

LISTE DES ABREVIATIONS

ANG2 : Angiopoietin 2

ASRM: Age-Standardised Mortality Rate

ATM: Ataxia Telangiectasia Mutated

bHLH: basic-Helix-Loop-Helix

CA: Carbonic Anhydrase

CDB : Cassures Double-Brin

CDK : Cycline-Dependant Kinase

Chk : Check-point kinase

CIC: Cancer Invasif du Col utérin

CIN: Cervical Intraepithelial Neoplasia

CIRC : Centre International de Recherche sur le Cancer

CKI : Cyclin-dependent Kinase Inhibitor

CMH : Complexe Majeur D'histocompatibilité

CSB : Cassures Simple-Brin

CSS : Cause-Spécifique de Survie

C-TAD : C terminal Transactivation Domain

FCU : Frottis Cervico-Utérin

GLUT: Glucose Transporter

HDL: High Density Lipoprotein

HIF: Hypoxia Inductible Factor

HK2: Hexokinase 2

HPV: Human Papilloma Virus

HR-HPV: High-Risk Human Papilloma Virus

HSIL: High grade Superficial Intra-epithelial Lesion

IL8: Interleukin 8

IST : Infection Sexuellement Transmissible

LCR: Long Control Region

LSIL: Low grade Squamous Intraepithelial Lesion

M: mitose

MFS: Metastasis-Free Survival

MMP2: Matrix Metallopeptidase 2

N-TAD: N terminal Transactivation Domain

ORF: Open Reading Frame

OS: Overall Survival

Phase G1: phase de croissance cellulaire

Phase G2 : phase de préparation de la mitose

Phase S : phase de réplication

RFS: Recurrence-Free Survival

RLO : Radicaux Libres Oxygénés

RT-PCR : Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction

TEL : Transfert d'Energie Linéique

TFIIC: Transcription factor II Human

TGF: Transforming Growth Factor

UV: Ultra-Violet

VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor

VPH : Virus du Papillome Humain

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Taux incidence selon l'âge	5
Figure 2: Taux d'incidence et de mortalité du cancer du col de l'utérus Europe (standardisation sur la population mondiale)	6
Figure 3: Taux de mortalité du cancer de col utérin	6
Figure 4: Estimation des taux d'incidence et de mortalité standardisés selon l'âge pour 100 000 habitants	8
Figure 5: Anatomie du système reproducteur féminin	9
Figure 6: Représentation schématique de l'appareil génital féminin et structure du col de l'utérus	11
Figure 7: Organisation du génome d'un papillomavirus humain (génotype 16)	13
Figure 8: Histoire naturelle de l'infection à HPV	16
Figure 9: Quantification du nombre de copies du génome viral et de transcrits viraux précoces dans des lignées cellulaires HR-HPV positives exposées à la fumée	19
Figure 10: Modèle HR-HPV et le tabagisme dans la progression du cancer du col utérin	20
Figure 11: Cellules HeLa traitées au Cortisol et Expression p53, miR-145 et E6	22
Figure 12: Représentation schématique de la chimiorésistance induite par les glucocorticoïdes.....	23
Figure 13: L'effet Compton	28
Figure 14: L'effet photoélectrique	29
Figure 15: La production de paires	30
Figure 16a: Prédominance des différents effets physiques en fonction du type d'absorbeur	31

Figure 16 b: Probabilité d'avoir chaque effet physique en fonction de l'énergie du faisceau incident. PE : photoélectrique ; TR Thomson-Rayleigh	32
Figure 17: Représentation des effets physico-chimiques direct et indirect.....	33
Figure 18: Radiolyse de l'eau	34
Figure 19: Trace d'un rayonnement à faible TEL dans le noyau cellulaire	36
Figure 20: Réparation des mésappariements de bases	39
Figure 21: Réparation par excision de base	40
Figure 22: Réparation par excision de nucléotide	42
Figure 23: Réparation des Cassures Doubles Brins	44
Figure 24: Schéma simplifié du cycle cellulaire et de sa régulation.....	45
Figure 25: Régulation de HIF-1 α dépendante de l'hypoxie	52
Figure 26 : Taux de survie des cellules en fonction de la dose d'irradiation	56
Figure 27 : Courbe de survie globale (OS) et de cause-spécifique de survie (CSS) des patientes atteintes du carcinome épidermoïde du col utérin de stade IIIB.	57
Figure 28: Les courbes de survie des patients atteints de carcinome épidermoïde du col utérin stade IIIB selon l'expression de HIF-1	59

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Probabilités moyennes de régression, de persistance et d'évolution des CIN	17
Tableau II: Vaccination contre les papillomavirus	25
Tableau III : Les différents complexes cycline/CDK présents selon la phase du cycle cellulaire	46

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : CANCERS DU COL DE L'UTERUS	4
I. Généralités sur le cancer du col de l'utérus	4
I.1 Epidémiologie des cancers du col de l'utérus.....	4
I.2 Rappel anatomique	8
I.3 Biologie des cancers du col de l'utérus	12
I.3.1 HPV	12
I.3.2 La prévention	23
CHAPITRE II : EFFETS PHYSIQUES DES RADIATIONS IONISANTES.....	26
II.1 L'étape physique	26
II.1.1 Interaction électrons-matière	26
II.1.2 Interactions photons-matière	27
II.2 Effets physico-chimiques	32
II.2.1 Effet physico-chimique direct	33
II.2.2 Effet physico-chimique indirect	33
CHAPITRE III : EFFETS BIOLOGIQUES DES RADIATIONS IONISANTES.	35
III.1 Effets direct et indirect du rayonnement gamma du ^{60}Co	35
III.2 Effets sur les molécules biologiques	37
III.2.1 Effets sur ADN	37
III.2.2 Systèmes de Réparations des lésions radio-induites	39
III.3. Arrêts du cycle cellulaire radio-induits	45
III. 3.1. Généralités et régulation du cycle cellulaire	45
III. 3.2. Arrêts du cycle cellulaire après irradiation	47
CHAPITRE IV : MARQUEURS DE RADIRESISTANCE	49
IV.1 Marqueur hypoxique : HIF1 α (Hypoxia Inducible Factor 1 α)	49
IV.1.1 Structure	50
IV.1.2 Expression et régulation de HIF-1	51

IV.1.3 Mécanisme d'action	53
IV.1.4 Effets biologiques	55
IV. 2 Marqueur angiogénique: VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor)	61
IV.2.1 Structure	61
IV.2.2 Expression et régulation.....	61
IV.2.3 Mécanisme d'action	62
IV.2.4Effets biologiques	62
IV.3 Marqueurs métaboliques	64
IV.3.1 AC IX (Anhydrase carbonique IX).....	64
IV.3.1.1 Structure	64
IV.3.1.2 Expression et régulation.....	64
IV.3.1.3 Mécanisme d'action	65
IV.3.1.4 Effets biologiques	65
IV.3.2 Glucose transport 1 : GLUT-1	67
IV.3.2.1 Expression et régulation.....	67
IV.3.2.2 Mécanisme d'action	68
VI.3.2.3 Effets biologiques	70
CONCLUSION.....	71
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	71

INTRODUCTION

Le cancer du col de l'utérus représente un problème majeur de santé publique dans le monde entier, mais surtout dans les pays en voie de développement. Dans le monde, environ 500 000 nouveaux cas de cancer du col utérin sont diagnostiqués et 275.000 décès par cancer du col utérin se produisent chaque année, ce qui en fait le deuxième cancer féminin le plus fréquent [1].

L'infection persistante par un HPV à haut risque oncogène est considérée comme la cause principale du cancer du col utérin.

Le traitement standard pour les stades avancés de la maladie est la chirurgie suivie de la radiothérapie associée ou non à la chimiothérapie.

L'échec du traitement est le plus souvent attribué à l'apparition d'une radiorésistance, qui est un problème clinique majeur dans la gestion du cancer du col de l'utérus.

Cette radiorésistance est, pour sa plus grande part, liée à une inhibition aberrante de la mort apoptotique des cellules tumorales par des facteurs intrinsèques et extrinsèques comme l'hypoxie tumorale [2].

Ce dernier induit un grand nombre de protéines ou de voies de signalisation qui contribuent à la prolifération tumorale par blocage de l'apoptose par des protéines telles que le VEGF, l'anhydrase carbonique et le GLUT-1, etc.

Un biomarqueur de la radiosensibilité intrinsèque serait extrêmement utile dans la caractérisation individuelle des malades. Cela faciliterait la prise de décision entre les options de traitement radicales, tout en évitant la toxicité de la radiothérapie adjuvante ou néo-adjuvante chez celles susceptibles d'en bénéficier.

Le but de notre travail est de mettre en évidence les principaux marqueurs impliqués dans la radiorésistance. Et surtout, de mettre l'accent sur l'impact de leur surexpression dans le cas du traitement du cancer du col de l'utérus par radiothérapie.

Le travail est divisé en deux parties.

La première partie parle du cancer du col de l'utérus et est composée de deux chapitres :

- Le chapitre I aborde les généralités,
- Le chapitre II est consacré aux effets physiques des radiations ionisantes.

La deuxième partie, réservée aux marqueurs de radiorésistance est subdivisée en deux chapitres:

- Le chapitre III parle des effets biologiques des radiations ionisantes,
- Le chapitre IV est consacré aux marqueurs de radiorésistance.

CHAPITRE I : CANCERS DU COL DE L'UTERUS

I. Généralités sur le cancer du col de l'utérus

I.1 Epidémiologie des cancers du col de l'utérus

Dans le monde, environ 500 000 nouveaux cas de cancer du col utérin sont diagnostiqués et 275.000 décès par cancer du col utérin se produisent chaque année, ce qui en fait le deuxième cancer féminin le plus fréquent [1].

Le cancer du col de l'utérus est très répandu menaçant la vie de nombreuses femmes dans le monde, avec des taux d'incidence allant de 4,8 pour 100.000 femmes par an dans le Moyen-Orient à 44,3 pour 100.000 en Afrique de l'Est [3].

Il existe une grande inégalité de répartition de l'incidence selon les pays, au bénéfice des pays industrialisés, 83 % des nouveaux cas et des décès de cancers du col surviennent dans les pays en voie de développement. Le taux d'incidence standardisé (sur la structure d'âge de la population mondiale) varie de 2,1 (en Égypte) à 47,3 (au Zimbabwe) cancers invasifs du col utérin pour 100 000 femmes selon les pays [4].

Le risque d'être atteint d'un cancer du col utérin au cours de la vie est estimé à 4 % dans les pays en voie de développement et inférieur à 1 % dans les pays industrialisés [5].

Cependant, ces taux d'incidence et de mortalité sont susceptibles d'être sous-estimée dans les pays en voie de développement. L'Inde, le deuxième pays le plus peuplé du monde, représente 27% du total des décès par cancer du col utérin [6].

