



HAL
open science

Rôle des déterminants nutritionnels et génétiques du cycle des folates dans la carcinogenèse hépatique

Anne-Laure Pelletier

► **To cite this version:**

Anne-Laure Pelletier. Rôle des déterminants nutritionnels et génétiques du cycle des folates dans la carcinogenèse hépatique. Sciences du Vivant [q-bio]. 2005. hal-01734461

HAL Id: hal-01734461

<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01734461>

Submitted on 14 Mar 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

DOUBLE

183711

UNIVERSITE HENRI POINCARÉ NANCY 1
2005

FACULTE DE MEDECINE DE NANCY
N° 102

THESE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN MEDECINE

Présentée et soutenue publiquement
dans le cadre du troisième cycle de Médecine Spécialisée par



Anne-Laure PELLETIER

Le 10 octobre 2005

Rôle des déterminants nutritionnels et génétiques du cycle des folates
dans la carcinogenèse hépatique

Examineurs de la thèse :

M le Professeur Jean-Pierre Bronowicki

Président

M le Professeur Marc-André Bigard

Juge

M le Professeur Jean-Louis Guéant

Juge

Mme le Docteur Hélène Barraud

Juge

THESE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN MEDECINE

Présentée et soutenue publiquement
dans le cadre du troisième cycle de Médecine Spécialisée par

Anne-Laure PELLETIER

Le 10 octobre 2005

Rôle des déterminants nutritionnels et génétiques du cycle des folates
dans la carcinogenèse hépatique

Examineurs de la thèse :

M le Professeur Jean-Pierre Bronowicki	Président
M le Professeur Marc-André Bigard	Juge
M le Professeur Jean-Louis Guéant	Juge
Mme le Docteur Hélène Barraud	Juge

UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ, NANCY 1

FACULTÉ DE MÉDECINE DE NANCY

Président de l'Université : Professeur Jean-Pierre FINANCE

Doyen de la Faculté de Médecine : Professeur Patrick NETTER

Vice-Doyen de la Faculté de Médecine : Professeur Henry COUDANE

Assesseurs

du 1^{er} Cycle :

du 2^{ème} Cycle :

du 3^{ème} Cycle :

de la Vie Facultaire :

Mme le Docteur Chantal KOHLER

Mr le Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI

Mr le Professeur Hervé VESPIGNANI

Mr le Professeur Bruno LEHEUP

DOYENS HONORAIRES

Professeur Adrien DUPREZ – Professeur Jean-Bernard DUREUX

Professeur Jacques ROLAND

=====

PROFESSEURS HONORAIRES

Louis PIERQUIN – Etienne LEGAIT – Jean LOCHARD – René HERBEUVAL – Gabriel FAIVRE – Jean-Marie FOLIGUET
Guy RAUBER – Paul SADOUL – Raoul SENAULT – Marcel RIBON
Jacques LACOSTE – Jean BEUREY – Jean SOMMELET – Pierre HARTEMANN – Emile de LAVERGNE
Augusta TREHEUX – Michel MANCIAUX – Paul GUILLEMIN – Pierre PAYSANT
Jean-Claude BURDIN – Claude CHARDOT – Jean-Bernard DUREUX – Jean DUHEILLE – Jean-Pierre GRILLIAT
Pierre LAMY – Jean-Marie GILGENKRANTZ – Simone GILGENKRANTZ
Pierre ALEXANDRE – Robert FRISCH – Michel PIERSON – Jacques ROBERT
Gérard DEBRY – Pierre TRIDON – Michel WAYOFF – François CHERRIER – Oliéro GUERCI
Gilbert PERCEBOIS – Claude PERRIN – Jean PREVOT – Jean FLOQUET
Alain GAUCHER – Michel LAXENAIRE – Michel BOULANGE – Michel DUC – Claude HURIET – Pierre LANDES
Alain LARCAN – Gérard VAILLANT – Daniel ANTHOINE – Pierre GAUCHER – René-Jean ROYER
Hubert UFFHOLTZ – Jacques LECLERE – Francine NABET – Jacques BORRELLY
Michel RENARD – Jean-Pierre DESCHAMPS – Pierre NABET – Marie-Claire LAXENAIRE – Adrien DUPREZ – Paul VERT
Philippe CANTON – Bernard LEGRAS – Pierre MATHIEU – Jean-Marie POLU – Antoine RASPILLER – Gilbert THIBAUT
Michel WEBER – Gérard FIEVE – Daniel SCHMITT – Colette VIDAILHET – Alain BERTRAND – Jean-Pierre NICOLAS –
Francis PENIN – Michel STRICKER – Daniel BURNEL – – Michel VIDAILHET – Francis PENIN

=====

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS -
PRATICIENS HOSPITALIERS

(Disciplines du Conseil National des Universités)

42^{ème} Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1^{ère} sous-section : (*Anatomie*)

Professeur Jacques ROLAND – Professeur Gilles GROSDIDIER

Professeur Pierre LASCOMBES – Professeur Marc BRAUN

2^{ème} sous-section : (*Cytologie et histologie*)

Professeur Bernard FOLIGUET

3^{ème} sous-section : (*Anatomie et cytologie pathologiques*)

Professeur François PLENAT – Professeur Jean-Michel VIGNAUD

43^{ème} Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE

1^{ère} sous-section : (*Biophysique et médecine nucléaire*)

Professeur Gilles KARCHER – Professeur Pierre-Yves MARIE – Professeur Pierre OLIVIER

2^{ème} sous-section : (*Radiologie et imagerie médicale*)

Professeur Luc PICARD – Professeur Denis REGENT – Professeur Michel CLAUDON

Professeur Serge BRACARD – Professeur Alain BLUM – Professeur Jacques FELBLINGER

Professeur René ANXIONNAT

44^{ème} Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

1^{ère} sous-section : (Biochimie et biologie moléculaire)

Professeur Jean-Louis GUÉANT – Professeur Jean-Luc OLIVIER

2^{ème} sous-section : (Physiologie)

Professeur Jean-Pierre CRANCE – Professeur Jean-Pierre MALLIE

Professeur François MARCHAL – Professeur Philippe HAOUZI

3^{ème} sous-section : (Biologie cellulaire)

Professeur Claude BURLET

4^{ème} sous-section : (Nutrition)

Professeur Olivier ZIEGLER

45^{ème} Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1^{ère} sous-section : (Bactériologie – virologie ; hygiène hospitalière)

Professeur Alain LOZNIIEWSKI

2^{ème} sous-section : (Parasitologie et mycologie)

Professeur Bernard FORTIER

3^{ème} sous-section : (Maladies infectieuses ; maladies tropicales)

Professeur Thierry MAY – Professeur Christian RABAUD

46^{ème} Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1^{ère} sous-section : (Épidémiologie, économie de la santé et prévention)

Professeur Philippe HARTEMANN – Professeur Serge BRIANÇON

Professeur Francis GUILLEMIN – Professeur Denis ZMIROU-NAVIER

2^{ème} sous-section : (Médecine et santé au travail)

Professeur Guy PETIET – Professeur Christophe PARIS

3^{ème} sous-section : (Médecine légale et droit de la santé)

Professeur Henry COUDANE

4^{ème} sous-section : (Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication)

Professeur François KOHLER – Professeur Éliane ALBUISSON

47^{ème} Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

1^{ère} sous-section : (Hématologie ; transfusion)

Professeur Christian JANOT – Professeur Thomas LECOMPTE – Professeur Pierre BORDIGONI

Professeur Pierre LEDERLIN – Professeur Jean-François STOLTZ

2^{ème} sous-section : (Cancérologie ; radiothérapie)

Professeur François GUILLEMIN – Professeur Thierry CONROY

Professeur Pierre BEY – Professeur Didier PEIFFERT

3^{ème} sous-section : (Immunologie)

Professeur Gilbert FAURE – Professeur Marie-Christine BENE

4^{ème} sous-section : (Génétique)

Professeur Philippe JONVEAUX – Professeur Bruno LEHEUP

**48^{ème} Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE,
PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE**

1^{ère} sous-section : (Anesthésiologie et réanimation chirurgicale)

Professeur Claude MEISTELMAN – Professeur Dan LONGROIS - Professeur Hervé BOUAZIZ

Professeur Paul-Michel MERTES

2^{ème} sous-section : (Réanimation médicale)

Professeur Henri LAMBERT – Professeur Alain GERARD

Professeur Pierre-Edouard BOLLAERT – Professeur Bruno LÉVY

3^{ème} sous-section : (Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique)

Professeur Patrick NETTER – Professeur Pierre GILLET

4^{ème} sous-section : (Thérapeutique)

Professeur François PAILLE – Professeur Gérard GAY – Professeur Faiez ZANNAD

49^{ème} Section : PATHOLOGIE NERVEUSE ET MUSCULAIRE, PATHOLOGIE MENTALE, HANDICAP et RÉÉDUCATION

1^{ère} sous-section : (Neurologie)

Professeur Gérard BARROCHE – Professeur Hervé VESPIGNANI
Professeur Xavier DUCROCQ

2^{ème} sous-section : (Neurochirurgie)

Professeur Jean-Claude MARCHAL – Professeur Jean AUQUE
Professeur Thierry CIVIT

3^{ème} sous-section : (Psychiatrie d'adultes)

Professeur Jean-Pierre KAHN

4^{ème} sous-section : (Pédopsychiatrie)

Professeur Daniel SIBERTIN-BLANC

5^{ème} sous-section : (Médecine physique et de réadaptation)

Professeur Jean-Marie ANDRE

50^{ème} Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE et CHIRURGIE PLASTIQUE

1^{ère} sous-section : (Rhumatologie)

Professeur Jacques POUREL – Professeur Isabelle VALCKENAERE – Professeur Damien LOEUILLE

2^{ème} sous-section : (Chirurgie orthopédique et traumatologique)

Professeur Jean-Pierre DELAGOUTTE – Professeur Daniel MOLE
Professeur Didier MAINARD – Professeur François SIRVEAUX

3^{ème} sous-section : (Dermato-vénérologie)

Professeur Jean-Luc SCHMUTZ – Professeur Annick BARBAUD

4^{ème} sous-section : (Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique)

Professeur François DAP

51^{ème} Section : PATHOLOGIE CARDIORESPIRATOIRE et VASCULAIRE

1^{ère} sous-section : (Pneumologie)

Professeur Yves MARTINET - Professeur Jean-François CHABOT

2^{ème} sous-section : (Cardiologie)

Professeur Etienne ALIOT – Professeur Yves JUILLIERE – Professeur Nicolas SADOUL –
Professeur Christian de CHILLOU

3^{ème} sous-section : (Chirurgie thoracique et cardiovasculaire)

Professeur Jean-Pierre VILLEMOT

Professeur Jean-Pierre CARTEAUX – Professeur Loïc MACE

4^{ème} sous-section : (Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire)

52^{ème} Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF et URINAIRE

1^{ère} sous-section : (Gastroentérologie ; hépatologie)

Professeur Marc-André BIGARD

Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI

2^{ème} sous-section : (Chirurgie digestive)

3^{ème} sous-section : (Néphrologie)

Professeur Michèle KESSLER – Professeur Dominique HESTIN (Mme) – Professeur Luc FRIMAT

4^{ème} sous-section : (Urologie)

Professeur Philippe MANGIN – Professeur Jacques HUBERT – Professeur Luc CORMIER

53^{ème} Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE et CHIRURGIE GÉNÉRALE

1^{ère} sous-section : (Médecine interne)

Professeur Denise MONERET-VAUTRIN – Professeur Denis WAHL

Professeur Jean-Dominique DE KORWIN – Professeur Pierre KAMINSKY

Professeur Athanase BENETOS - Professeur Gisèle KANNY – Professeur Abdelouahab BELLOU

2^{ème} sous-section : (Chirurgie générale)

Professeur Patrick BOISSEL – Professeur Laurent BRESLER

Professeur Laurent BRUNAUD

**54^{ème} Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE,
ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION**

1^{ère} sous-section : (Pédiatrie)

Professeur Danièle SOMMELET – Professeur Pierre MONIN
Professeur Jean-Michel HASCOET – Professeur Pascal CHASTAGNER – Professeur François FEILLET

