon, MTHFR, gènes de susceptibilité, polymorphisme

Abstract

Study of the relationship between methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and occurrence of lung cancer

The common MTHFR mutation C677T was identified in some studies as a risk factor for lung cancer. The objective of this study is to examine the relationship between this common variant and the risk of developing lung cancer, in a population of lung cancer cases recruited in radiotherapy oncology service at the university hospital of Constantine. Molecular study shows that the frequency of the mutant allele among patients is 25 %, the mutant allele frequency among controls is 32.7 %. Our results show also, that the three genotypes present a decreasing order corresponding to the genotypes: CC, CT, TT respectively both in patients and controls. These results suggest that the MTHFR C677T variant did not show any association, and no evidence of an effect of C677T variant on lung cancer was found. Molecular etiology and susceptibility genes of lung cancer remain unclear. Each year, research discovers new genes and new proteins implicated in lung cancer; this reflects the multifactorial aspect of the disease.

Key words: lung cancer, MTHFR, susceptibility genes, polymorphism