En Chine, en raison de l'absence d'un programme de dépistage du cancer du col utérin organisée à l'échelle nationale, le cancer du col utérin demeure un problème de santé publique important. Selon l'Office National pour la Prévention et le Contrôle du Cancer, en 2005, il y avait environ 58.000 nouveaux cas de cancer du col utérin et environ 20 000 décès [7].

Le taux d'incidence spécifique selon l'âge a enregistré deux pics, le premier chez les femmes âgées de 35-50 ans et le deuxième chez les femmes âgées de 80-84 ans (figure 1) [8].

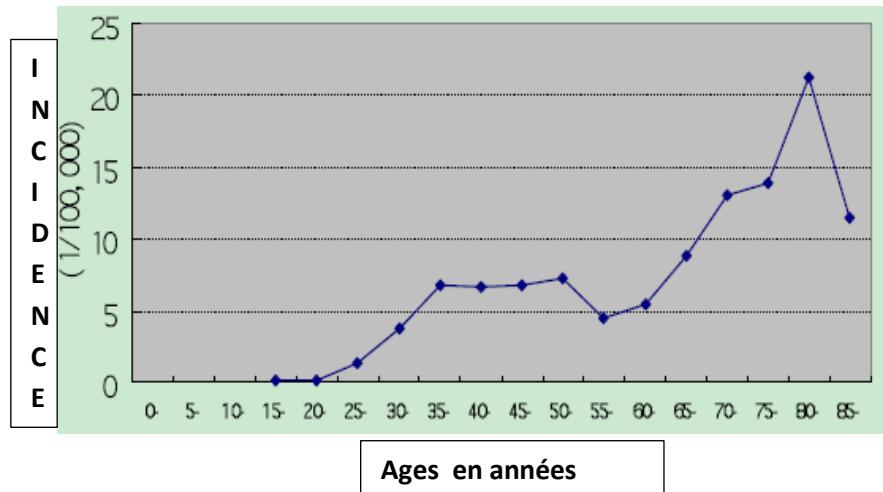


Figure 1: Taux incidence selon l'âge [9].

En Europe, en 2004, il a été estimé à près de 30 400 le nombre de nouveaux cas de cancer du col de l'utérus (9^{ième} cancer chez la femme dans l'Union européenne) et à près de 13 500 le nombre de décès dus à ce cancer [10].

La situation est hétérogène selon les pays. Le taux d'incidence standardisé (monde) estimé en 2004 varie de 4,7 (en Finlande) à 18,6 (en Slovénie) cancers invasifs du col utérin pour 100 000 femmes selon les pays [11].

En France, le cancer du col de l'utérus est le dixième cancer chez la femme par sa fréquence, avec 3 068 cas estimés pour l'année 2005, et le 9^{ième} lorsque l'on considère le taux d'incidence standardisé (monde) qui est, pour l'année 2005, estimé à 7,1 pour 100 000 femmes [12].

Le taux d'incidence du cancer du col de l'utérus n'a cessé de diminuer entre 1980 et 2005 avec un taux annuel moyen de décroissance de 2,9 %. Dans le même temps, le taux de mortalité a diminué en moyenne de 4,0 % par an (figure 2) [13].

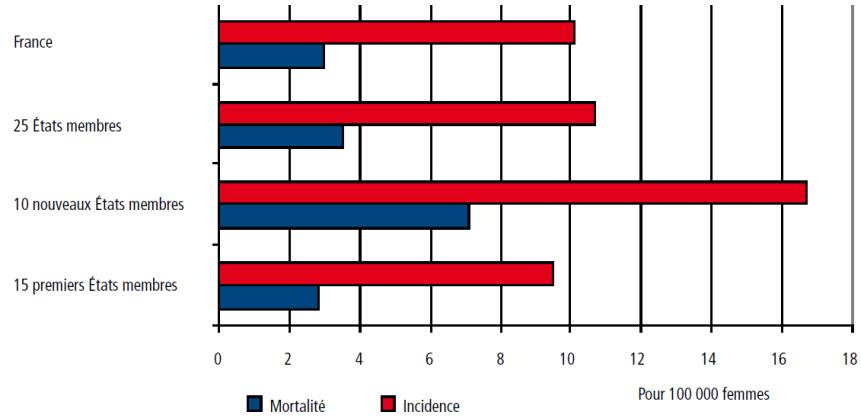


Figure 2: Taux d'incidence et de mortalité du cancer du col de l'utérus Europe (standardisation sur la population mondiale) [13].

Aux Etats Unis, les décès dus au cancer du col utérin ont diminué au cours du dernier siècle. Les taux de mortalité par cancer ajustés selon l'âge pour les femmes entre 1930-2000, sont présentés sur la figure 3 [14]. On observe une nette régression de ce cancer grâce à une bonne politique de prévention, de dépistage et de surveillance.

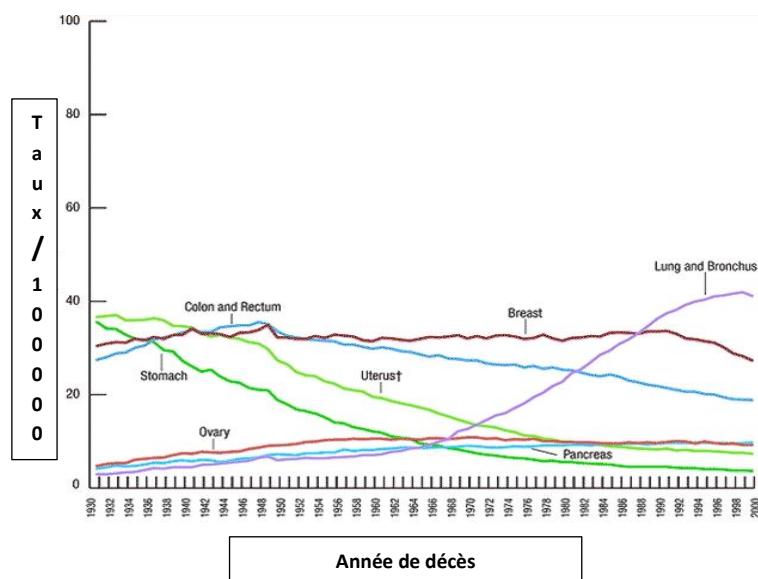


Figure 3: Taux de mortalité du cancer de col utérin [14].

En Afrique sub-saharienne, le cancer invasif du col utérin (CIC) est le plus fréquent des cancers chez la femme avec plus de 75 000 nouveaux cas et plus de 50 000 décès par ans. L'incidence standardisée sur l'âge des CIC en Afrique sub-saharienne est l'une des plus élevée au monde variant de 56,3 cas/105 personnes année (PA) en Guinée à 15,6 cas/105 PA au Niger selon les données récentes publiées par le centre international de recherche sur le cancer (CIRC)[6].

Au Sénégal, il n'existe pas de registre de cancer du col utérin. Cependant une étude épidémiologique effectuée à l'institut Curie de Dakar [15] a montré que la prévalence du cancer du col de l'utérus était de 240 cas en 2001.

En plus l'étude de Ferlay et al. en 2008 a montré que le Sénégal est caractérisé par une incidence et un taux de mortalité de cancer du col de l'utérus très élevé et occupe le 17^{ième} rang au niveau du continent Africain.

En résumé le cancer du col de l'utérus est le cancer prédominant chez les femmes en Afrique de l'Est, en Asie du Sud-Est et en Mélanésie, alors qu'elle est la cause la plus fréquente de décès par cancer en Afrique de l'Est, au Moyen-Orient, en Afrique de l'Ouest; en Amérique centrale; en Asie du Sud-Central et en Mélanésie.

Sur la figure 4 sont indiqués les taux d'incidence et de mortalité normalisés par continent et classés en fonction du taux de mortalité normalisé selon l'âge ASRM (Age-Standardised Rate Mortality) [16].

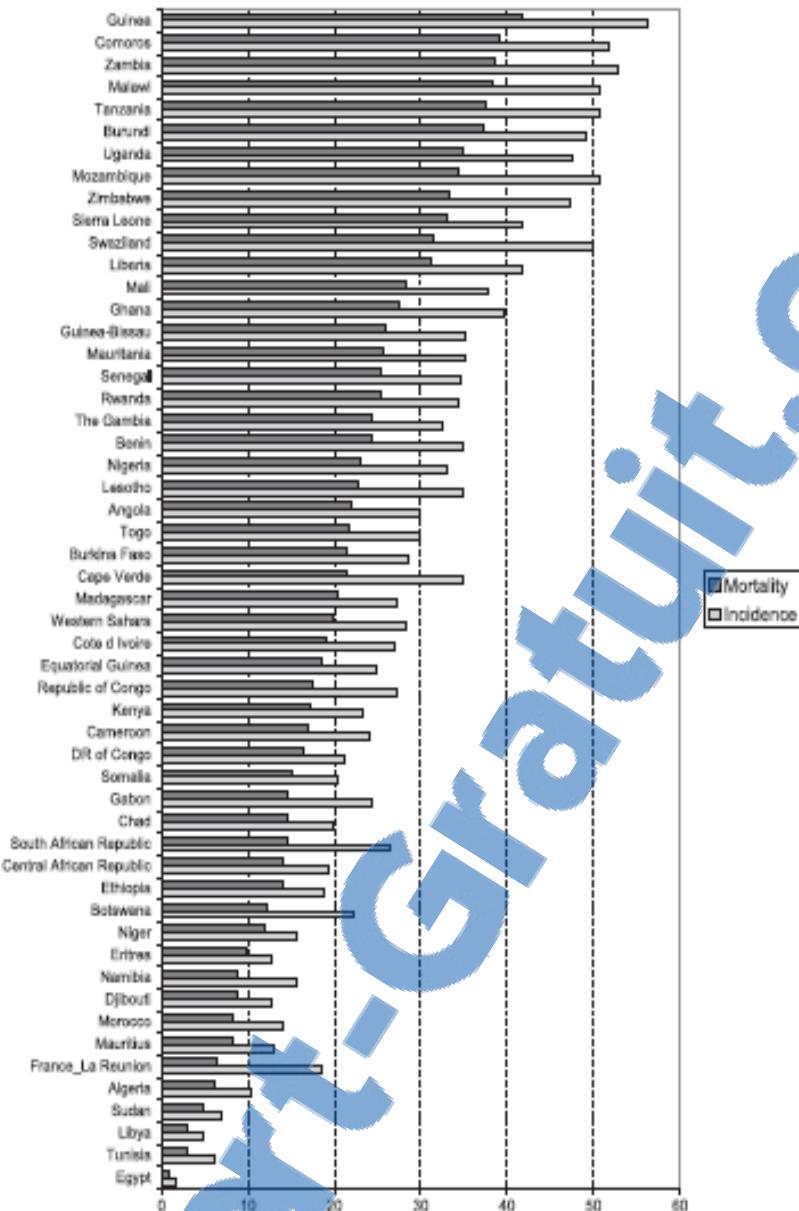


Figure 4: Estimation des taux d'incidence et de mortalité standardisés selon l'âge pour 100 000 habitants [16].