2^{ème} sous-section : (Chirurgie infantile)

Professeur Michel SCHMITT – Professeur Gilles DAUTEL – Professeur Pierre JOURNEAU

3^{ème} sous-section : (Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale)

Professeur Michel SCHWEITZER – Professeur Jean-Louis BOUTROY
Professeur Philippe JUDLIN – Professeur Patricia BARBARINO – Professeur Bruno DEVAL

4^{ème} sous-section : (Endocrinologie et maladies métaboliques)

Professeur Georges WERYHA – Professeur Marc KLEIN – Professeur Bruno GUERCI

5^{ème} sous-section : (Biologie et médecine du développement et de la reproduction)

Professeur Hubert GERARD

55^{ème} Section : PATHOLOGIE DE LA TÊTE ET DU COU

1^{ère} sous-section : (Oto-rhino-laryngologie)

Professeur Claude SIMON – Professeur Roger JANKOWSKI

2^{ème} sous-section : (Ophtalmologie)

Professeur Jean-Luc GEORGE – Professeur Jean-Paul BERROD – Professeur Karine ANGIOI-DUPREZ

3^{ème} sous-section : (Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie)

Professeur Jean-François CHASSAGNE

=====

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

64^{ème} Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Professeur Sandrine BOSCHI-MULLER

Professeur Franck DALIGAULT

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

42^{ème} Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1^{ère} sous-section : (Anatomie)

Docteur Bruno GRIGNON

2^{ème} sous-section : (Cytologie et histologie)

Docteur Edouard BARRAT

Docteur Françoise TOUATI – Docteur Chantal KOHLER

3^{ème} sous-section : (Anatomie et cytologie pathologiques)

Docteur Béatrice MARIE

Docteur Laurent ANTUNES

43^{ème} Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE

1^{ère} sous-section : (Biophysique et médecine nucléaire)

Docteur Marie-Hélène LAURENS – Docteur Jean-Claude MAYER

Docteur Pierre THOUVENOT – Docteur Jean-Marie ESCANYE – Docteur Amar NAOUN

44^{ème} Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

1^{ère} sous-section : (Biochimie et biologie moléculaire)

Docteur Jean STRACZEK – Docteur Sophie FREMONT

Docteur Isabelle GASTIN – Docteur Bernard NAMOUR – Docteur Marc MERTEN

2^{ème} sous-section : (Physiologie)

Docteur Gérard ETHEVENOT – Docteur Nicole LEMAU de TALANCE – Docteur Christian BEYAERT

Docteur Bruno CHENUÉL

4^{ème} sous-section : (Nutrition)

Docteur Didier QUILLIOT

45^{ème} Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1^{ère} sous-section : (Bactériologie – Virologie ; hygiène hospitalière)

Docteur Francine MORY – Docteur Christine LION

Docteur Michèle DAILLOUX – Docteur Véronique VENARD

2^{ème} sous-section : (Parasitologie et mycologie)

Docteur Marie-France BIAVA – Docteur Nelly CONTET-AUDONNEAU

46^{ème} Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1^{ère} sous-section : (Epidémiologie, économie de la santé et prévention)

Docteur François ALLA

4^{ème} sous-section : (Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication)

Docteur Pierre GILLOIS

47^{ème} Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

1^{ère} sous-section : (Hématologie ; transfusion)

Docteur François SCHOONEMAN

3^{ème} sous-section : (Immunologie)

Docteur Anne KENNEL

4^{ème} sous-section : (Génétique)

Docteur Christophe PHILIPPE

**48^{ème} Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE,
PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE**

1^{ère} sous-section : (Anesthésiologie et réanimation chirurgicale)

Docteur Jacqueline HELMER – Docteur Gérard AUDIBERT

3^{ème} sous-section : (Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique)

Docteur Françoise LAPICQUE – Docteur Marie-José ROYER-MORROT

**49^{ème} Section : PATHOLOGIE NERVEUSE ET MUSCULAIRE, PATHOLOGIE MENTALE, HANDICAP ET
RÉÉDUCATION**

5^{ème} sous-section : (Médecine physique et de réadaptation)

Docteur Jean PAYSANT

**54^{ème} Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE,
ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION**

5^{ème} sous-section : (Biologie et médecine du développement et de la reproduction)

Docteur Jean-Louis CORDONNIER

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

05^{ème} section : SCIENCE ÉCONOMIE GÉNÉRALE

Monsieur Vincent LHUILLIER

32^{ème} section : CHIMIE ORGANIQUE, MINÉRALE, INDUSTRIELLE

Monsieur Jean-Claude RAFT

40^{ème} section : SCIENCES DU MÉDICAMENT

Monsieur Jean-François COLLIN

60^{ème} section : MÉCANIQUE, GÉNIE MÉCANIQUE ET GÉNIE CIVILE

Monsieur Alain DURAND

61^{ème} section : GÉNIE INFORMATIQUE, AUTOMATIQUE ET TRAITEMENT DU SIGNAL

Monsieur Jean REBSTOCK – Monsieur Walter BLONDEL

64^{ème} section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Mademoiselle Marie-Claire LANHERS

65^{ème} section : BIOLOGIE CELLULAIRE

Mademoiselle Françoise DREYFUSS – Monsieur Jean-Louis GELLY

Madame Ketsia HESS – Monsieur Pierre TANKOSIC – Monsieur Hervé MEMBRE

67^{ème} section : BIOLOGIE DES POPULATIONS ET ÉCOLOGIE
Madame Nadine MUSSE

68^{ème} section : BIOLOGIE DES ORGANISMES
Madame Tao XU-JIANG

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS

Médecine Générale

Docteur Alain AUBREGE
Docteur Francis RAPHAEL
Docteur Jean-Marc BOIVIN

=====

PROFESSEURS ÉMÉRITES

Professeur Michel BOULANGE - Professeur Alain LARCAN - Professeur Michel WAYOFF Professeur Daniel ANTHOINE -
Professeur Hubert UFFHOLTZ – Professeur Adrien DUPREZ - Professeur Paul VERT
Professeur Jean PREVOT – Professeur Jean-Pierre GRILLIAT - Professeur Philippe CANTON – Professeur Pierre MATHIEU
Professeur Gilbert THIBAUT - Professeur Daniel SCHMITT – Mme le Professeur Colette VIDAILHET –
Professeur Jean FLOQUET – Professeur Claude CHARDOT – Professeur Michel PIERSON – Professeur Alain BERTRAND –
Professeur Daniel BURNEL – Professeur Jean-Pierre NICOLAS – Professeur Michel VIDAILHET

=====

DOCTEURS HONORIS CAUSA

Professeur Norman SHUMWAY (1972)
Université de Stanford, Californie (U.S.A)
Professeur Paul MICHIELSEN (1979)
Université Catholique, Louvain (Belgique)
Professeur Charles A. BERRY (1982)
Centre de Médecine Préventive, Houston (U.S.A)
Professeur Pierre-Marie GALETTI (1982)
Brown University, Providence (U.S.A)
Professeur Mamish Nisbet MUNRO (1982)
Massachusetts Institute of Technology (U.S.A)
Professeur Mildred T. STAHLMAN (1982)
Wanderbilt University, Nashville (U.S.A)
Harry J. BUNCKE (1989)
Université de Californie, San Francisco (U.S.A)

Professeur Théodore H. SCHIEBLER (1989)
Institut d'Anatomie de Würzburg (R.F.A)
Professeur Maria DELIVORIA-PAPADOPOULOS (1996)
Université de Pennsylvanie (U.S.A)
Professeur Mashaki KASHIWARA (1996)
Research Institute for Mathematical Sciences de Kyoto (JAPON)
Professeur Ralph GRÄSBECK (1996)
Université d'Helsinki (FINLANDE)
Professeur James STEICHEN (1997)
Université d'Indianapolis (U.S.A)
Professeur Duong Quang TRUNG (1997)
*Centre Universitaire de Formation et de Perfectionnement des
Professionnels de Santé d'Hô Chi Minh-Ville (VIËTNAM)*

A notre Maître et Président de Thèse,

Monsieur le Professeur Jean-Pierre Bronowicki, professeur d'hépatogastroentérologie

Vous me faites l'honneur de présider cette thèse et de juger mon travail. J'ai pu apprécier pendant la rédaction de ce travail votre esprit de synthèse et votre disponibilité. Votre porte est toujours ouverte pour répondre aux questions des internes.

Qu'il me soit permis ici, de vous exprimer ma sincère gratitude et mon plus profond respect.

A notre Maître et Juge,

Monsieur le Professeur Marc-André Bigard, professeur d'hépatogastroentérologie

Vous me faites l'honneur de juger cette thèse.

Mettre en pratique et être à la hauteur votre enseignement que j'ai eu le privilège d'avoir sera mon objectif pour l'avenir. Je vous remercie de votre confiance pendant ces trois années passées dans le service.

Qu'il me soit permis ici, d'exprimer le témoignage de ma reconnaissance et de ma profonde gratitude.

A notre Maître et Juge,

Monsieur le professeur Jean-Louis Guéant, professeur de biochimie et de biologie moléculaire

Je vous remercie d'avoir accepté d'être membre du jury de cette thèse. J'ai pu, grâce à vous, découvrir l'univers d'un laboratoire de biochimie, et ainsi mieux comprendre les techniques que vous utilisez et les implications dans la recherche.

Veillez accepter l'expression de ma reconnaissance et de mes remerciements sincères.

A Madame le docteur Barraud

Je te remercie d'avoir accepté d'être dans le jury, pour ton soutien pendant ces 6 mois lors de la rédaction de ce laborieux travail et pendant les moments de doute...

J'ai appris beaucoup à tes côtés en associant la rigueur professionnelle et la joie de vivre.

Puisse ce travail exprimer tout ma gratitude et mon profond respect.

A Monsieur le Professeur Philippe Ruszniewski, professeur d'hépatogastroentérologie

J'ai pu découvrir pendant six mois votre méthode de travail et je vous suis reconnaissante de me donner l'opportunité de poursuivre ma formation dans votre service.

Veillez trouver dans ce travail l'expression de ma gratitude.

A Laurence, Hervé et Jérôme

Merci pour la formation et l'exemple que vous m'avez apporté pendant 3 ans.

A Carole, Cécile, Péguy, Edouard, Fabien D., Fabien PL., Laurent, Xavier : c'est un plaisir de travailler avec vous.

A Renée Debard

Merci pour votre patience, votre gentillesse et vos explications qui m'ont permis de mieux comprendre le Light-Cycler.

A mes parents,

Je n serai pas là sans vous, merci d'y avoir cru et de votre soutien sans faille.

A Bénédicte, Jean-François, Vincent, Emmanuelle

Vous m'avez toujours été présent pour moi depuis le début, allant même jusqu'à m'expliquer l'informatique et à lire attentivement ce travail ! Merci.

SERMENT

"Au moment d'être admise à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité. Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux. Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité. J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences. Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admise dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me sont confiés. Reçue à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs. Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonorée et méprisée si j'y manque".

INTRODUCTION	17
RAPPELS	18
1 Déterminants nutritionnels du cycle des folates	18
A Le métabolisme des folates	18
B La vitamine B12	18
C L'homocystéine	19
2 Les déterminants génétiques	19
A Les polymorphismes du gène de la MTHFR	19
B Epidémiologie	20
C Les mécanismes régulateurs	20
3 La méthylation	21
A Régulation de l'expression des gènes	21
B Conséquences d'une carence vitaminique et des polymorphismes de la MTHFR sur le niveau de méthylation de l'ADN.	22
C Quelles conséquences en pratique ?	22
D Comment interpréter ces résultats ?	23
4 Métabolisme des folates et cancérogenèse chez l'homme	24
5 Métabolisme des folates et hépatopathie	25
A Alcool et folates	25
B Stéatose et MTHFR	25
C Carcinome hépatocellulaire et MTHFR	26
OBJECTIFS	28
ETUDE	29
Patients et méthodes	29
A Patients	29
B Méthodes	29
C Analyses statistiques	30
Résultats	31
A Analyse descriptive	31
B L'analyse du polymorphisme de la MTHFR 677	33
C L'analyse du polymorphisme de la MTHFR 1298	35
Discussion	36
CONCLUSION	38
FIGURES	39
ANNEXES	41
RERERENCES	43

INTRODUCTION

Le carcinome hépatocellulaire (CHC) représente un problème majeur de santé publique dans le monde puisqu'il s'agit du 5^e cancer le plus fréquent avec un taux de mortalité au 3^e rang mondial. L'oncogenèse est liée à la surexpression de proto-oncogènes et/ou à l'extinction de gènes suppresseurs de tumeurs. Des anomalies génétiques (mutations de gènes), par exemple du gène suppresseur de tumeur p53 ont largement été étudiées dans la carcinogenèse hépatique. Plus récemment, des anomalies épigénétiques (méthylation de l'ADN) ont également été impliqués dans la genèse de cancers chez l'homme, et l'un des mécanismes de répression des gènes suppresseurs de tumeurs serait la méthylation des îlots CpG au niveau de leurs promoteurs. Cette anomalie épigénétique va empêcher l'initiation de la transcription du gène hyperméthylé. Des proto-oncogènes peuvent quant à eux être surexprimés. Différents auteurs ont ainsi pu montrer qu'il existait, par exemple dans le cancer colorectal, une hyperméthylation des gènes intervenant dans les mécanismes de réparation de l'ADN ou de la régulation cellulaire. Le niveau de méthylation de l'ADN est influencé par les déterminants génétiques (la méthyltétrahydrofolate réductase ou MTHFR) et nutritionnels du cycle des folates.

Le but de ce travail était de rechercher une relation entre ces déterminants nutritionnels et génétiques et le risque de CHC chez le patient cirrhotique.

RAPPELS

1 Déterminants nutritionnels du cycle des folates

A Le métabolisme des folates

L'acide folique ou vitamine B9 tire son nom du latin *folium* qui signifie feuille en référence aux feuilles d'épinards (1). Les apports en folates sont exclusivement d'origine alimentaire car l'homme ne peut en effectuer la synthèse. Parmi les aliments en forte teneur en folates, on peut citer le foie, les levures, les agrumes ou les légumes verts.

Les dérivés du tétrahydrofolate (THF) sont la forme intracellulaire des folates :

- Le 5-méthyl-THF intervient dans la synthèse de méthionine à partir de l'homocystéine.
- Le 5,10-méthylène-THF participe directement à la formation de thymidylate monophosphate (dTMP) par la thymidine synthase (TS).
- Et le dihydrofolate (DHF) est hydrolysé en THF pour débiter un nouveau cycle (2-5) (Figure 1).

B La vitamine B12

La méthionine est issue de la méthylation de l'homocystéine par la méthionine synthase (MS) qui utilise la vitamine B12 comme co-enzyme. La méthionine donne alors la S-адénosyl-méthionine (SAM) par action de la méthionine адénosyltransférase. La SAM est la source principale de groupes méthyles de notre organisme utilisés pour les réactions de méthylation de l'ADN (6).

C L'homocystéine

le taux d'homocystéine plasmatique est un reflet de l'activité du cycle des folates. Elle pourrait d'ailleurs exercer une toxicité directe sur les cellules de notre organisme dont les hépatocytes (7). En effet, contrairement au glutathion et à la cystéine, l'homocystéine est considéré comme un mauvais 'thiol' et posséderait de nombreux effets biochimiques néfastes pour l'organisme (stress oxydatif, activation de cytokines inflammatoires). D'où l'intérêt d'étudier la relation entre l'homocystéine et le CHC.

2 Les déterminants génétiques

A Les polymorphismes du gène de la MTHFR

Seuls les polymorphismes du gène de la MTHFR ont été analysés dans notre étude et seront abordés ici. La MTHFR réduit le 5,10-méthylène-THF en 5-méthyl-THF. Son action est irréversible et nécessite la flavine adénine dinucléotide (FAD) comme co-enzyme (8). La mutation la plus fréquente du gène du MTHFR, situé sur le chromosome 1, est une translocation d'une cytosine en thymine (C-T) au niveau du nucléotide 677 sur la partie N-terminal de l'exon 4. Un variant thermolabile est synthétisé, dans lequel un acide aminé l'alanine est remplacé par une valine dans la séquence protéique (9,10).

Une 2^e mutation moins fréquente a été mise en évidence : le remplacement d'une adénine par une cytosine en position 1298 sur la partie C terminal de l'exon 7 entraîne le remplacement d'un glutamate par une alanine (11). L'activité est diminuée de 30 à 40% en cas de mutation 1298, de 50% en cas de mutation 677C et de 60 à 65% en cas de mutation hétérozygote composite (12,13). Cette 2^e mutation semble donc moins sévère et elle n'a pas été reliée à un risque accru de cancer.

Une troisième mutation nommée T1317C a été décrite mais apparaît comme «bénigne» car elle ne modifie pas l'acide aminé lors de la transcription et l'activité enzymatique n'est pas altérée (14). Les recherches actuelles montrent la présence possible de nombreuses autres mutations (au moins 33 dont la G1793A) dont l'importance reste à déterminer (15,16).

La transmission de ces mutations est autosomique récessive.

Le déficit en 5-méthyl-THF qui résulte de cette mutation est évalué de manière indirecte par le dosage de l'homocystéinémie. Il existe une hyperhomocystéinémie de 25% en moyenne chez les patients homozygotes pour la mutation comme cela a été démontré dans les cardiopathies (17,18).

B Epidémiologie

La répartition du polymorphisme entre les populations est très hétérogène. Chez les caucasiens, la fréquence de la mutation homozygote 677 est évaluée à 34% avec un gradient nord sud en Europe (19,20). En Afrique, la mutation est beaucoup plus rare : 0.8% en Afrique de l'Ouest (21,22), alors que pour les noirs américains le taux est de 10% environ (23,24). Pour la population asiatique, la fréquence est identique à celle des caucasiens. La recherche de la mutation 1298 est plus rare dans les études, elle est évaluée à 30% chez les caucasiens et 2% chez les noirs (25). Au niveau national, la fréquence de la mutation 677 est évaluée à 18% et 12.5% pour la mutation 1298 (12). Par contre, la mutation 1317 est retrouvée plus fréquemment que les autres mutations chez les noirs avec un taux de 16% (21).

C Les mécanismes régulateurs

Il existe une autorégulation du cycle du THF et de la méthionine en fonction de la concentration intracellulaire de chaque élément. L'épargne de la méthionine est assurée par le 5-méthyl-THF. Le cycle de la méthionine exerce un rétrocontrôle négatif sur la MTHFR. Le

caractère irréversible de l'action de la MTHFR fait que la disponibilité de THF dépend alors seulement de l'homocystéinémie et de l'activité de la méthionine synthase.

3 La méthylation

A Régulation de l'expression des gènes

La méthylation de l'ADN correspond à l'ajout d'un groupement méthyl-CH₃ sur le carbone 5 des résidus cytosines de l'ADN. Cette modification est assurée par l'ADN méthyltransférase à partir de la S-adénosyl-méthionine (SAM). Chez l'homme, elle a lieu majoritairement au niveau des dinucléotides CpG (cytosine-phosphate-guanine) de l'ADN. Soixante à 90% d'entre eux sont normalement méthylés; ceux qui restent non méthylés constituent les îlots CpG et se localisent préférentiellement au niveau des régions promotrices des gènes. La méthylation inhibe leur expression en empêchant la fixation de facteur de transcription.

L'hypométhylation du génome de cellules cancéreuses serait à l'origine d'une instabilité génomique, d'une augmentation des recombinaisons homologues (entre chromosomes) et d'une activation d'oncogènes (H-ras ou c-myc) (26,27).

Parallèlement à cette déméthylation globale, se produit une hyperméthylation régionale au niveau des îlots CpG responsable de l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs et donc d'une grande instabilité microsatellitaire (27).

Cette hyperméthylation des promoteurs de certains gènes serait un phénomène précoce dans la carcinogenèse hépatique.

B Conséquences d'une carence vitaminique et des polymorphismes de la MTHFR sur le niveau de méthylation de l'ADN.

En cas de mutation 677 du gène de la MTHFR, l'affinité de l'enzyme pour la FAD est abaissée, et sa stabilité dégradée, entraînant une diminution de 5méthyl THF (2,28). Par contre la mutation 1298 ne modifie pas le taux de folates ni d'homocystéine (29).

Une carence en folates sévère et prolongée, d'origine alimentaire, altère la méthylation (évaluée par l'homocystéinémie) comme cela a été démontré chez l'animal et l'homme (30).

Une supplémentation vitaminique permet de corriger l'hypométhylation (31-33). Tous les gènes ne sont pas concernés par cette hypométhylation, certains présentant une hyperméthylation paradoxale (34). En cas de déficit en thymidine, induite par une diminution du taux de 5,10-méthylène-THF, on note une incorporation anormale d'uracile dans le brin d'ADN (35). Ces phénomènes sont mutagènes car ils sont à l'origine d'une translocation ou d'une perte d'ADN, favorisés par une atteinte des mécanismes de réparation (3,36). La mutation n'a les mêmes conséquences qu'en cas de carence vitaminique associée (37-39).

C Quelles conséquences en pratique ?

La question d'un traitement préventif en folates est maintenant posée au vu de ces résultats. Une étude australienne a suivi pendant 6 ans 468 volontaires avant et après l'autorisation du gouvernement d'enrichir certains aliments en folates. Son taux sérique était significativement augmenté de 38% en même temps que le taux d'homocystéine diminuait de 21%, sans que le polymorphisme génétique modifie de manière significative ces variations (40). Bien que plusieurs pays autorisent l'ajout de vitamines dans les aliments, l'impact sur la santé publique

(maladies cardio-vasculaires et anomalies de fermeture du tube neural par exemple) reste à démontrer.

D Comment interpréter ces résultats ?

Le risque de mutation est lié à 2 éléments clés : la disponibilité du THF (en particulier de 5,10-méthylène-TFH), et le taux de SAM. En cas de mutation de la MTHFR et de carence nutritionnelle, ces 2 mécanismes sont altérés. La méthionine synthase est inhibée et diminue le taux de SAM qui n'a plus son rôle de rétrocontrôle négatif sur la MTHFR. Le taux de 5,10-méthylène-THF diminue aussi pour augmenter le pool inexploité de 5-méthyl-THF ce qui retentit sur la TS.

Par contre, lorsque la mutation est présente mais qu'il n'y a pas de carence associée, le taux de SAM est assuré malgré la diminution de l'activité de MTHFR. Celle-ci assure alors un rétrocontrôle négatif sur l'enzyme, ce qui assure une disponibilité suffisante de 5,10-méthylène THF pour la TS (Figure 2).

4 Métabolisme des folates et cancérogenèse chez l'homme

En cancérologie, les études sur le cancer du colon ont permis de mettre en évidence un rôle protecteur de cette mutation (41-43). Le risque de cancer est plus élevé si une carence vitaminique ou une consommation excessive d'alcool sont associées à un polymorphisme (44,45). Le risque d'adénome ne semble pas corrélér à la présence de cette mutation, et les résultats sont encore contradictoires en cas de carence vitaminique ajoutée (46-48).

Dès lors, une relation entre d'autres néoplasies et cette mutation a été recherchée avec des résultats souvent contradictoires. Le risque de cancers de la prostate, du rein, de la vessie, et du colon est augmenté en cas de statut homozygote pour la mutation 677T (49). Une carence en folates ou d'une consommation excessive d'alcool augmentent ce risque. Concernant les autres cancers digestifs, cette mutation favorise le cancer gastrique (50). Pour le cancer de l'œsophage et du cardia, les résultats sont très différents avec un risque augmenté pour Stolzenberg et al. alors que Yang et al. concluent à un effet protecteur. Il faut cependant noter une grande hétérogénéité des populations étudiées (51-53).

Les résultats sont contradictoires dans le cancer du poumon et de la vessie (54-57).

La mutation 677T contrairement au variant C1298 semble lier au cancer du sein (58). La seule étude sur le cancer du col utérin conclue à une diminution du risque (59). Il n'y a pas de rôle prouvé dans la leucémie lymphoïde chronique alors que le mutant 677T protège de la leucémie aiguë (60).