I.2 Rappel anatomique

L'utérus est un organe creux faisant partie du système génital féminin interne. Il se compose d'un corps et d'un col et se situe dans le petit bassin, entre la vessie et le rectum. Sa taille et sa forme sont semblables à celles d'une petite poire. Le corps de l'utérus est constitué pour l'essentiel du myomètre, une épaisse couche de muscle, elle-même tapissée de tissu conjonctif, la séreuse.

L'intérieur du corps de l'utérus, la cavité utérine, est recouvert d'une muqueuse qui contient de nombreuses glandes et que l'on appelle l'endomètre.

Les trompes de Fallope s'abouchent de part et d'autre de la zone supérieure du corps de l'utérus. La partie inférieure de l'utérus se compose du col de l'utérus (cervix) et du canal du col de l'utérus (canal cervical).

Le col et la cavité utérine sont revêtus d'une muqueuse différente. En effet, celle du col de l'utérus secrète un mucus plus visqueux, qui ferme le canal cervical. Le col de l'utérus s'ouvre sur le vagin. Cette portion intravaginale visible porte aussi le nom de «museau de tanche».

La figure 5 représente l'anatomie du système reproducteur féminin.

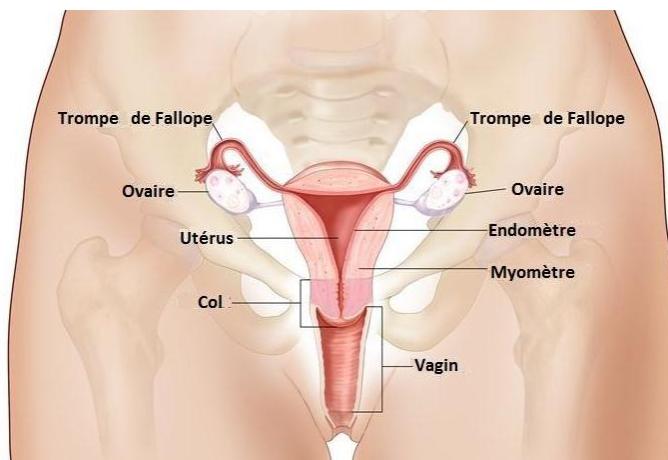


Figure 5: Anatomie du système reproducteur féminin [17].

Le col utérin est la partie la plus inférieure de l'utérus et met en communication le corps de l'utérus avec le vagin et l'extérieur. De forme conique, il mesure 2 à 3 cm de long et présente un orifice à bord régulier. Le col utérin est composé de deux parties : l'exocol et l'endocol.

L'exocol est la partie visible du col et s'étend jusqu'à la partie haute du vagin. Il est recouvert d'un épithélium malpighien non kératinisé composé de trois couches cellulaires: la couche profonde faite de cellules cubiques prolifératives dites cellules basales, la couche moyenne faite de cellules matures

polyédriques riche en glycogène et la couche superficielle faites de cellules aplatis et vieillissantes, prêtes à desquamer. L'épithélium est séparé du stroma par une lame basale nécessaire au maintien de la structure. En sa partie centrale, l'exocol contient l'orifice externe [18].

L'**endocol** est la partie qui relie l'orifice externe à l'isthme utérin. Il est recouvert d'un épithélium glandulaire simple, cylindrique, formé d'une seule couche cellulaire. Cet épithélium s'invagine dans le stroma sous-jacent formant ainsi des glandes endocervicales. Des cellules ciliées et des cellules muco-sécrétantes (produisant la glaire cervicale) sont retrouvées au sein de cet épithélium (figure 6) [18].

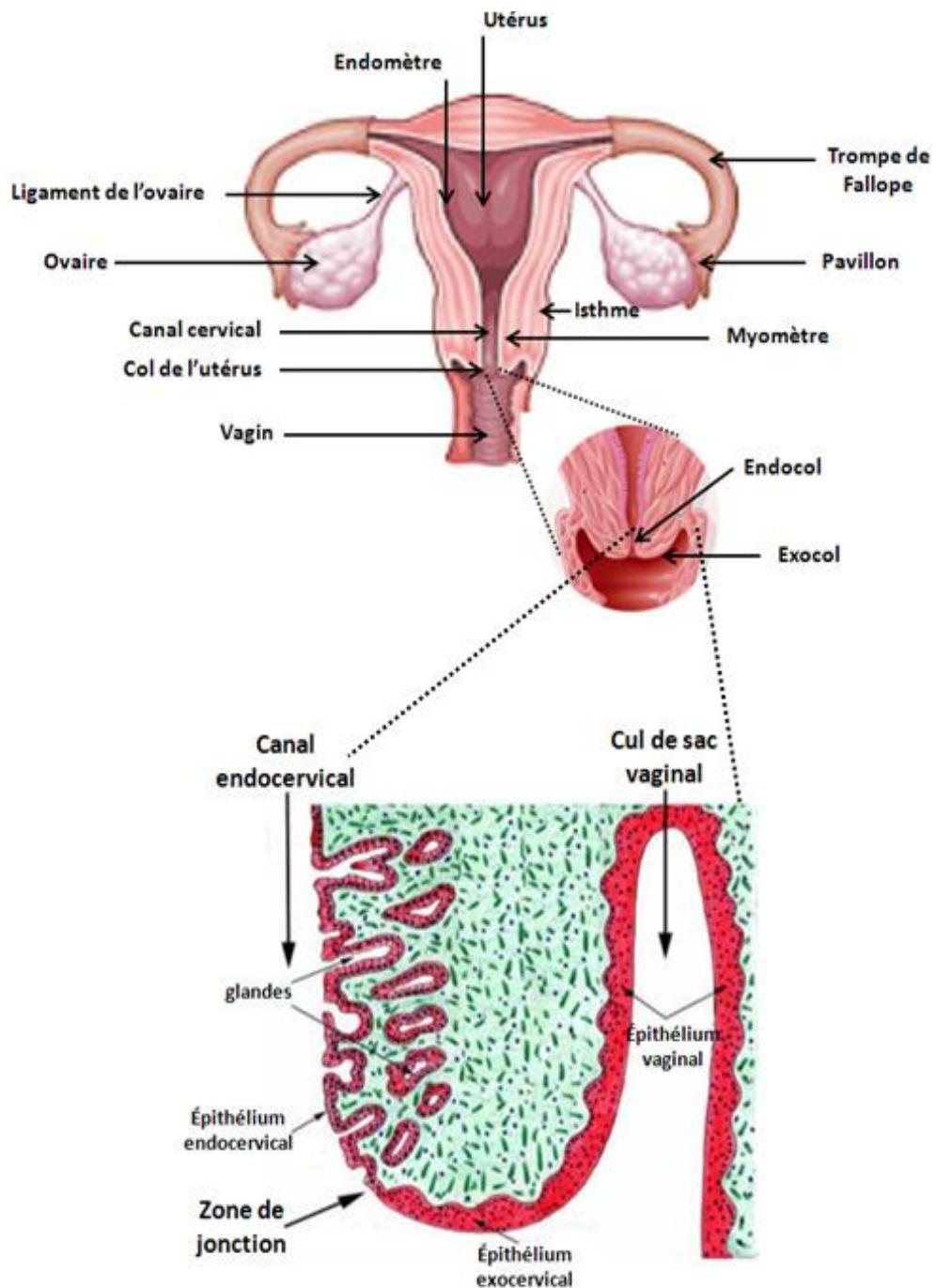


Figure 6: Représentation schématique de l'appareil génital féminin et structure du col de l'utérus [19].

I.3 Biologie des cancers du col de l'utérus

I.3.1 HPV

Les papillomavirus humains ou HPV (Human Papilloma Virus) sont des virus nus (sans enveloppe) de petite taille (45 à 55 nm de diamètre) appartenant à la famille des Papovaviridae. Leur génome est constitué d'ADN double brin de 7 900 paires de bases environ, dont les séquences codant les protéines virales sont regroupées sur un seul brin. L'organisation génomique distingue trois régions:

- ❖ la région ORF L (pour *late*) (L1-L2), ou zones de lecture tardive, qui codent pour les polypeptides de structure des virions (capside),
- ❖ la région ORF E (*open reading frames early*) (E1- E2-E4-E5-E6-E7), ou zones de lecture précoce, qui contiennent l'information de la réPLICATION virale et de la transformation néoplasique,
- ❖ et la dernière région, non codante, appelée LCR (Long Control Region) contient les promoteurs des gènes précoces et des séquences de régulation de la réPLICATION et de la transcription.

La figure 7 illustre l'organisation du génome du HPV 16 qui présente huit phases ouvertes de lecture (E1, E2, E4, E5, E6, E7, L1, L2). Le nombre de phases ouvertes de lecture varie d'un génotype à l'autre [5].

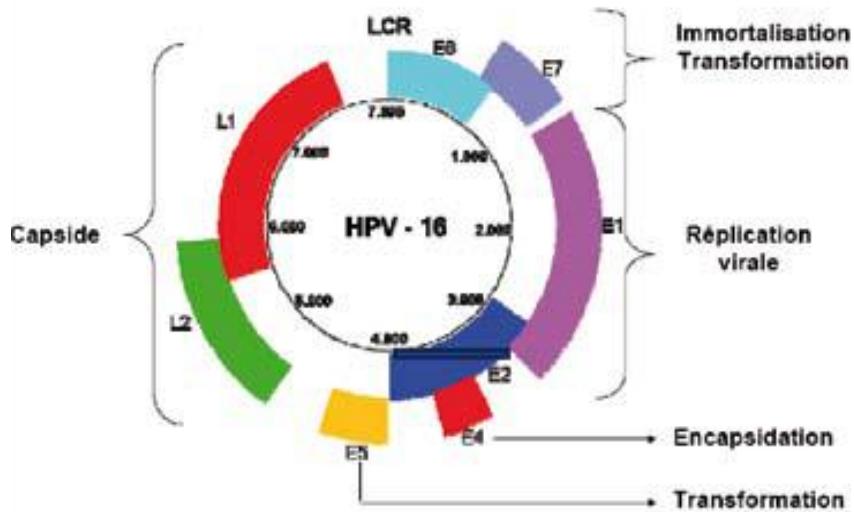


Figure 7: Organisation du génome d'un papillomavirus humain (génotype 16) [20].

À l'heure actuelle, 118 génotypes de papillomavirus ont été totalement séquencés sur un peu plus de 200 identifiés, parmi lesquels 96 papillomavirus humains (HPV 1 à HPV 96) et 22 papillomavirus animaux [21]. Tous les papillomavirus se distinguent en fonction de leur tropisme (cutané ou muqueux), de leurs propriétés biologiques et de leur potentiel oncogénique (bas risque ou haut risque). Ils infectent les cellules germinales de la couche basale des épithéliums malpighiens [22].

L'infection persistante par un HPV à haut risque oncogène est considérée comme la cause principale du cancer du col utérin [23]. Ce virus est transmis préférentiellement par contact sexuel, souvent lors des premiers rapports.

La prévalence de l'infection à HPV à haut risque oncogène est très dépendante de l'âge : élevée avant 30 ans, elle diminue ensuite progressivement avec l'âge avec parfois un pic vers 45-49 ans [24].

Environ 45 génotypes de HPV peuvent infecter la sphère anogénitale; seuls 18 sont considérés à haut risque oncogène pour le col utérin dont 12 de façon bien établie.

Parmi ceux-ci, les génotypes (**16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 et 68**) sont impliqués dans presque 90 % des cancers du col utérin [25].

Les génotypes 16 et 18 sont responsables de 70,7 % des cancers du col utérin [26], ce qui explique qu'ils aient été choisis comme cible pour les vaccins HPV.

L'infection persistante à HPV oncogène est un facteur nécessaire mais non suffisant: moins de 5 % des femmes infectées par HPV 16 développeront un cancer du col utérin au cours de leur vie [27].

Dans la plupart des cas, en particulier chez la femme de moins de 30 ans, les infections à HPV sont transitoires et s'accompagnent de la disparition des anomalies cytologiques et histologiques qu'elles avaient pu induire. En effet, la clairance virale des HPV est assez rapide et fréquente, en moyenne 70 % des infections disparaissent en 12 mois et 90 % en 24 mois [28].

I.3.2 Carcinogénèse des papillomavirus humains

Les papillomavirus humains (HPV) provoquent une hyperplasie épithéliale allant de papillomes bénins (verrues) à des lésions précancéreuses qui peuvent évoluer vers des carcinomes épidermoïdes [29].

Il existe plus de 100 types différents de HPV, environ 30 qui infectent spécifiquement les voies muqueuse et anogénitale.

Ces HPVs sont classés à faible risque ou à haut risque, selon le pronostic clinique des lésions qu'ils causent. HPVs à faible risque, comme le type de HPV 6 (HPV-6) et le 11 (HPV-11), causent des condylomes acuminés (verrues génitales), tandis que les HPVs à haut risque, y compris les HPV-16 et HPV-18, sont associés aux lésions épidermoïdes intraépithéliales qui peuvent évoluer vers des carcinomes du col utérin [30].

L'intégration du génome du HPV dans un chromosome de la cellule hôte est un événement fréquent au cours de la progression maligne et se traduit par l'expression dérégulée des gènes viraux E6 et E7.

Les études de biologie virale ont permis de comprendre les circonstances et les différences fondamentales sur le risque transformant des gènes E6-E7 des HPV à risque élevé qui les différencient des ORF E6-E7 des HPV à bas risque.

Les oncoprotéines des ORF E6-E7 des HPV 16 et 18 se fixent spécifiquement à des protéines cellulaires codées par des gènes suppresseurs du cancer. En bref, l'oncoprotéine de l'ORF E7 des HPV 16 fixe le produit du gène de susceptibilité au rétinoblastome (pRb) et l'oncoprotéine des ORF E6 des HPV 16 ou 18 fixe la protéine p53 [31].

En effet, la fonction première de la protéine p53 est d'agir en tant que facteur de transcription. Elle fonctionne en se fixant de manière spécifique sur les régions régulatrices de gènes dont elle contrôle l'expression pour préserver l'intégrité du génome en provoquant l'arrêt du cycle cellulaire, la réparation de l'ADN lors des dommages, ou l'apoptose si la réparation ne peut être atteint [32].

La forme hypophosphorylée de pRb se lie à des facteurs de transcription de la famille E2F et contrôle la transition du cycle cellulaire G1 à S. Ainsi, la déstabilisation de la p53 et de la pRb hypophosphorylée par les deux oncoprotéines virales favorise le cycle cellulaire excessif et l'accumulation de mutations, conduisant à une instabilité du génome cellulaire [33].

Les tumeurs malignes du col proviennent principalement de la zone de transformation du col utérin, et les métastases peuvent impliquer les tissus environnants, y compris du vagin, du bassin ou des ganglions lymphatiques avoisinants [34].

Les lésions précancéreuses correspondent à des modifications des cellules de l'épithélium du col de l'utérus, autrement dit du tissu qui le recouvre. Ces lésions ont la particularité de pouvoir évoluer vers un cancer.

Les lésions les plus fréquentes affectent l'épithélium malpighien du col de l'utérus et sont situées la plupart du temps sur l'exocol. Elles sont appelées néoplasies cervicales intraépithéliales ou CIN. Ces lésions peuvent exister sous

des formes plus ou moins graves. Elles sont ainsi classées en trois grades selon le degré de désorganisation de l'épithélium par les cellules anormales:

- ❖ si les cellules anormales touchent le tiers de l'épithélium, on parle de CIN1,
- ❖ si elles affectent les deux tiers de l'épithélium, on parle de CIN2,
- ❖ si elles affectent toute l'épaisseur de l'épithélium, on parle de CIN3.

La classification la plus récente ne distingue que deux types de lésions:

- ❖ les lésions malpighiennes intraépithéliales de bas grade (LSIL) qui correspondent aux CIN1,
- ❖ les lésions malpighiennes intraépithéliales de haut grade (HSIL) qui correspondent aux CIN2 et CIN3.

Plus rarement, il arrive que les lésions affectent l'épithélium glandulaire du col de l'utérus. Elles correspondent principalement aux adénocarcinomes in situ.

Celles-ci font suite à la persistance de l'infection par un HPV oncogène à haut risque (figure 8).

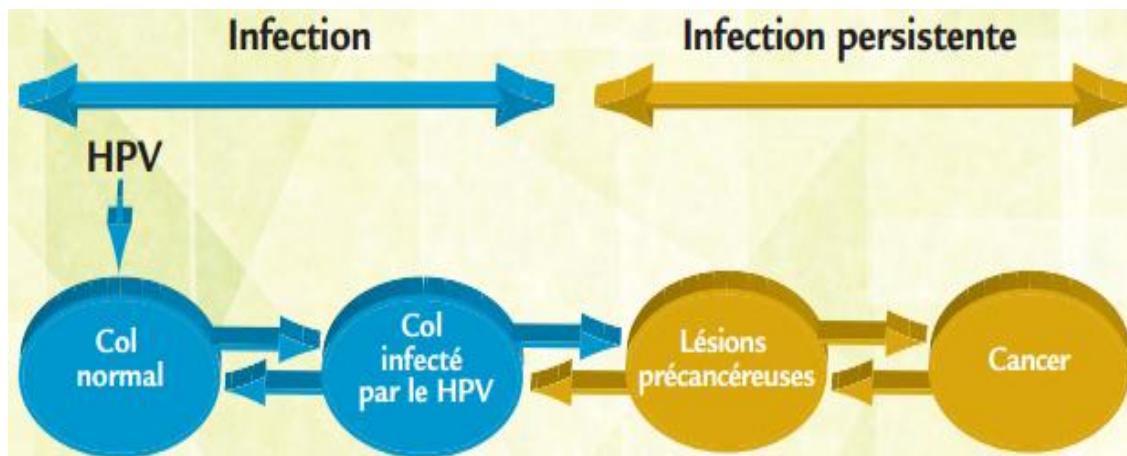


Figure 8: Histoire naturelle de l'infection à HPV [35].

Un cancer du col met en moyenne quinze à vingt ans à se développer après la persistance d'une infection HPV à haut risque [36].

L'apparition d'un cancer nécessite le passage par des lésions précancéreuses (CIN), laissant donc une fenêtre d'opportunité importante pour la prévention du cancer.

Quel que soit le grade des lésions précancéreuses, elles peuvent évoluer de différentes manières: elles peuvent disparaître spontanément, persister, progresser vers une lésion plus sévère ou vers un cancer. Plusieurs études se sont intéressées à la probabilité de chacune de ces évolutions. C'est le cas de l'étude d'Ostor réalisée en 1993 dont les résultats sont présentés dans le tableau I [37].

Tableau I: Probabilités moyennes de régression, de persistance et d'évolution des CIN [37].

Lésion	Régression	Persistance	Progression vers une CIN supérieure	Progression vers un cancer invasif
CIN1	57%	32%	11%	1%
CIN2	43%	35%	22%	5%

L'infection persistante à HPV oncogène est un facteur nécessaire mais non suffisant: moins de 5 % des femmes infectées par HPV 16 développeront un cancer du col utérin au cours de leur vie. Certains facteurs favorisent la persistance de l'infection ou sont des cofacteurs de la carcinogenèse [38]:

❖ Les facteurs environnementaux ou exogènes:

De nombreux facteurs exogènes ont été identifiés: l'utilisation au long cours (≥ 5 ans) de contraceptifs oraux, le tabagisme, l'existence d'autres IST (en particulier à *Herpès simplex virus* de type 2 ou à *Chlamydia trachomatis*), l'existence d'un déficit immunitaire acquis (infection à VIH, transplantation d'organes...) [39].

En effet, des études épidémiologiques ont montré un lien de causalité entre le tabagisme et le développement du cancer du col utérin [40].

Les constituants chimiques du tabac et de leurs métabolites notamment la nicotine, les dérivés de la nicotine, les carcinogènes 4-(méthyl-nitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone et d'autres composés chimiques sont présents dans le mucus cervical de fumeuses actives et passives [41].

Bien que beaucoup d'observations suggèrent le tabac comme cofacteur dans l'infection à HR-HPV, il joue un rôle dans la progression du cancer du col utérin. Cependant, il existe peu d'informations sur les mécanismes par lesquels les facteurs viraux, cellulaires et environnementaux peuvent coopérer dans la carcinogenèse.

Lanlan Wei et al. ont montré que l'exposition des cellules cervicales infectées par le VPH à des doses physiologiquement élevées de fumées de tabac augmentait considérablement la réPLICATION du génome viral et l'expression d'oncogènes, connus pour être essentiels dans la transformation cellulaire induite par VPH (figure 9) [42].