La différence de ces résultats s'explique par les autres nombreux facteurs de risque environnementaux, qu'il est difficile d'analyser séparément dans ces populations. De plus, les cohortes étudiées sont trop petites et inhomogènes sur le plan ethnique car ce sont principalement des publications asiatiques. Les études sont donc encore trop rares, en dehors du cancer colorectal pour conclure.

5 Métabolisme des folates et hépatopathie

A Alcool et folates

Les patients éthyliques présentent souvent un déficit en folates suite à une carence d'apports alimentaires, à une diminution de l'absorption au niveau intestinal, à une diminution du transporteur des folates localisée dans la bordure en brosse, et à un défaut d'absorption et de stockage hépatique. Le métabolisme de l'éthanol provoque en plus un clivage des folates ce qui les dénature (61). Au niveau rénal, il existe aussi une diminution de la réabsorption tubulaire, ce qui accentue les pertes (62). L'alcool intervient donc sur la méthylation indirectement, via une carence induite en folates mais aussi directement par une inhibition des méthyltransférases et de la méthionine synthase (63,64).

B Stéatose et MTHFR

Qu'elle soit d'origine génétique (mutation de la cystathionine béta-synthase (CBS)) ou exogène, une hyperhomocystéinémie provoque chez la souris une stéatose hépatique, (65,66). Ces anomalies provoquent des lésions hépatiques allant jusqu'à la stéatonecrose. Ces faisceaux d'arguments convergent pour imputer l'hyperhomocystéinémie dans la physiopathologie de la cirrhose (67-69). Ce résultat a été confirmé chez l'homme par Adinolfi: sur une étude portant sur 116 patients présentant une hépatite C, il existe une corrélation positive entre le polymorphisme TT du MTHFR, le degré de stéatose, la fibrose et le taux d'homocystéinémie (70). La part génétique de l'hyperhomocystéinémie semble jouer un rôle important dans le développement et la sévérité de la stéatose lié à l'hépatite C, ce qui, à terme, accélère la maladie (70).

C Carcinome hépatocellulaire et MTHFR

La physiopathologie du carcinome hépatocellulaire est incomplètement comprise. Le plus souvent, cette tumeur survient sur une inflammation hépatique ou une cirrhose. Les hépatocytes présentent alors une accélération de la régénération cellulaire, ce qui favorise les mutations par erreur de réplication. Ces anomalies chromosomiques comprennent la perte d'hétérozygotie, une instabilité microsatellite et une expression anormale de gènes mutés. Il a été démontré que les patients ayant un CHC avaient une mutation de la protéine p53 (protéine qui provoque l'apoptose de la cellule en cas d'erreur lors de la division cellulaire) (71-73).

Wong et al. ont démontré chez l'homme la présence d'une méthylation aberrante du promoteur de p15 et 16, qui sont aussi des gènes suppresseurs de tumeurs : 92% des tumeurs avaient l'un ou l'autre des protéines méthylées alors qu'aucune méthylation n'était notée dans les cirrhoses ou les hépatites sans CHC (74-75). Par contre les gènes de C-myc et N-ras (proto-oncogènes) étaient hypométhylés (76). L'incorporation d'uracile dans l'ADN, dont les conséquences ont été citées, a aussi été prouvée dans le foie (77).

D'autre part, une carence en méthionine, choline ou folates (les 3 sources de méthyles de l'organisme) est suffisante en soi pour favoriser une tumeur hépatique par le biais d'une diminution du taux de SAM et de 5-méthyl-THF et donc, par une inhibition de la thymidine synthase (78,79).

Alors que la dysméthylation, les mutations de l'ADN et les carences nutritionnelles sont des facteurs de la carcinogenèse hépatique, une seule étude a été publiée sur un lien entre une mutation du MTHFR et le CHC par Saffroy et al. Ils ont étudié l'association d'une mutation du MTHFR au CHC sur 300 patients transplantés comparés à 80 témoins. En confrontant la fréquence de la mutation C677 de la MTHFR entre des patients cirrhotiques d'origine alcoolique, sans et avec CHC, le génotype TT semble plus fréquent en cas

d'hépatocarcinome. Le risque de CHC n'était pas lié à ce polymorphisme chez les patients présentant une cirrhose virale ou lorsque la tumeur survenait sur un foie sain (80).

OBJECTIFS

Les études récentes apportent des arguments en faveur d'une relation entre le métabolisme des folates et la carcinogenèse chez l'homme. Alors que la mutation 677 du gène de la MTHFR semble protéger du cancer colorectal, elle favoriserait le carcinome hépatocellulaire sur cirrhose éthylique d'après la seule étude disponible dans la littérature.

L'objectif principal de notre étude est de rechercher une relation entre les déterminants nutritionnels (vitamine B9 et B12) et génétiques (polymorphisme de la MTHFR) du cycle des folates et le risque de développer un CHC chez des patients cirrhotiques d'origine caucasienne.

ETUDE

Patients et méthodes

A Patients

Entre septembre 2003 et septembre 2005, 185 patients ayant une cirrhose éthylique ou virale (hépatite B ou C) compliquée ou non d'un CHC, consultants ou hospitalisés dans le service d'hépatogastroentérologie du CHU de Nancy-Brabois ont été inclus dans notre étude. Le diagnostic de cirrhose était cliniquement évident ou prouvé histologiquement. La sévérité de la maladie hépatique était déterminée par le score de Child-Pugh. Le diagnostic d'hépatocarcinome était histologique ou prouvé par la réalisation de deux examens d'imagerie concordants (tomodensitométrie hépatique ou imagerie par résonance magnétique) ou par un de ces examens associé à une α -foetoprotéine (AFP) augmentée. Tous les patients étaient d'origine caucasienne. L'existence de signes cliniques ou endoscopiques d'hypertension portale à l'inclusion était rétrospectivement déterminée, de même que la consommation d'alcool et de tabac. Une population considérée « témoin » a également été constituée par le biais du Centre de médecine Préventive (Nancy) ; elle regroupe 192 sujets indemnes de toute pathologie hépatique.

B Méthodes

Tous les patients inclus ont bénéficié d'un dosage des vitamines B9, B12 et de l'homocystéinémie. Le dosage de l'homocystéine a été réalisé par immunoenzymologie (Abbott diagnostics, France) ; les valeurs normales sont comprises entre 5 et 15 μ moles/l. La vitamine B 12 et les folates étaient dosés par chemoluminescence (ACS 180 Bayer) ; leurs valeurs normales sont respectivement de 6-36 nmoles/l et de 156-674 pmoles/l.

Après signature du consentement éclairé, un prélèvement sanguin était effectué sur EDTA et l'ADN génomique était extrait par une méthode usuelle (NUCLEON BACC3, Amersham Pharmacia Biotech, Milan, Italy). L'analyse des polymorphismes de la MTHFR a été ensuite effectuée par PCR en temps réel à l'aide d'amorces spécifiques des séquences d'intérêt en utilisant le Light Cycler (Roche, Italie). 2 µl d'ADN (concentration de 50 à 100 ng/µl) est mélangé à 2.2 µL d'H₂O, à 0.8 µl de MgCl (25mM), à 0.5 µM de chaque amorce (à une concentration de 0.2 µM) et 1 µl du kit LC hybridation probe, contenant la Fast Start Taq polymerase. Selon le principe de FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer), des sondes d'hybridation fluorescentes Flu et Red spécifiques sont ajoutées ; la PCR comprend une étape de dénaturation à 95°C pendant 10 minutes, 40 cycles d'amplification à 95°C pendant 10 secondes (sec) puis 55°C pendant 5 sec et 72°C pendant 5 sec. La courbe de fusion (melting curves) nécessite une étape de 10 sec à 95°C, de 20 sec à 45°C et de 0 sec à 85°C puis le refroidissement termine le cycle à 40°C pendant 30 sec afin de permettre la fusion progressive des doubles brins d'ADN et des sondes. Les résultats sont lus sur 2 canaux à 640 nm pour la mutation C677T et à 705 nm pour la mutation A1298T. Les homozygotes 677CC donnent un pic à 64°, les mutés (677 TT) un pic à 55° et les hétérozygotes (677TC) 2 pics à 55°C et 64°C (annexe 1). Les homozygotes 1298AA donnent un pic à 66°C, les mutés 1298CC un pic à 57°C et les hétérozygotes 2 pics à 57°C et 66°C (annexe 2).

C Analyses statistiques

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne et de déviation standard. Une analyse descriptive a été réalisée sur le logiciel SPSS. Les variables quantitatives ont été comparées dans les trois groupes (cirrhotiques, cirrhotiques compliqués d'un CHC et témoins) par le test t de Student, les données qualitatives par le test du Khi-deux. Une analyse en fonction de

l'étiologie de la cirrhose a également été effectuée. Le seuil de signification utilisé était p inférieur ou égal à 0.05.

Résultats

A Analyse descriptive

Parmi les 185 cirrhotiques inclus, 122 présentaient un hépatocarcinome, 79 développés sur une cirrhose d'origine éthylique, 43 sur une cirrhose d'origine virale (tableau 1).

Tableau 1 : Répartition de la population étudiée.

	CHC sur cirrhose éthylique n=79	CHC sur cirrhose virale n=43	Cirrhose alcoolique n=34	Cirrhose virale n=29
Hommes (%)	65 (82%)	35 (81.4%)	27 (79.4%)	21 (72.4%)
Age	66.68 +/- 8.73*	65.58 +/- 10.1*	57.82 +/- 11.06	53.69 +/- 9.6
Durée de suivi	1.95 +/- 4.13	2.63 +/- 5.1	2.36 +/- 4.9	2.34 +/- 2.7

* p=0.0001 : comparaison entre les patients ayant un CHC d'origine éthylique ou virale et les témoins.

Le sexe masculin n'apparaissait pas significativement lié à la présence d'un CHC; en revanche les patients cirrhotiques ayant développés un CHC étaient significativement plus âgés que les patients cirrhotiques sans hépatocarcinome (p=0.0001). La durée de suivi dans le service ne différait pas d'un groupe à l'autre. La répartition des patients selon le score de Child-Pugh était la suivante: pour le groupe de cirrhotique avec CHC : stade A: 46, stade B: 44, stade C: 23 et pour le groupe de cirrhotiques sans CHC : stade A: 30, stade B:18, stade C: 15. La sévérité de la maladie ne différait pas entre les deux groupes, mais le temps de Quick

était significativement plus élevé dans le groupe de cirrhotiques compliqués d'un CHC ($p=0.03$). Cette différence était retrouvée si seuls les cirrhotiques d'origine éthyliques étaient considérés. L'albuminémie apparaissait en revanche plus basse chez les patients avec un CHC ($p=0.08$).

Le taux moyen de folates sériques apparaissait dans les limites de la normale chez les cirrhotiques avec ou sans CHC ; il était cependant significativement plus élevé chez les patients compliqués d'un CHC ($p=0.007$). Ce résultat était retrouvé si seuls les cirrhotiques d'origine éthylique étaient analysés. Par contre l'homocystéinémie était normale dans les 2 groupes même en cas de différence du taux de folates (tableau 2).

Lorsque l'ensemble des patients cirrhotiques inclus était considéré, la présence de signes endoscopiques d'hypertension portale, d'une ascite, ainsi qu'une consommation excessive d'alcool et un tabagisme actif n'étaient pas associés à la présence d'un CHC.

Tableau 2 : Caractéristiques des patients cirrhotiques sans ou avec CHC quelque soit l'étiologie.