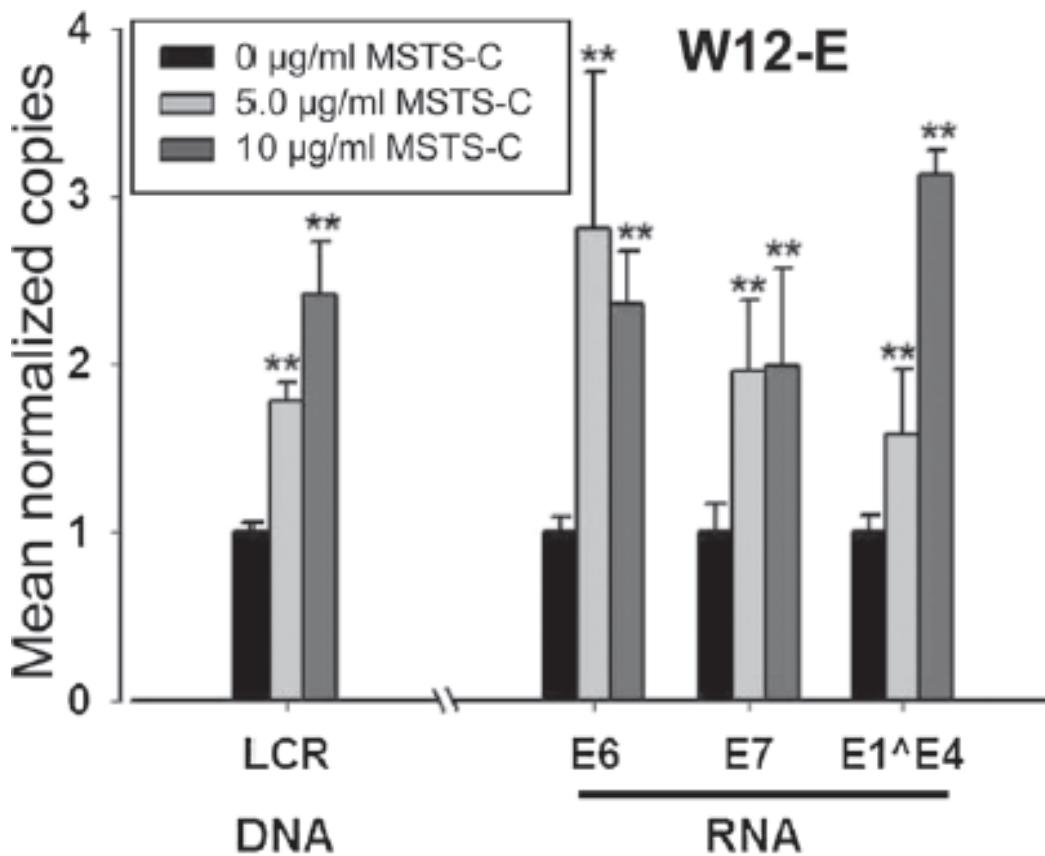


Figure 9: Quantification du nombre de copies du génome viral et de transcrits vitaux précoce dans des lignées cellulaires HR-HPV positives exposées à la fumée [42].

En résumé, l'oncoprotéine à son tour va neutraliser les effets protecteurs de la protéine suppresseur de tumeur (p53) et laisse les cellules infectées par le HPV à une susceptibilité accrue aux cassures double-brin de la molécule d'ADN induites par la fumée et des taux plus élevés de mutations accumulées (figure 10).

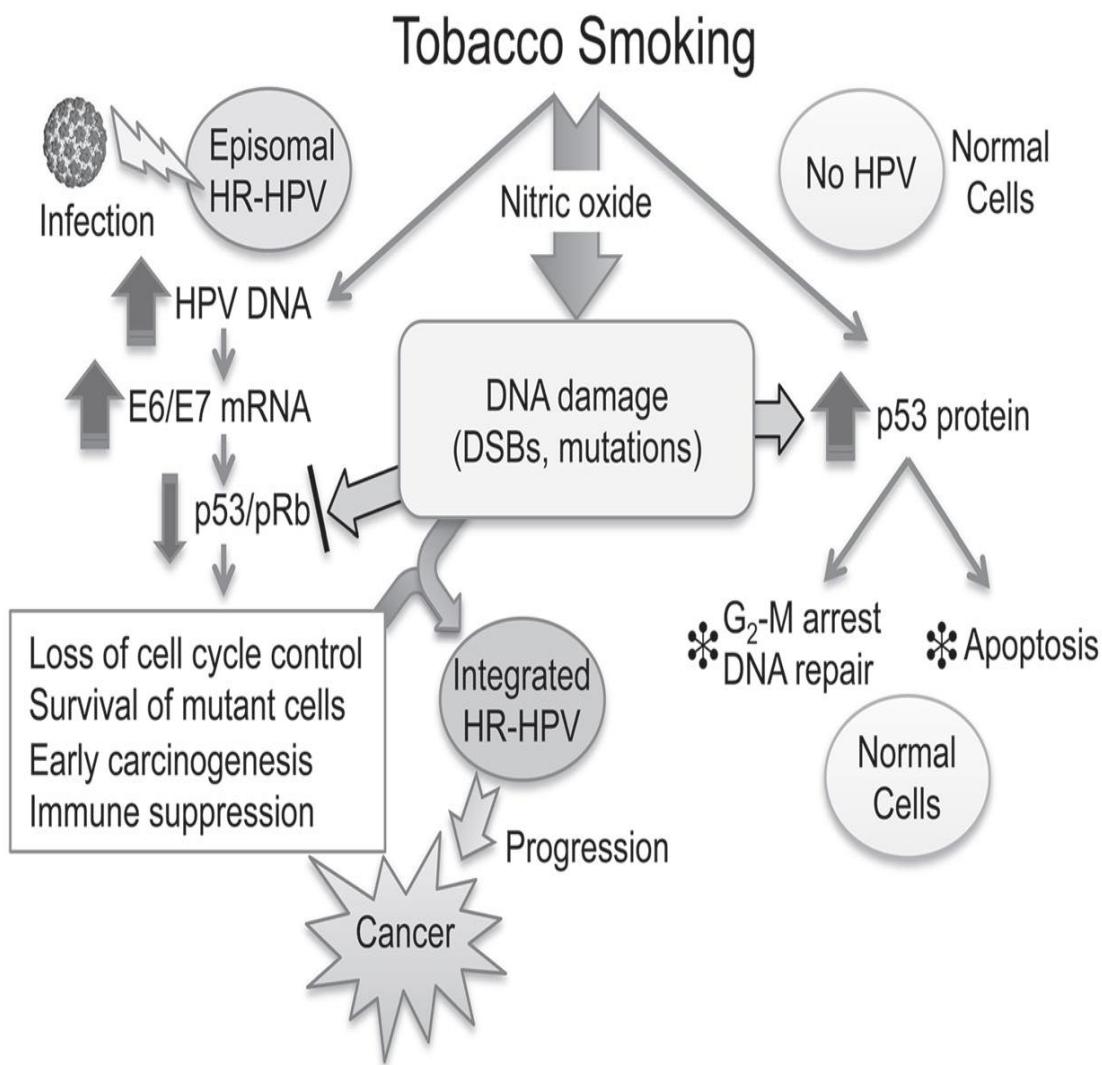


Figure 10: Modèle HR-HPV et le tabagisme dans la progression du cancer du col utérin [43].

❖ Les facteurs endogènes (propres à l'individu)

Les facteurs endogènes correspondent à certains facteurs génétiques en rapport notamment avec le groupe de gènes dans le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) humain qui code pour les protéines présentatrices d'antigène de surface, le système HLA (par exemple : expression de l'allèle HLA-DQB1*0301 seul ou combiné avec l'allèle HLA-DRB1*0401).

Certaines études soutiennent l'hypothèse, que la présence du syndrome métabolique (obésité, hyperglycémie, hypertriglycéridémie, hypertension, et un faible taux de HDL) non seulement augmente le risque de maladie cardiovasculaire [44], mais augmente aussi le risque de survenue de plusieurs maladies cancéreuses, telles que le cancer colorectal, le cancer du sein, le cancer du poumon, le cancer de la prostate et le cancer de la vessie [45].

Les résultats des dernières recherches suggèrent que les syndromes métaboliques constituent également des facteurs de risque de cancer du col utérin [46].

Certaines hormones endogènes sont également impliquées, de même que les capacités de réponse immunitaire propres à l'individu (déficits immunitaires constitutionnels).

Les glucocorticoïdes sont des neuromédiateurs endocrine réactifs au stress jouant un rôle important dans la progression maligne, en particulier dans les tumeurs solides. Ils stimulent la prolifération et la survie des cellules cancéreuses par activation du récepteur des glucocorticoïdes (GR), ou suppriment des gènes cibles, ou activent des virus oncogènes comme le VPH [47].

En effet, les glucocorticoïdes modulent l'expression de miR-145 p53 dépendante dans des cellules de cancer du col utérin HPV positif par induction des oncoprotéines E6.

Cet effet d'inhibiteur a été démontré par l'équipe Kamradt et al. à partir des cellules du cancer du col humain (HeLa). Les cellules HeLa ont été traitées avec

1 microgramme / ml de cortisol pendant 0, 3, 6 ou 9 heures et l'expression de miR-145, p53 et E6 est mesuré en RT-PCR ou par Western Blot par rapport aux cellules non traitées (figure 11) [48].

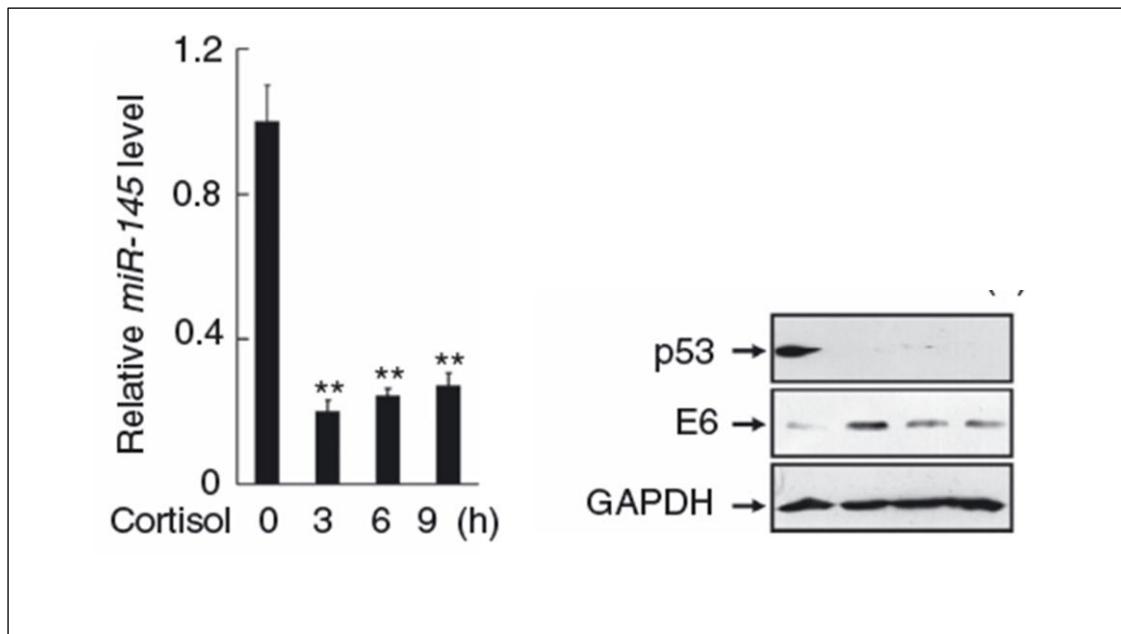


Figure 11: Cellules HeLa traitées au Cortisol et Expression p53, miR-145 et E6 [48].