	CHC n=122	Cirrroses n=63	p
Bilirubine totale (mg/l)	23.39 +/- 31.48	26.06 +/- 28.76	NS
Albumine (g/l)	30.14 +/- 7.5	32.58 +/- 9.56	0.08
TP (%)	72.28 +/- 20.75	65.78 +/- 18.38	0.03
Child-Pugh	7 +/- 2	7 +/- 9	NS
Folates sériques (nmoles/l)	11.7 +/- 6.06	9.13 +/- 4.87	0.007
Vitamine B12 (pmoles/l)	1357.99 +/- 2197.39	675.75 +/- 586	NS
Homocystéinémie (μmoles/l)	16.16 +/- 8.86	14.37 +/- 5.44	NS

B L'analyse du polymorphisme de la MTHFR 677

La prévalence du génotype CC (sauvage) chez les patients ayant développé un CHC sur une cirrhose d'origine éthylique était de 31%. Elle était de 35% chez les patients avec une cirrhose éthylique sans CHC. Il n'existait pas de différence significative entre ces 2 groupes lorsqu'ils étaient comparés au groupe témoin. Le génotype CC semblait cependant moins fréquent chez les cirrhotiques alcooliques avec un CHC en comparaison aux témoins ($p=0.06$).

La prévalence du génotype CC chez les patients ayant développé un CHC sur une cirrhose virale était de 56% en comparaison aux 44% observés chez cirrhotiques d'origine virale sans CHC (p NS). Il n'existait pas de différence significative entre ces 2 groupes et les témoins. Le génotype CC semblait cependant plus fréquent chez les patients avec un CHC sur une cirrhose virale en comparaison aux témoins ($p=0.07$) (tableau 3).

Le phénotype 677CC semblait plus fréquent chez les patients présentant un CHC sur cirrhose d'origine éthylique que virale ($p=0.008$).

La comparaison du polymorphisme et du taux de folates, de vitamine B12, et d'homocystéine ne mettait pas en évidence de différence significative entre aucun des groupes.

Tableau 3 : Répartition du polymorphisme de la MTHFR 677 dans la population étudiée.

	CHC sur cirrhoses alcooliques N=79	CHC sur cirrhoses virales N=43	Cirrhoses alcooliques N=34	Cirrhoses virales N=29	Témoins N=192
CC	25 (31.6%)*	24 (55.8%)**	12 (35%)	13 (44.8%)	81 (42%)
CT	40 (50.6%)	13 (30.2%)	20 (59%)	14 (48.3%)	83 (43%)
TT	14 (17.8%)	6 (14%)	2 (6%)	2 (6.9%)	27 (14%)

NB: $p > 0.05$

* $p=0.008$ comparaison entre les patients avec un CHC sur une cirrhose d'étiologie éthylique ou virale.

* $p=0.06$: comparaison entre les patients avec un CHC sur une cirrhose éthylique et les témoins.

** $p=0.07$: comparaison entre les patients avec un CHC sur une cirrhose virale et les témoins.

C L'analyse du polymorphisme de la MTHFR 1298

La prévalence du génotype AA chez les patients ayant un CHC sur une cirrhose d'origine éthylique était de 50% en comparaison au 35% chez les patients cirrhotiques sans CHC. Il n'existait pas de différence significative entre ces 2 groupes en comparaison aux témoins.

La prévalence du génotype AA chez les patients ayant un CHC sur une cirrhose d'origine virale était de 44%. Elle était de 27% chez les patients avec une cirrhose d'origine virale sans CHC. A nouveau, il n'existait pas de différence significative entre ces 2 groupes lorsqu'ils étaient comparés aux témoins.

La répartition du polymorphisme était similaire entre le groupe de patients ayant un CHC sur une cirrhose éthylique et ceux ayant un CHC sur une cirrhose virale (tableau 4).

La comparaison du taux de folates, de vitamine B12 et d'homocystéine en fonction du polymorphisme ne mettait pas en évidence de différence.

Tableau 4: Répartition du polymorphisme de la MTHFR 1298 dans la population étudiée.

	CHC sur cirrhoses éthyliques N=79	CHC sur cirrhoses virales N=43	Cirrhoses éthyliques N=34	Cirrhoses virales N=29	Témoins N=113
AA	40 (50.6%)	19 (44.2%)	12 (35.3%)	8 (27.6%)	46 (40.7%)
AC	36 (45.6%)	14 (32.6%)	20 (58.8%)	16 (55.2%)	54 (47.8%)
CC	3 (3.8%)	10 (23.2%)	2 (5.9%)	5 (17.2%)	13 (11.5%)

NB : $p > 0.05$

Discussion

Les résultats préliminaires de notre étude ne semble pas confirmer les résultats de l'autre étude française concernant la prévalence du polymorphisme de la MTHFR 677 dans le CHC (80). Dans notre population, la fréquence des formes sauvages (CC) de la MTHFR 677 était comparable dans le groupe CHC sur cirrhose éthylique (25/79 ;31.6%) et dans le groupe cirrhose alcoolique sans CHC (12/34 ;35%). Ces fréquences étaient respectivement de 60% (n=43/72) et 43% (n=52/122) dans l'étude de Saffroy et al. Il est peu probable que la faiblesse de notre effectif dans le groupe cirrhose alcoolique explique la différence de résultats entre ces deux études.

La prévalence des formes sauvages CC semblait plus faible pour les cirrhotiques d'origine éthylique compliqués d'un CHC par rapport aux témoins, alors qu'elle était plus élevée pour les cirrhotiques d'origine virale compliqués d'un CHC quand ces deux groupes étaient comparés aux témoins. Ces résultats sont à prendre avec précaution car ils sont à la limite de la significativité. De manière plus intéressante, les formes CC étaient significativement plus fréquentes pour les cirrhotiques d'origine virale avec un CHC par rapport à ceux dont l'étiologie est alcoolique (56% vs 32% ; p=0.008). Ces résultats n'ont pas été retrouvés dans l'étude de Saffroy et al. (80). Cela pourrait s'expliquer par une sélection stricte de nos cas et de nos témoins. En effet en raison des variations de fréquence de la mutation en fonction de l'origine ethnique et d'un gradient nord-sud en Europe, les patients non caucasiens et les italiens étaient exclus d'emblée, ces derniers ayant une fréquence très élevée du polymorphisme TT et d'hépatopathies virales (19,20). Pour la première fois, l'étude du polymorphisme 1298AC est réalisée dans une population de patients cirrhotiques avec ou sans un CHC. La fréquence de la mutation 1298AC ne diffère pas entre les groupes CHC ou cirrhose, quelque soit l'étiologie, en comparaison aux témoins. Ce résultat peut s'expliquer par le fait que la mutation 1298 altère moins l'activité enzymatique que la mutation 677

(12,13). Elle n'a d'ailleurs pas été impliquée dans la carcinogenèse colique. Comme pour le polymorphisme 677, les taux plasmatiques de folates, de vitamine B12, et l'homocystéinémie ne sont pas corrélés au génotype.

Dans notre étude, ils apparaissent dans les limites de la normale dans tous les groupes. Le taux moyen de folates semble plus faible chez les patients cirrhotiques sans CHC en comparaison aux patients ayant développés un CHC ($p=0.007$). Ce résultat se confirme si seuls les cirrhotiques d'origine éthylique sont considérés. Les données de la littérature montrent qu'il existe fréquemment une carence chez les patients éthyliques attribuée à une carence d'apports alimentaires, une diminution de l'absorption, et à une toxicité directe de l'éthanol (61). Dans notre étude, ce déficit vitaminique n'est pas corrélé à l'homocystéinémie alors que certains auteurs ont décrits une hyperhomocystéinémie secondaire à cette carence (30,37). On peut supposer que, dans notre étude, ce déficit n'est pas assez profond et que les autres voies de métabolisme de l'homocystéine prennent alors le relais. Les taux de vitamine B9, B12 et d'homocystéine sont comparables pour les patients cirrhotiques d'origine virale sans ou avec un CHC. Ceci renforce l'idée d'un impact de l'éthylisme sur le taux de folates. La comparaison du polymorphisme avec les taux de folates, de vitamine B12 et l'homocystéinémie ne montre pas de corrélation entre les deux. On s'attend pourtant à une hyperhomocystéinémie en cas de génotype TT. Un taux de folates normal et un faible nombre de patients inclus pourraient expliquer ce résultat.

CONCLUSION

Le domaine des interactions gène/nutriment est un modèle qui permet d'étudier les conséquences d'un déséquilibre environnemental sur le génome. Le cycle des folates à travers son influence sur la méthylation et le niveau de synthèse de l'ADN est une voie de recherche prometteuse en cancérologie. L'identification des polymorphismes du gène de la MTHFR, de la méthionine synthase, et d'autres enzymes impliqués dans le cycle des folates fait l'objet d'une attention particulière car elle pourrait améliorer la compréhension de la carcinogenèse. Le polymorphisme de la MTHFR pourrait également expliquer la meilleure tolérance de différentes chimiothérapies et être un facteur prédictif de réponse au 5-FU.

Il semble clairement établi que la mutation 677TT est protectrice dans la néoplasie colique. Cependant des facteurs exogènes (un taux de folates bas et un éthylysme chronique) pourraient altérer cet bénéfice. D'après notre étude, une relation entre le polymorphisme du gène de la MTHFR et le CHC semble hypothétique. Seule une étude de cohorte avec un suivi prospectif de cirrhotiques permettrait d'établir ce lien. Pour la carcinogenèse hépatique et malgré les progrès récents, il persiste des zones d'ombre avant de pouvoir établir des marqueurs pronostiques et des facteurs prédictifs de réponse au traitement.

Des études sur l'enrichissement des aliments en folates ont montré une baisse de l'homocystéine et une diminution du taux d'anomalies de fermeture du tube neural. Cependant l'impact réel sur les autres pathologies n'est pas connu. L'intérêt d'une supplémentation alimentaire sur l'ensemble de la population semble donc non prouvée et injustifiée malgré l'effet de mode des 'vitamines'.

FIGURES

Figure 1 : Le cycle des folates.