Le cortisol, glucocorticoïde, induit l'expression de l'oncoprotéine HPV-E6, supprime l'activité de la p53 et diminue considérablement l'expression du miR-145 dans des cellules de cancer du col utérin.

Cette baisse de l'expression de miR-145 par le cortisol empêche l'apoptose induite par la chimiothérapie, alors qu'une surexpression de miR-145 améliore la sensibilité à la mitomycine et par conséquent inverse la chimiorésistance induite par les glucocorticoïdes (figure 12) [49].

Le miR-145 augmente les effets de la p53 en supprimant l'activité des inhibiteurs de la p53, inhibe à la fois la motilité et l'invasion des cellules cancéreuses dans le cancer du col utérin. Ce qui suggère que le miR-145 joue un rôle dans la suppression tumorale dans le cancer du col utérin via la protéine p53.

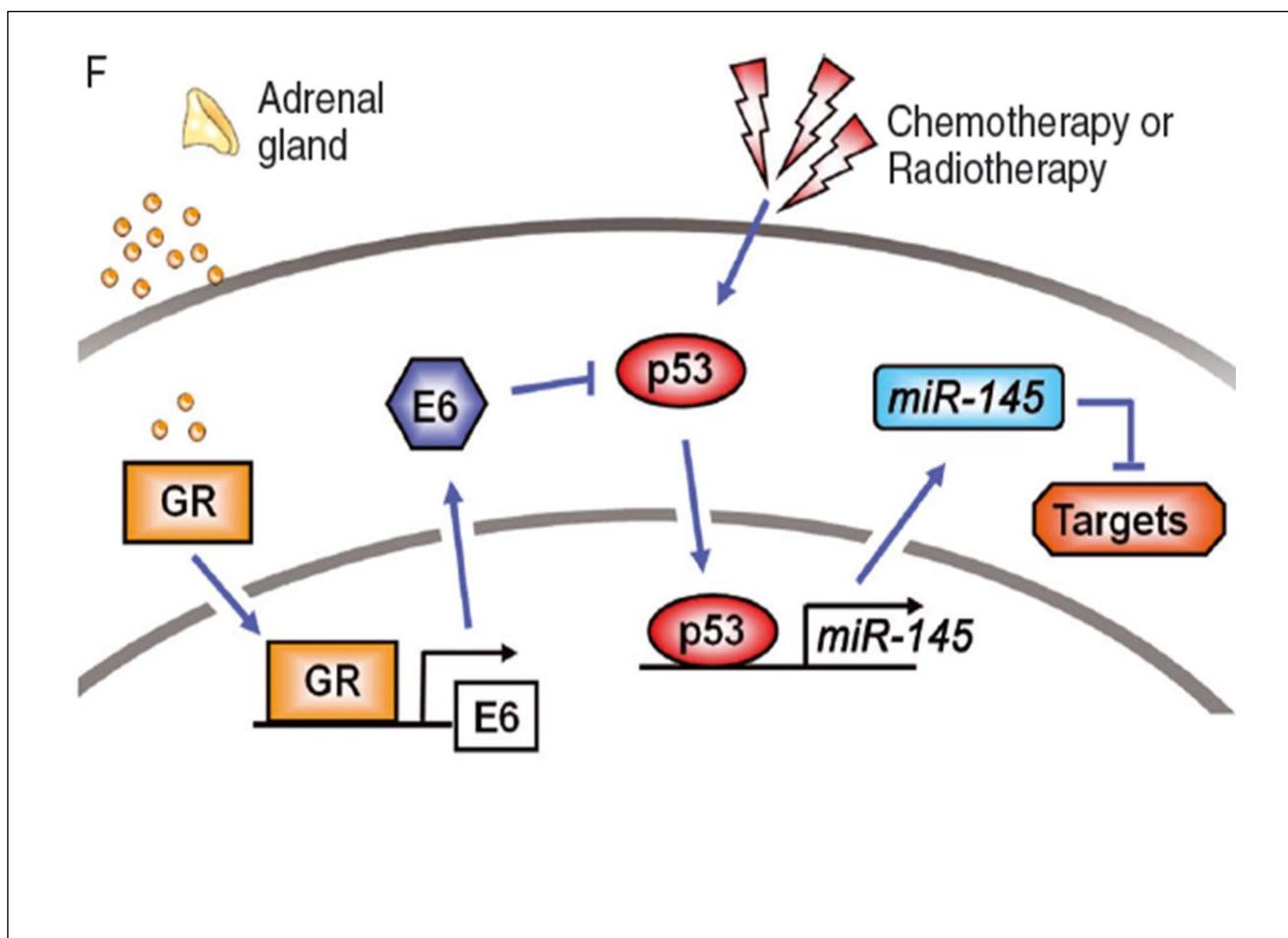


Figure 12: Représentation schématique de la chimiorésistance induite par les glucocorticoïdes

I.3.2 La prévention

Actuellement, l'incidence des lésions histologiques (CIN 2 et 3 notamment) n'est pas connue sur l'ensemble du territoire sénégalais.

La surveillance, d'un point de vue épidémiologique, des néoplasies cervicales intraépithéliales de haut grade (CIN 2 et 3) devenues actuellement plus fréquentes que les cancers invasifs dans le monde, est un des indicateurs d'évaluation du dépistage du cancer du col de l'utérus.

Le dépistage permet la détection précoce des lésions précancéreuses. Il repose sur la réalisation de frottis cervico-utérins, c'est-à-dire le prélèvement de cellules à la surface du col de l'utérus qui sont ensuite analysées lors d'un examen anatomo-pathologique.

Le frottis est recommandé tous les trois ans, après deux frottis normaux espacés d'un an, pour toutes les femmes âgées de 25 à 65 ans ayant ou ayant eu des relations sexuelles et la vaccination anti HPV pour les jeunes filles de 11 ans [50].

Cependant selon Doris et al., effectuer des FCU avant 25 ans au prétexte qu'une patiente est exposée aux cofacteurs de risque d'infection à HPV haut risque ne justifie pas la gravité ou la fréquence des lésions cytologiques observées, d'autant plus que cela entraîne un surcoût financier et de potentiels gestes délétères comme les conisations probablement excessives chez les patientes les plus jeunes. Un suivi personnalisé de ces patientes ayant un FCU pathologique est nécessaire. Les recommandations françaises sur la pratique du FCU (premier dépistage à 25 ans, contrôle cytologique à 26 ans puis tous les 3 ans jusqu'à 65 ans chez des patientes ayant ou ayant eu des rapports) méritent de s'appliquer chez les patientes jeunes et défavorisées [51].

La vaccination protège contre l'infection par les papillomavirus (HPV) 16 et 18, responsables de 70 % des cancers du col de l'utérus. Elle est proposée aux jeunes filles âgées de 11 à 14 ans, avec un rattrapage possible jusqu'à 19 ans inclus. Cette vaccination est d'autant plus efficace que les jeunes filles n'ont pas encore été exposées au risque d'infection par le HPV [50].

Aujourd'hui en France et dans les pays en voie de développement, un schéma vaccinal présenté dans le tableau II est proposé afin de prévenir l'infection aux oncogènes de VPH 16 et 18.

Tableau II: Vaccination contre les papillomavirus [50].

1^{er} schéma vaccinal de référence, à partir de 11 ans

	Gardesil®	Cervarix®
1 ^{ère} injection	Entre 11-13	Entre 11-14
2 ^{ième} injection	6 mois plus tard	6 mois plus tard

2^{ième} schéma vaccinal, pour les jeunes filles plus âgées

	Gardesil®	Cervarix®
1 ^{ère} injection	Entre 14-19	Entre 15-19
2 ^{ième} injection	2 mois après la 1 ^{ère} injection	1 mois après la 1 ^{ère} injection
3 ^{ième} injection	4 mois après la 2 ^{ième} injection	5 mois après la 2 ^{ième} injection

Composition

Gardesil® contient : Protéine L1 de Papillomavirus Humain 1 de type 62, 112, 162, 182. Protéine L1 sous la forme de pseudoparticules virales produite sur des cellules de levure (*Saccharomyces cerevisiae* CANADE 3C-5 (souche 1895) par la technique de l'ADN recombinant. Absorbée sur sulfate d'hydroxy phosphate d'aluminium amorphe comme adjuvant.

Cervarix® contient : Protéine L1 de Papillomavirus Humain 1 de type 16, 18, Protéine L1 sous forme de pseudoparticules virales non infectieuses produites par la technique de l'ADN recombinant avec un système d'expression utilisant le baculovirus et les cellules Hi-5 Rix4446 dérivées de *Trichoplusia ni*. Adsorbé sur hydroxyde d'aluminium hydraté Al(OH)₃.

CHAPITRE II : EFFETS PHYSIQUES DES RADIATIONS IONISANTES

Les effets biologiques d'une irradiation sur les tissus cellulaires sont l'aboutissement d'une chaîne de phénomènes déclenchés par le passage du rayonnement. Les événements initiaux sont des ionisations (éjections d'un électron) ou des excitations (passage d'un électron sur une couche d'énergie supérieure), provoquées par l'interaction des radiations incidentes avec les atomes des molécules cellulaires. Ces modifications physiques entraînent des perturbations physico-chimiques pouvant aboutir à un effet biologique [52].

II.1 L'étape physique

Les ionisations et excitations sont produites par des particules chargées en mouvement rapide, par interaction avec des électrons du milieu, au voisinage de leur trajectoire. Le mécanisme de l'ionisation (ou de l'excitation) fait appel à la force Coulombienne.

En radiothérapie, les radiations utilisées sont les photons X, qui proviennent du réarrangement des électrons de cortèges électroniques par bombardement d'un métal lourd par un faisceau d'électrons (tubes à rayons X, accélérateurs), ou les photons γ , qui sont produits lors d'une désintégration nucléaire (source de Cobalt, Césium...). Quelle que soit leur origine, ces photons ont les mêmes propriétés.