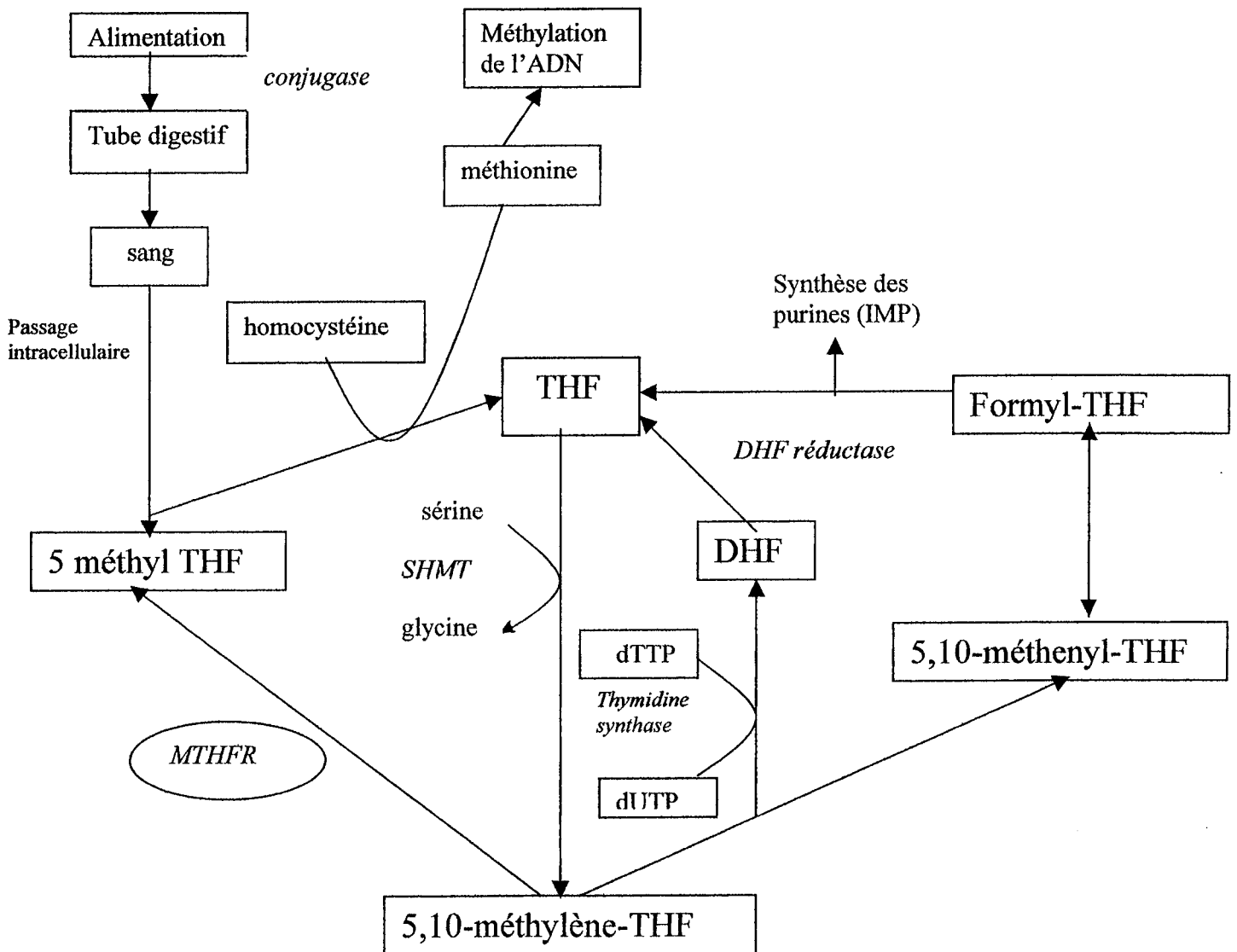
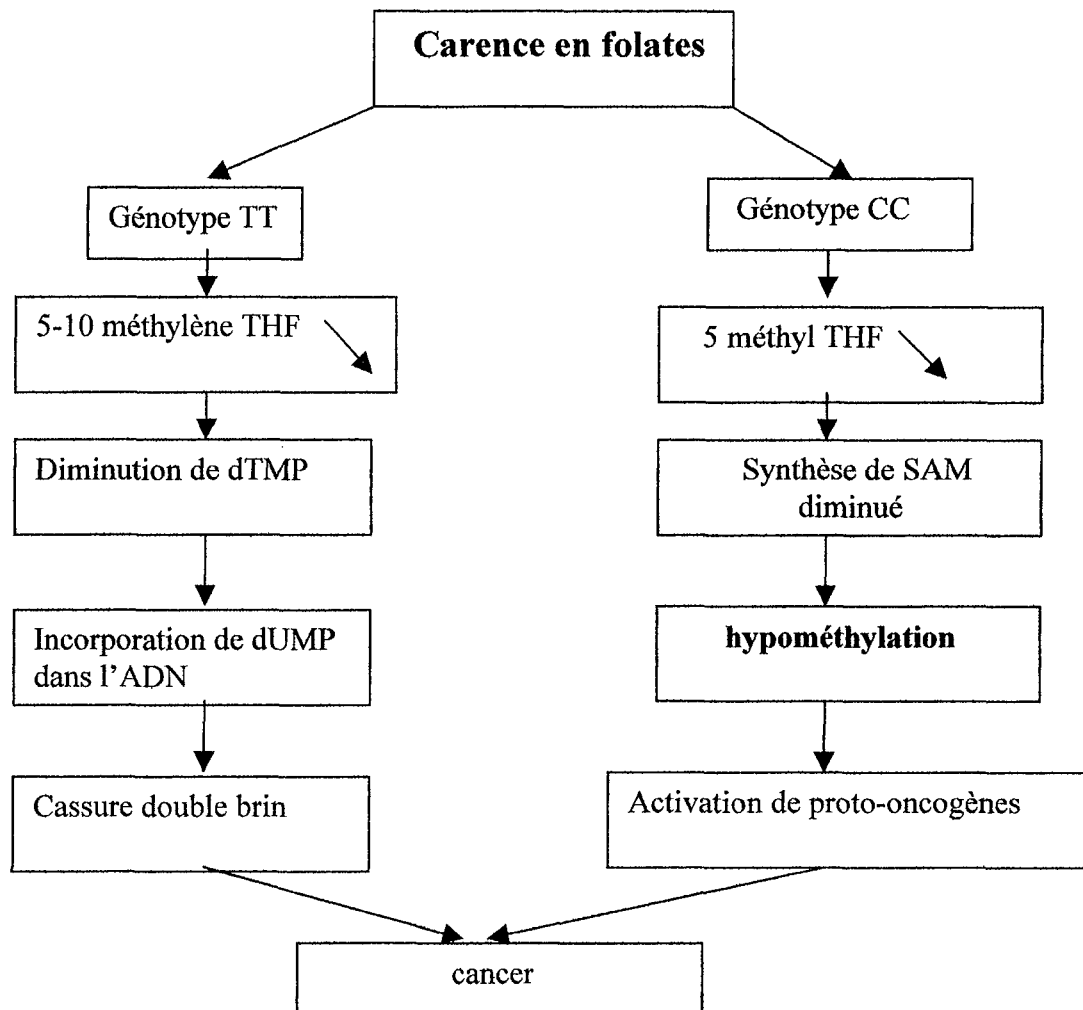
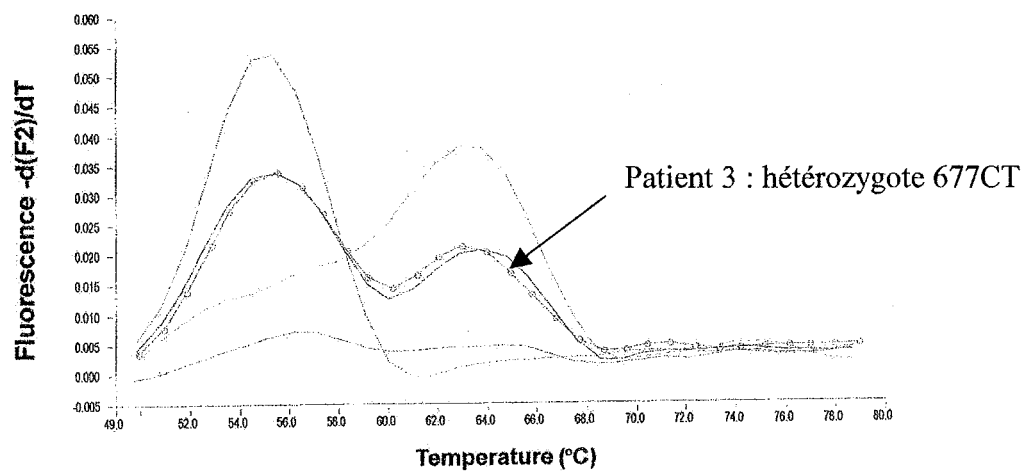
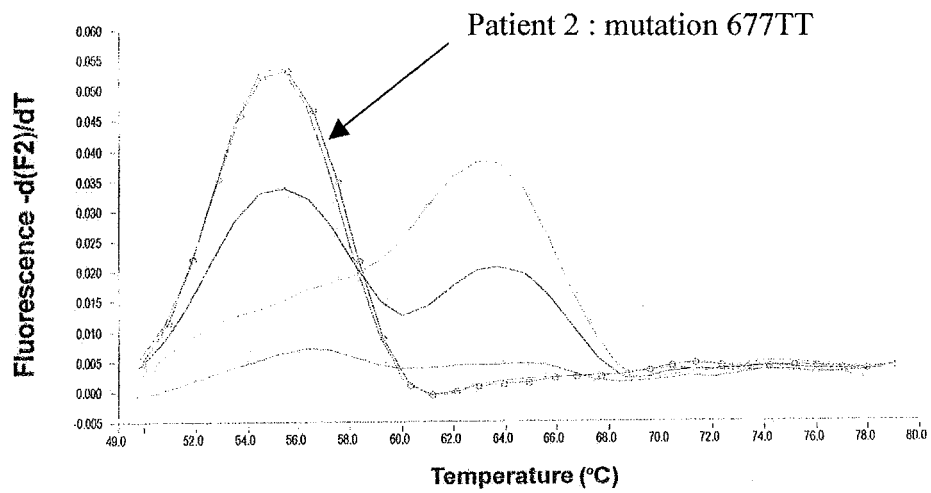
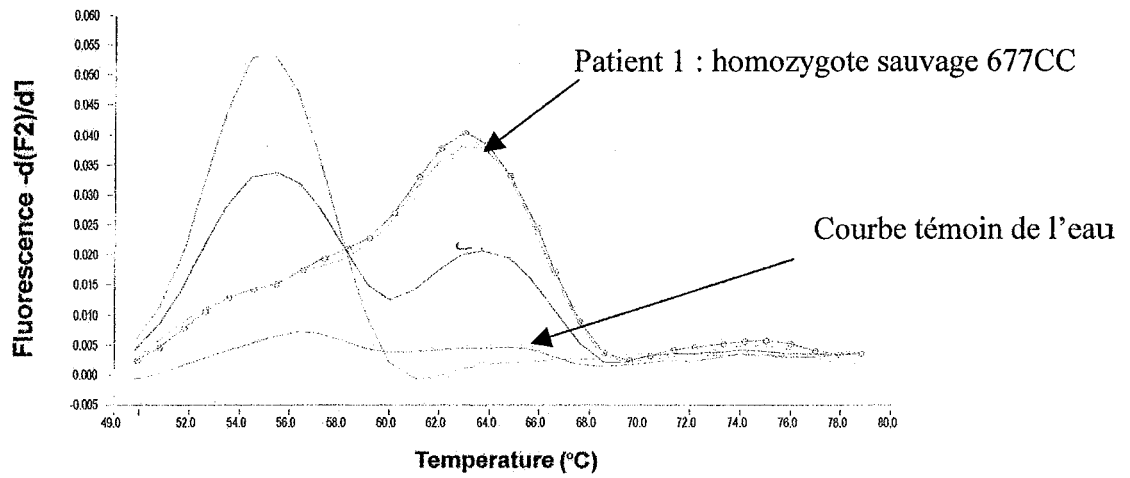


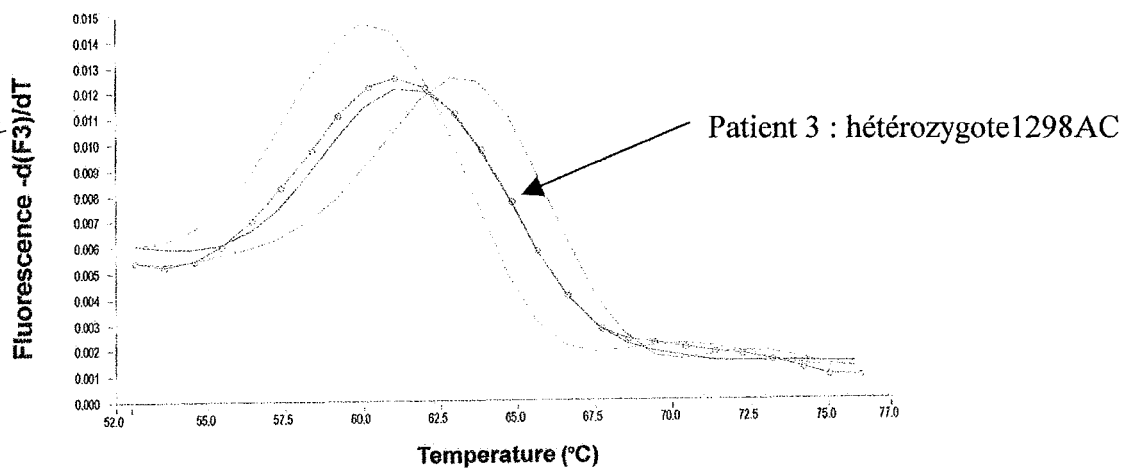
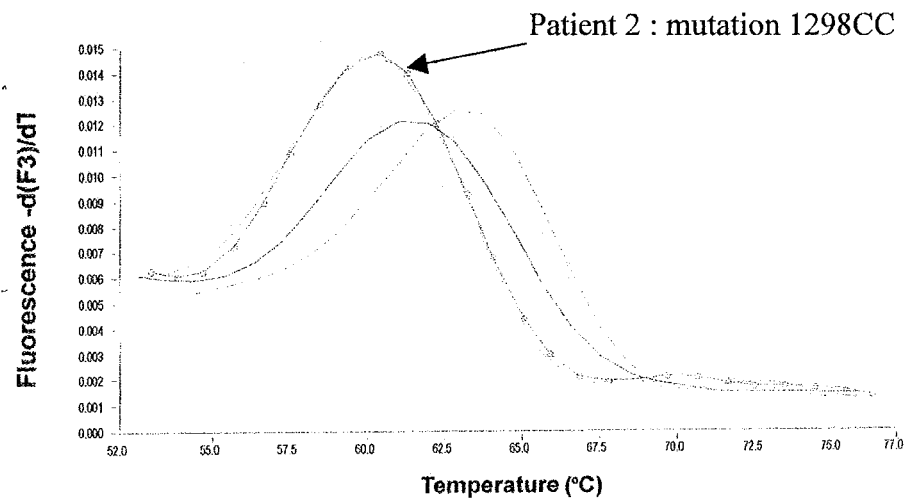
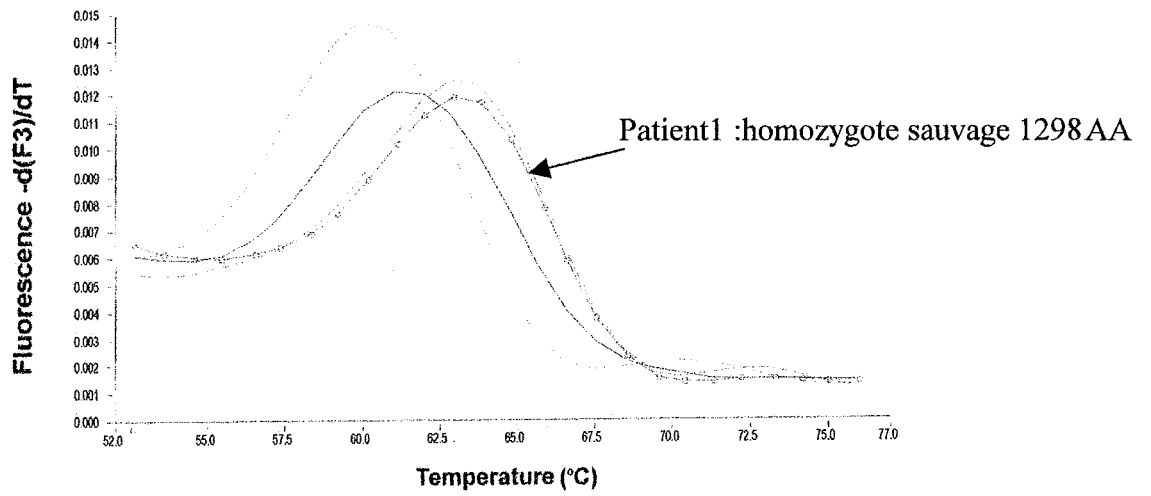
Figure 2 : Les conséquences d'une carence en folates en fonction du génotype 677.



du polymorphisme 677 du gène de la MTHFR.



Annexe 2 : Exemples de courbes obtenues après PCR par le Light-Cycler pour la recherche du polymorphisme 1298 du gène de la MTHFR.



RERERENCES

1. Lucock M. Folic acid: nutritional biochemistry, molecular biology, and role in disease processes. *Mol Genet Metab.* 2000;71(1-2):121-38.
2. Bagley PJ, Selhub J. A common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is associated with an accumulation of formylated tetrahydrofolates in red blood cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998;95(22):13217-20.
3. Chango A. Génétique moléculaire de la reméthylation de l'homocystéine. *Annales de biologie clinique* 1999;57:37-42.
4. Lucock MD, Priestnall M, Daskalakis I, Schorah CJ, Wild J, Levene MI. Nonenzymatic degradation and salvage of dietary folate: physicochemical factors likely to influence bioavailability. *Biochem Mol Med.* 1995 Jun;55(1):43-53.
5. Lucock M. Is folic acid the ultimate functional food component for disease prevention? *BMJ.* 2004 Jan 24;328(7433):211-4.
6. David JL. L'hyperhomocystéinémie facteur du risque thrombo-embolique veineux. *Louvain med.* 2000;119:S191-S196.
7. Mato JM, Lu SC. Homocysteine, the bad thiol. *Hepatology.* 2005;41(5):995-1003
8. Ghandour H, Chen Z, Selhub J, Rozen R. Mice deficient in methylenetetrahydrofolate reductase exhibit tissue-specific distribution of folates. *J Nutr.* 2004;134(11):2975-8.
9. Friso S, Choi SW. Gene-nutrient interactions in one-carbon metabolism. *Curr Drug Metab.* 2005;6(1):37-46.
10. Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet.* 1995;10(1):111-3.

11. van der Put NM, Gabreels F, Stevens EM, Smeitink JA, Kriebels FJ, Eskes TK. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural-tube defects? *Am J Hum Genet.* 1998;62(5):1044-51.
12. Chango A, Boisson F, Barbe F, Quilliot D, Drosch S, Pfister M et al. The effect of 677C->T and 1298A->C mutations on plasma homocysteine and 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase activity in healthy subjects. *Br J Nutr.* 2000 Jun;83(6):593-6.
13. Weisberg IS, Jacques PF, Selhub J, Bostom AG, Chen Z, Curtis Ellison R et al. The 1298A->C polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): in vitro expression and association with homocysteine. *Atherosclerosis.* 2001 Jun;156(2):409-15.
14. Weisberg I, Tran P, Christensen B, Sibani S, Rozen R. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. *Mol Genet Metab.* 1998;64(3):169-72.
15. Sibani S, Leclerc D, Weisberg IS, O'Ferrall E, Watkins D, Artigas C, Rosenblatt DS, Rozen R. Characterization of mutations in severe methylenetetrahydrofolate reductase deficiency reveals an FAD-responsive mutation. *Hum Mutat.* 2003 May;21(5):509-20.
16. Rady PL, Szucs S, Grady J, Hudnall SD, Kellner LH, Nitowsky H, Tyring SK, Matalon RK. Genetic polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and methionine synthase reductase (MTRR) in ethnic populations in Texas; a report of a novel MTHFR polymorphic site, G1793A. *Am J Med Genet.* 2002 Jan 15;107(2):162-8.
17. Brattstrom L, Wilcken DE, Ohrvik J, Brudin L. Common methylenetetrahydrofolate reductase gene mutation leads to hyperhomocysteinemia but not to vascular disease: the result of a meta-analysis. *Circulation.* 1998 Dec 8; 98(23):2520-6.
18. Klerk M, Verhoef P, Clarke R, Blom HJ, Kok FJ, Schouten EG; MTHFR Studies Collaboration Group. MTHFR 677C->T polymorphism and risk of coronary heart disease: a meta-analysis. *JAMA.* 2002;288(16):2023-31.
19. Gudnason V, Stansbie D, Scott J, Bowron A, Nicaud V, Humphries S. C677T (thermolabile alanine/valine) polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase

(MTHFR): its frequency and impact on plasma homocysteine concentration in different European populations. EARS group. *Atherosclerosis*. 1998;136(2):347-54.

20. Abbate R, Sardi I, Pepe G, Marcucci R, Brunelli T, Prisco D et al. The high prevalence of thermolabile 5-10 methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) in Italians is not associated to an increased risk for coronary artery disease (CAD). *Thromb Haemost*. 1998;79(4):727-30.

21. Adjalla CE, Amouzou EK, Sanni A, Abdelmouttaleb I, Chabi NW, Namour F et al. Low frequency of mutated methylenetetrahydrofolate reductase 677C-->T and 1298A-->C genetics single nucleotide polymorphisms (SNPs) in Sub-Saharan populations. *Clin Chem Lab Med*. 2003;41(8):1028-32.

22. Amouzou EK, Chabi NW, Adjalla CE, Rodriguez-Gueant RM, Feillet F, Villaume C et al. High prevalence of hyperhomocysteinemia related to folate deficiency and the 677C-->T mutation of the gene encoding methylenetetrahydrofolate reductase in coastal West Africa. *Am J Clin Nutr*. 2004;79(4):619-24.

23. McAndrew PE, Brandt JT, Pearl DK, Prior TW. The incidence of the gene for thermolabile methylene tetrahydrofolate reductase in African Americans. *Thromb Res*. 1996;83(2):195-8.

24. Austin H, Hooper WC, Dilley A, Drews C, Renshaw M, Ellingsen D et al. The prevalence of two genetic traits related to venous thrombosis in whites and African-Americans. *Thromb Res*. 1997;86(5):409-15.

25. Girelli D, Friso S, Trabetti E, Olivieri O, Russo C, Pessotto R et al. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutation, plasma homocysteine, and folate in subjects from northern Italy with or without angiographically documented severe coronary atherosclerotic disease: evidence for an important genetic-environmental interaction. *Blood*. 1998 Jun 1;91(11):4158-63.

26. Kim YI, Pogribny IP, Basnakian AG, Miller JW, Selhub J, James SJ et al. Folate deficiency in rats induces DNA strand breaks and hypomethylation within the p53 tumor suppressor gene. *Am J Clin Nutr*. 1997;65(1):46-52.

27. Torrisani J. Méthylation de l'ADN et régulation épigénétique des cancers. *Hépatogastro* 2003;10(6):455-67.
28. Guenther BD, Sheppard CA, Tran P, Rozen R, Matthews RG, Ludwig ML. The structure and properties of methylenetetrahydrofolate reductase from *Escherichia coli* suggest how folate ameliorates human hyperhomocysteinemia. *Nat Struct Biol.* 1999 Apr;6(4):359-65.
29. Friedman G, Goldschmidt N, Friedlander Y, Ben-Yehuda A, Selhub J, Babaey S, et al. A common mutation A1298C in human methylenetetrahydrofolate reductase gene: association with plasma total homocysteine and folate concentrations. *J Nutr.* 1999;129(9):1656-61.
30. Davis SR, Quinlivan EP, Shelnut KP, Ghandour H, Capdevila A, Coats BS et al. Homocysteine Synthesis Is Elevated but Total Remethylation Is Unchanged by the Methylenetetrahydrofolate Reductase 677C->T Polymorphism and by Dietary Folate Restriction in Young Women. *J. Nutr.* 2005 May;135(5):1045-50.
31. Rampersaud GC, Kauwell GP, Hutson AD, Cerda JJ, Bailey LB. Genomic DNA methylation decreases in response to moderate folate depletion in elderly women. *Am J Clin Nutr.* 2000;72(4):998-1003.
32. Balaghi M, Wagner C. DNA methylation in folate deficiency: use of CpG methylase. *Biochem Biophys Res Commun.* 1993;193(3):1184-90.
33. Jacob RA, Gretz DM, Taylor PC, James SJ, Pogribny IP, Miller BJ, Henning SM, Swendseid ME. Moderate folate depletion increases plasma homocysteine and decreases lymphocyte DNA methylation in postmenopausal women. *J Nutr.* 1998 Jul;128(7):1204-12.
34. Jhaveri MS, Wagner C, Trepel JB. Impact of extracellular folate levels on global gene expression. *Mol Pharmacol.* 2001;60(6):1288-95.
35. Duthie SJ, Narayanan S, Brand GM, Pirie L, Grant G. Impact of folate deficiency on DNA stability. *J Nutr.* 2002;132(8 Suppl):2444S-2449S.
36. Wei Q, Shen H, Wang LE, Duphorne CM, Pillow PC, Guo Z, et al. Association between low dietary folate intake and suboptimal cellular DNA repair capacity. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2003;12(10):963-9.