II.1.1 Interaction électrons-matière [53]

Les électrons, primaires ou secondaires, perdent progressivement leur énergie cinétique dans le milieu dans lequel ils sont mis en mouvement par:

- ❖ des interactions électrons-électrons, appelées collisions, qui entraînent un transfert d'énergie à la matière, ce qui est à l'origine de la plupart des effets produits dans le milieu,
- ❖ des interactions électrons-noyau, appelées freinage, à l'origine de la production des rayons X de freinage,
- ❖ et des interactions particules lourdes-matière [54].

Les particules lourdes chargées (protons, ions) se comportent pratiquement comme des électrons. Les neutrons incidents libèrent des protons et des électrons par collision avec les noyaux du milieu, préférentiellement ceux des atomes d'hydrogène; ce sont les protons secondaires qui sont responsables des effets biologiques.

II.1.2 Interactions photons-matière

Un photon incident interagit avec un électron du milieu; l'interaction est causée par les forces exercées à très courte distance entre le champ électromagnétique du photon et le champ électrique de l'électron [54].

Lorsqu'un faisceau de photons X ou γ pénètre dans la matière, il interagit avec les particules du milieu jusqu'à la disparition des photons constituant le faisceau. L'interaction des rayonnements avec la matière est caractérisée par leur transfert d'énergie linéique (TEL) qui représente la densité d'énergie absorbée par le milieu selon la longueur parcourue. Il est défini par la formule suivante :

$$\text{TEL} = \frac{dE}{dl}$$

Où dE est l'énergie moyenne transférée à la matière, et dl est la distance parcourue par la particule. Le TEL est exprimé en keV/ μm et dépend du type de rayonnement et de son énergie. Par exemple, les rayonnements particulaires ont un TEL plus élevé que les rayonnements électromagnétiques. De plus, l'énergie déposée par le rayonnement dans la matière est différente de l'énergie émise. Elle se mesure en Gray (Gy) qui représente les Joules déposés pour 1 kg de matière.

Un photon d'énergie cinétique $E\gamma = h\nu$ peut interagir avec la matière par effet photoélectrique, effet Compton, production de paires, diffusion de Thomson-Rayleigh ou réaction nucléaire]; mais deux effets prédominent: l'effet Compton et l'effet photo-électrique:

❖ L'effet Compton

Lors de l'effet Compton, les photons incidents transfèrent une partie de leur énergie quand ils entrent en collision avec les électrons présents sur la couche externe des atomes rencontrés. Ces électrons sont faiblement liés à leur atome et ont donc une énergie de liaison beaucoup plus faible que celui impliqué dans l'effet photoélectrique. Leur énergie de liaison est alors négligeable par rapport à l'énergie du photon incident ($E\gamma$). Lors de la collision, il y a production, d'une part, d'un électron Compton d'énergie cinétique EEC qui est éjecté du cortège électronique et excite ou ionise les atomes environnants. D'autre part, le photon incident est diffusé avec une énergie réduite et égale à $E\gamma' = E\gamma - EEC$.

De plus, les trajectoires du photon diffusé et de l'électron Compton sont déviées selon un angle θ avec le photon incident, et ce, en fonction de l'énergie cinétique de ce dernier. En effet, plus l'énergie cinétique du photon incident est élevée, plus l'angle θ est faible (Figure 13).

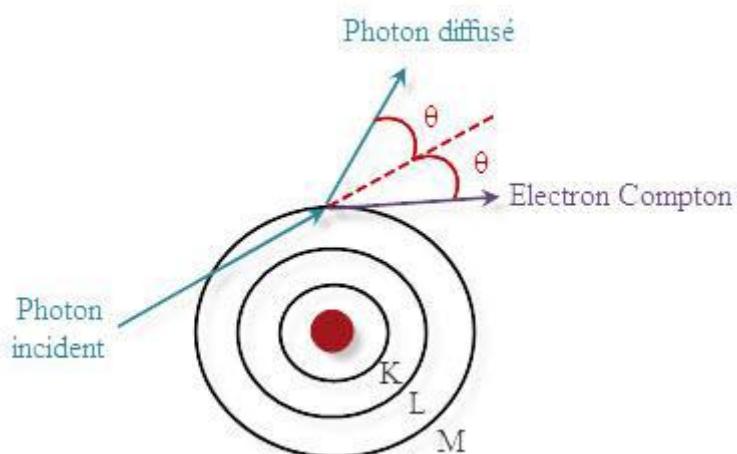


Figure 13: L'effet Compton [54].

❖ L'effet photoélectrique

Lors de l'effet photoélectrique, les photons incidents transfèrent toute leur énergie ($E\gamma$) à un électron orbital des atomes rencontrés. Cet électron, appelé photoélectron, est alors éjecté de sa couche électronique avec une énergie cinétique EC correspondant à $E\gamma - EL$, où EL est l'énergie de liaison de l'électron à sa couche électronique. Un photon peut donc arracher un électron uniquement si son énergie $E\gamma$ est supérieure à l'énergie de liaison EL de l'électron rencontré.

La première conséquence de l'effet photoélectrique concerne le photoélectron mis en mouvement : il perd son énergie par des phénomènes d'ionisation et d'excitation du milieu environnant. La deuxième conséquence de l'effet photoélectrique est la réorganisation du cortège électronique de l'atome excité. La lacune laissée est comblée par des électrons des couches supérieures de l'atome et ce remplacement s'accompagne d'une émission d'énergie. Cette énergie dégagée peut alors causer l'émission d'un photon de fluorescence ou être absorbée par un autre électron qui est éjecté de l'atome, appelé électron Auger (Figure 14).

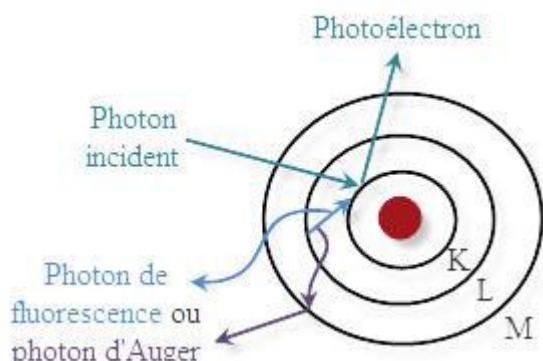


Figure 14: L'effet photoélectrique [54].

❖ La production de paires

Quand l'énergie cinétique du photon incident est grande, le photon interagit avec le noyau de l'atome rencontré et produit un électron (e^-) et un positon (e^+) ayant la même masse et la même énergie cinétique que le photon incident. Ce phénomène est appelé production de paires et ne peut avoir lieu que si le photon incident a une énergie cinétique supérieure au double de l'énergie de masse de l'électron au repos, c'est-à-dire environ 1,02 MeV. L'électron et le positon créés perdent leur énergie par des phénomènes d'ionisation et d'excitation du milieu. Enfin, le positon subit une réaction d'annihilation avec un électron négatif du milieu environnant, produisant un rayonnement de 2 photons γ d'énergie individuelle de 511 keV et formant un angle de 180 degrés l'un de l'autre (Figure 15).

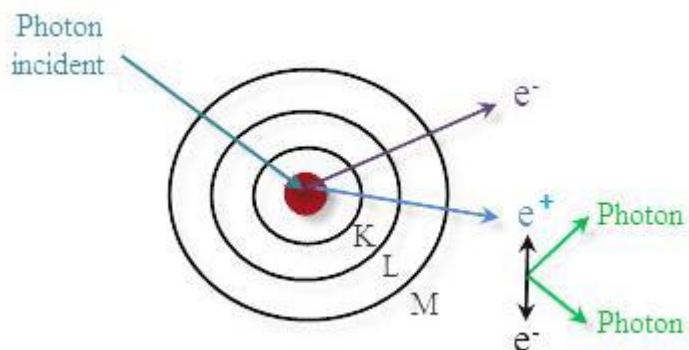


Figure 15: La production de paires [55].

❖ La diffusion de Thomson-Rayleigh

La diffusion de Thomson-Rayleigh concerne les photons de très faible énergie (infrarouge, lumière visible et rayons X mous) ; elle est donc minoritaire lors de l'interaction des photons X et γ . Lors de cette réaction, le photon incident interagit avec un électron qui absorbe le photon et le réémet dans une autre direction avec la même énergie.

❖ La réaction nucléaire

Lors de la réaction nucléaire, le photon peut interagir avec les noyaux des atomes traversés pour émettre un ou plusieurs neutrons. Cette réaction ne se produit que pour les photons de haute énergie ($E\gamma > 10$ MeV) qui sont peu utilisés en radiobiologie.

L'importance relative de ces différentes interactions entre les photons et la matière dépend notamment de l'énergie cinétique des photons incidents ainsi que du numéro atomique des atomes présents dans la matière (Figure 16a et 16b).

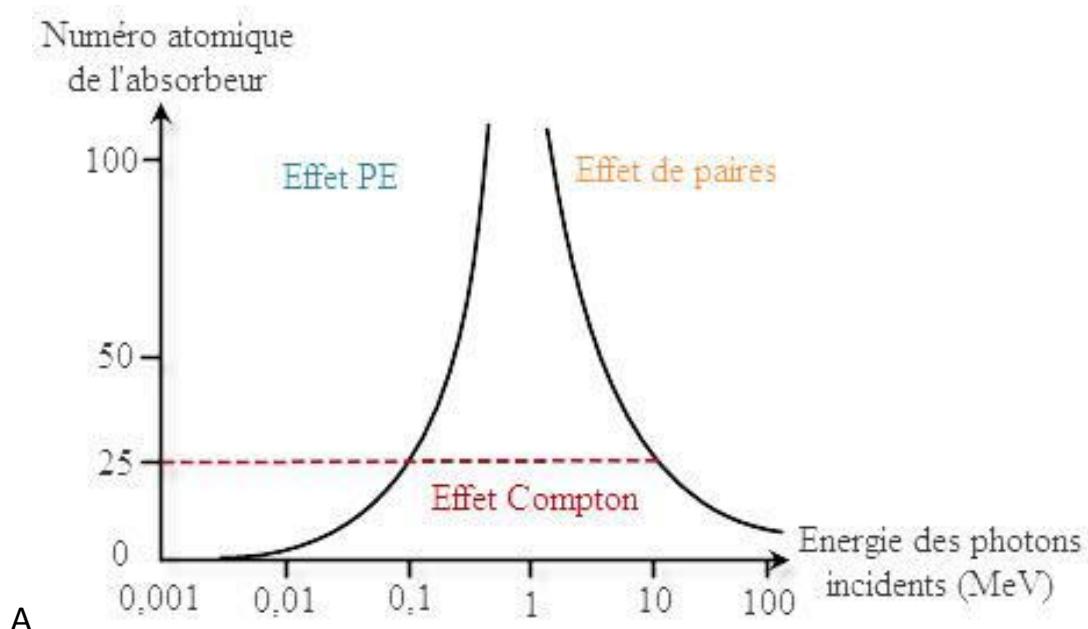


Figure 16a: Prédominance des différents effets physiques en fonction du type d'absorbeur [56].