37. Kauwell GP, Wilsky CE, Cerda JJ, Herrlinger-Garcia K, Hutson AD, Theriaque DW, Boddie A, Rampersaud GC, Bailey LB. Methylenetetrahydrofolate reductase mutation (677C->T) negatively influences plasma homocysteine response to marginal folate intake in elderly women. *Metabolism*. 2000 Nov;49(11):1440-3.
38. Friso S, Choi SW, Girelli D, Mason JB, Dolnikowski GG, Bagley PJ et al. A common mutation in the 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase gene affects genomic DNA methylation through an interaction with folate status. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(8):5606-11.
39. Stern LL, Mason JB, Selhub J, Choi SW. Genomic DNA hypomethylation, a characteristic of most cancers, is present in peripheral leukocytes of individuals who are homozygous for the C677T polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2000;9(8):849-53.
40. Hickling S, Hung J, Knuiman M, Jamrozik K, McQuillan B, Beilby J et al. Impact of voluntary folate fortification on plasma homocysteine and serum folate in Australia from 1995 to 2001: a population based cohort study. *Epidemiol Community Health*. 2005;59(5):371-6.
41. Peyrin-Biroulet L, Barraud H, Ancel D, Petit-Laurent F, Bigard MA, Guéant JL, et al. Métabolisme des folates et cancérogenèse colorectale. *Gastroenterol Clin Biol*. 2004 ;28 :582-592.
42. Ulvik A, Vollset SE, Hansen S, Gislefoss R, Jellum E, Ueland PM. Colorectal cancer and the methylenetetrahydrofolate reductase 677C -> T and methionine synthase 2756A -> G polymorphisms: a study of 2,168 case-control pairs from the JANUS cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2004 Dec;13(12):2175-80.
43. Houlston RS, Tomlinson IP. Polymorphisms and colorectal tumor risk. *Gastroenterology*. 2001;121(2):282-301.
44. Strohle A, Wolters M, Hahn A Folic acid and colorectal cancer prevention: molecular mechanisms and epidemiological evidence. *Int J Oncol*. 2005 Jun;26(6):1449-64.

45. Pufulete M, Al-Ghnam R, Leather AJ, Appleby P, Gout S, Terry C. Folate status, genomic DNA hypomethylation, and risk of colorectal adenoma and cancer: a case control study. *Gastroenterology*. 2003;124(5):1240-8.
46. Giovannucci E, Chen J, Smith-Warner SA, Rimm EB, Fuchs CS, Palomeque C, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase, alcohol dehydrogenase, diet, and risk of colorectal adenomas. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2003;12(10):970-9.
47. Ulrich CM, Kampman E, Bigler J, Schwartz SM, Chen C, Bostick R, et al. Colorectal adenomas and the C677T MTHFR polymorphism: evidence for gene-environment interaction? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1999;8(8):659-68.
48. Slattery ML, Potter JD, Samowitz W, Schaffer D, Leppert M. Methylenetetrahydrofolate reductase, diet, and risk of colon cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1999 Jun;8(6):513-8.
49. Heijmans BT, Boer JM, Suchiman HE, Cornelisse CJ, Westendorp RG, Kromhout D, Feskens EJ, Slagboom PE. A common variant of the methylenetetrahydrofolate reductase gene (1p36) is associated with an increased risk of cancer. *Cancer Res*. 2003 Mar 15;63(6):1249-53.
50. Shen H, Newmann AS, Hu Z, Zhang Z, Xu Y, Wang L, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms/haplotypes and risk of gastric cancer: a case-control analysis in China. *Oncol Rep*. 2005;13(2):355-60.
51. Song C, Xing D, Tan W, Wei Q, Lin D. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms increase risk of esophageal squamous cell carcinoma in a Chinese population. *Cancer Res*. 2001;61(8):3272-5.
52. Yang CX, Matsuo K, Ito H, Shinoda M, Hatooka S, Hirose K, et al. Gene-environment interactions between alcohol drinking and the MTHFR C677T polymorphism impact on esophageal cancer risk: results of a case-control study in Japan. *Carcinogenesis*. 2005 Jul;26(7):1285-90.

53. Stolzenberg-Solomon RZ, Qiao YL, Abnet CC, Ratnasinghe DL, Dawsey SM, Dong ZW et al. Esophageal and gastric cardia cancer risk and folate- and vitamin B(12)-related polymorphisms in Linxian, China. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2003;12(11):1222-6.
54. Jeng YL, Wu MH, Huang HB, Lin WY, You SL, Chu TY. The methylenetetrahydrofolate reductase 677C-->T polymorphism and lung cancer risk in a Chinese population. *Anticancer Res.* 2003;23(6D):5149-52.
55. Shen H, Spitz MR, Wang LE, Hong WK, Wei Q. Polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase and risk of lung cancer: a case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2001;10(4):397-401.
56. Lin J, Spitz MR, Wang Y, Schabath MB, Gorlov IP, Hernandez LM, et al. Polymorphisms of folate metabolic genes and susceptibility to bladder cancer: a case-control study. *Carcinogenesis.* 2004;25(9):1639-47.
57. Moore LE, Wiencke JK, Bates MN, Zheng S, Rey OA, Smith AH Investigation of genetic polymorphisms and smoking in a bladder cancer case-control study in Argentina. *Cancer Lett.* 2004 Aug 10;211(2):199-207.
58. Chen J, Gammon MD, Chan W, Palomeque C, Wetmur JG, Kabat GC, et al. One-carbon metabolism, MTHFR polymorphisms, and risk of breast cancer. *Cancer Res.* 2005;65(4):1606-14.
59. Zoodsma M, Nolte IM, Schipper M, Oosterom E, van der Steege G, de Vries EG et al. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and susceptibility for (pre)neoplastic cervical disease. *Hum Genet.* 2005 Mar;116(4):247-54.
60. Rudd MF, Sellick GS, Allinson R, Matutes E, Catovsky D, Houlston RS. MTHFR polymorphisms and risk of chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2004;13(12):2268-70.
61. Shaw S, Jayatilleke E, Herbert V, Colman N. Cleavage of folates during ethanol metabolism. Role of acetaldehyde/xanthine oxidase-generated superoxide. *Biochem J.* 1989;257(1):277-80.

62. Halsted CH, Villanueva JA, Devlin AM, Chandler CJ. Metabolic interactions of alcohol and folate. *J Nutr.* 2002 Aug;132(8 Suppl):2367S-2372S.
63. Villanueva JA, Halsted CH. Hepatic transmethylation reactions in micropigs with alcoholic liver disease. *Hepatology.* 2004;39(5):1303-10.
64. Choi SW, Stickel F, Baik HW, Kim YI, Seitz HK, Mason JB. Chronic alcohol consumption induces genomic but not p53-specific DNA hypomethylation in rat colon. *J Nutr.* 1999;129(11):1945-50.
65. Lu SC, Huang ZZ, Yang H, Mato JM, Avila MA, Tsukamoto H. Changes in methionine adenosyltransferase and S-adenosylmethionine homeostasis in alcoholic rat liver. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2000;279(1):G178-85.
66. Watanabe M, Osada J, Aratani Y, Kluckman K, Reddick R, Malinow MR, Maeda N. Mice deficient in cystathionine beta-synthase: animal models for mild and severe homocyst(e)inemia. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995 Feb 28;92(5):1585-9.
67. Villanueva JA, Halsted CH. Hepatic transmethylation reactions in micropigs with alcoholic liver disease. *Hepatology.* 2004;39(5):1303-10.
68. Halsted CH, Villanueva JA, Devlin AM, Niemela O, Parkkila S, Garrow TA, et al. Folate deficiency disturbs hepatic methionine metabolism and promotes liver injury in the ethanol-fed micropig. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002;99(15):10072-7.
69. Halsted CH, Villanueva JA, Devlin AM, James SJ. Interactions of ethanol and folate deficiency in development of alcoholic liver disease in the micropig. *Trans Am Clin Climatol Assoc.* 2002;113:151-62.
70. Adinolfi LE, Ingrosso D, Cesaro G, Cimmino A, D'Anto M, Capasso R, et al. Hyperhomocysteinemia and the MTHFR C677T polymorphism promote steatosis and fibrosis in chronic hepatitis C patients. *Hepatology.* 2005;41(5):995-1003.
71. Buendia MA. Genetics of hepatocellular carcinoma. *Semin Cancer Biol.* 2000;10(3):185-200.

72. Laurent-Puig P, Legoix P, Bluteau O, Belghiti J, Franco D, Binot F et al. Genetic alterations associated with hepatocellular carcinomas define distinct pathways of hepatocarcinogenesis. *Gastroenterology* 2001;120(7):1763-73.
73. Staib F, Hussain SP, Hofseth LJ, Wang XW, Harris CC. TP53 and liver carcinogenesis. *Hum Mutat.* 2003;21(3):201-16.
74. Wong IH, Lo YM, Yeo W, Lau WY, Johnson PJ. Frequent p15 promoter methylation in tumor and peripheral blood from hepatocellular carcinoma patients. *Clin Cancer Res.* 2000;6(9):3516-21.
75. Wong IH, Lo YM, Zhang J, Liew CT, Ng MH, Wong N, et al. Detection of aberrant p16 methylation in the plasma and serum of liver cancer patients. *Cancer Res.* 1999;59(1):71-3.
76. Shen L, Fang J, Qiu D, Zhang T, Yang J, Chen S, Xiao S. Correlation between DNA methylation and pathological changes in human hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology.* 1998;45(23):1753-9.
77. James SJ, Pogribny IP, Pogribna M, Miller BJ, Jernigan S, Melnyk S. Mechanisms of DNA damage, DNA hypomethylation, and tumor progression in the folate/methyl-deficient rat model of hepatocarcinogenesis. *J Nutr.* 2003;133(11 Suppl 1):3740S-3747S.
78. Poirier LA. The effects of diet, genetics and chemicals on toxicity and aberrant DNA methylation: an introduction. *J Nutr.* 2002;132(8 Suppl):2336S-2339S.
79. Chandar N, Lombardi B. Liver cell proliferation and incidence of hepatocellular carcinomas in rats fed consecutively a choline-devoid and a choline-supplemented diet. *Carcinogenesis.* 1988 Feb;9(2):259-63.
80. Saffroy R, Pham P, Chiappini F, Gross-Goupil M, Castera L, Azoulay D, et al. The MTHFR 677C > T polymorphism is associated with an increased risk of hepatocellular carcinoma in patients with alcoholic cirrhosis. *Carcinogenesis.* 2004;25(8):1443-8.



VU

NANCY, le **20 juin 2005**

Le Président de Thèse

Professeur J.P. BRONOWICKI

NANCY, le **20 septembre 2005**

Le Doyen de la Faculté de Médecine

Professeur P. NETTER

AUTORISE À SOUTENIR ET À IMPRIMER LA THÈSE

NANCY, le **26 septembre 2005**

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ DE NANCY 1

Professeur J.P. FINANCE



RESUME

La métyl-tétrahydrofolate réductase est une enzyme clé du métabolisme des folates. Elle intervient dans la synthèse des nucléotides et indirectement dans la méthylation de l'ADN. L'implication du polymorphisme du gène de la MTHFR a été étudiée dans le cancer du colon. La mutation 677TT a un rôle protecteur dans cette pathologie, mais ce bénéfice disparaît en cas de carence en folates ou de consommation excessive d'alcool. Le but de cette étude est de rechercher un lien entre les déterminants nutritionnels (vitamine B9 et B12), les polymorphismes 677 et 1298 du gène de la MTHFR et le risque de CHC chez des patients cirrhotiques. 185 patients cirrhotiques ont été inclus dont 122 présentaient un hépatocarcinome, 79 développés sur une cirrhose éthylique et 43 sur une cirrhose virale. Le génotype 677CC était moins fréquent pour les patients avec un CHC sur une cirrhose d'étiologie éthylique comparés à l'étiologie virale ($p=0.008$) et aux témoins ($p=0.06$). Par contre le génotype 677CC semblait plus fréquent parmi les patients avec un CHC sur une cirrhose virale comparés aux témoins ($p=0.07$). Il n'y avait aucune corrélation entre le taux de vitamine B9, B12, d'homocystéine et les mutations recherchées. Ce résultat suggère que la MTHFR n'est pas impliquée dans la carcinogenèse hépatique.

TITRE EN ANGLAIS : Role of the nutritional and genetic determinant of the folate metabolism in hepatic carcinogenesis

THESE : MEDECINE SPECIALISE
HEPATO GASTRO-ENTEROLOGIE
OCTOBRE 2005-10-03

MOTS CLEFS : Carcinogenèse hépatique
MTHFR
Métabolisme des folates

ADRESSE DE L'UNITE : Faculté de médecine de Nancy
9, Avenue de la forêt de Haye
54500 Vandoeuvre Les Nancy