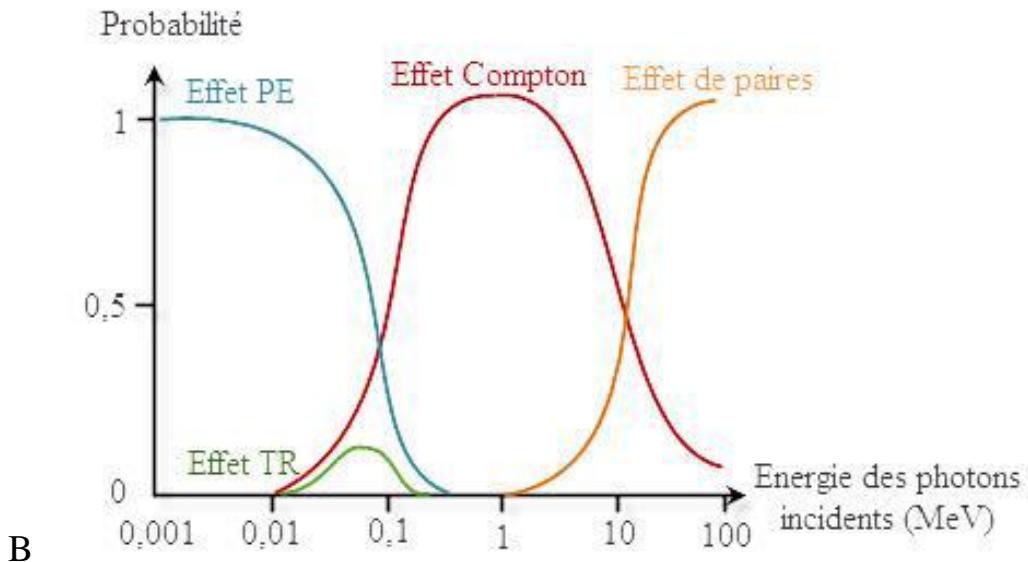


Figure 16 b: Probabilité d'avoir chaque effet physique en fonction de l'énergie du faisceau incident. PE : photoélectrique ; TR Thomson-Rayleigh [56].

II.2 Effets physico-chimiques

Les molécules ionisées et excitées lors de la phase physique décrite précédemment réagissent entre elles et avec les molécules avoisinantes.

En effet, les radiations ionisantes, photons-X ou particules accélérées, déposent de l'énergie dans les cellules irradiées par effet Compton et effet photo-électrique. Cette étape physique, qui se produit en 10^{-16} à 10^{-14} seconde, est indépendante du type cellulaire considéré. Elle aboutit à la formation de radicaux libres dont les principaux sont les radicaux **OH⁻** issus de la radiolyse de l'eau. Ceux-ci sont responsables de la majorité des lésions chimiques qui touchent l'ensemble des compartiments cellulaires. Par leurs conséquences, les lésions qui touchent les chromosomes sont les plus importantes [57].

On distingue l'effet physico-chimique direct, dont la cible est représentée par les macromolécules cellulaires, et l'effet physico-chimique indirect qui est la conséquence de l'attaque des macromolécules par les radicaux libres issus de la radiolyse de l'eau [56].

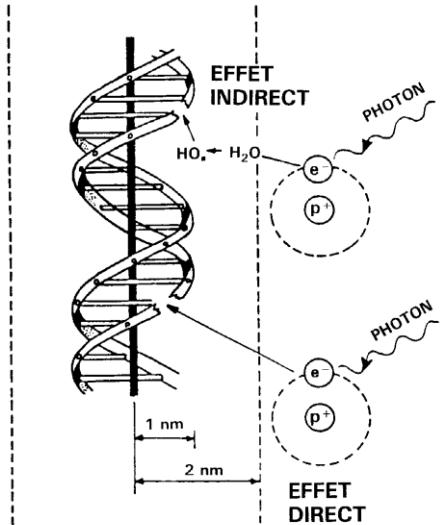


Figure 17: Représentation des effets physico-chimiques direct et indirect.

II.2.1 Effet physico-chimique direct

Les radiations ionisantes peuvent interagir directement avec les molécules organiques constituant les cellules. Ces molécules vont alors être ionisées ou excitées, entraînant par la suite, soit une émission d'un photon de fluorescence et retour à l'état fondamental, soit une rupture de la liaison chimique covalente et formation de radicaux \mathbf{R}^{\cdot} hautement réactifs. Les conséquences biologiques sont importantes pour l'ADN dont la fonction est vitale pour la cellule [56].

II.2.2 Effet physico-chimique indirect

L'effet physico-chimique indirect fait intervenir la radiolyse de l'eau. En effet, l'eau, élément présent à 80% dans les tissus biologiques, est ionisée ce qui provoque la formation de radicaux libres hautement réactifs. Ce type d'effet est majoritaire dans les rayonnements de faible TEL.

Il existe des étapes intermédiaires dans le processus de radiolyse, comme la formation d'un électron aqueux e_{aq}^- , c'est à dire d'un électron piégé par des molécules d'eau, ou d'ions H_2O^+ et H_3O^+ .

De façon minoritaire, l'eau peut être excitée (A). Les molécules d'eau excitées ainsi formées se décomposent en deux espèces radicalaires H^\cdot et HO^\cdot (B). L'eau peut aussi être ionisée pour former un radical-cation H_2O^+ et un électron(C). Ce radical-cation est décomposé en un radical HO^\cdot et un proton (D). Ce radical HO^\cdot peut ensuite réagir avec un deuxième radical conduisant à la formation de peroxyde d'hydrogène (E). De plus, l'électron éjecté lors de la formation du radical-cation peut à son tour former une espèce radicalaire, H^\cdot lors d'une réaction avec l'ion H_3O^+ . Dans le cas contraire, il est piégé dans l'eau pour former un électron aqueux (F). Cet électron aqueux peut donner à son tour des espèces radicalaires en interagissant avec une molécule d'eau ou avec un ion hydronium (G) (Figure 18).

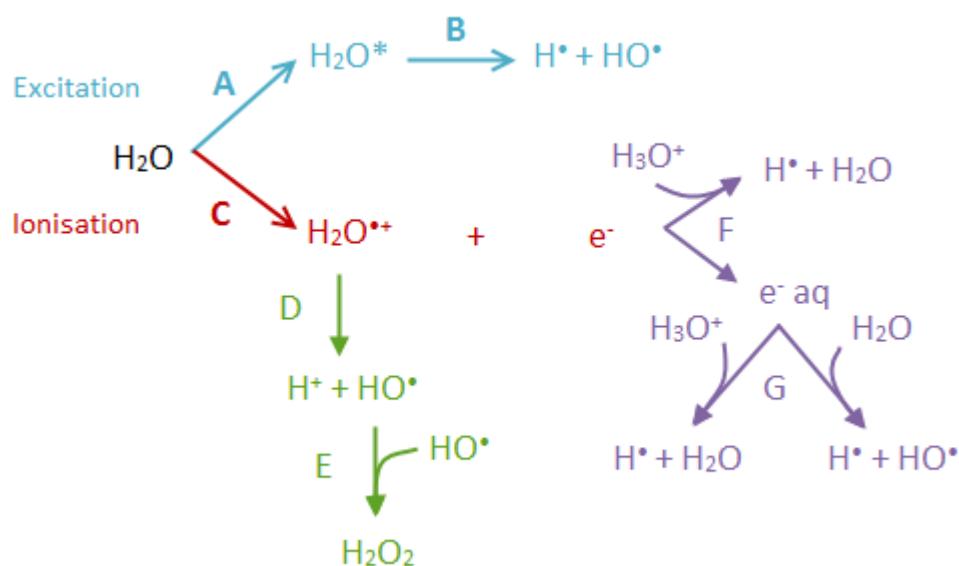


Figure 18: Radiolyse de l'eau [58].

Les radicaux libres ainsi formés sont responsables des effets indirects de la radiolyse et peuvent réagir avec d'autres molécules pour former des radicaux libres oxygénés (RLO) tels que des anions superoxydes O_2^- , des radicaux peroxyles RO_2^\cdot ou des radicaux alkoxyles RO^\cdot . Ces RLO sont ensuite capables de réagir avec des molécules voisines comme l'ADN et donc de le modifier [56].

CHAPITRE III : EFFETS BIOLOGIQUES DES RADIATIONS IONISANTES

Après avoir évoqué la nature des rayonnements auxquels notre organisme est soumis, et la façon dont ils interagissent avec la matière, nous allons maintenant présenter les conséquences biologiques de ces interactions. Il est aujourd’hui admis que l’ADN est la molécule cible des effets biologiques produits par les rayonnements ionisants. Une dose de 250 Gy délivrée au cytoplasme n’a pas d’effet sur la prolifération cellulaire alors qu’une dose de 1,5 Gy délivrée au noyau empêche la division de 50% des cellules. Toutefois, plusieurs travaux ont également souligné l’implication des structures membranaires, en particulier de la membrane nucléaire, dans les effets biologiques des rayonnements ionisants.

III.1 Effets direct et indirect du rayonnement gamma du ^{60}Co

Les effets des rayonnements ionisants sur la molécule cible peuvent être produits par interaction directe du rayonnement avec la molécule ou par l’intermédiaire de l’eau environnant la molécule [59].

❖ Effet direct

Il résulte d’un dépôt d’énergie sur le substrat qui peut conduire à une ionisation ou à une excitation de la matière.

❖ Effet indirect

Il résulte de l’interaction du rayonnement avec la molécule d’eau.

C’est le type d’interaction prédominante observée avec les rayonnements à faible TEL, comme les rayonnements gamma ou électronique. On estime, en effet qu’environ 75% des interactions des rayons γ avec la matière se font par cette voie [60]. Les espèces radicalaires et ioniques (OH^\cdot et H^\cdot , électron aq, H^+) ne sont pas distribuées de façon homogène dans le milieu. Elles s’accumulent dans des zones appelées grappes qui sont situées à l’extrémité des trajectoires des électrons secondaires. Au cours de l’étape de diffusion, leur concentration

décroît dans ces zones par réaction de recombinaison radicalaire, avec formation de H₂, H₂O₂, mais aussi par diffusion dans tout le milieu ou encore par réaction avec des solutés éventuels.

La figure 19 représente la répartition des ionisations produites par un rayonnement de faible TEL dans un volume cible donné.

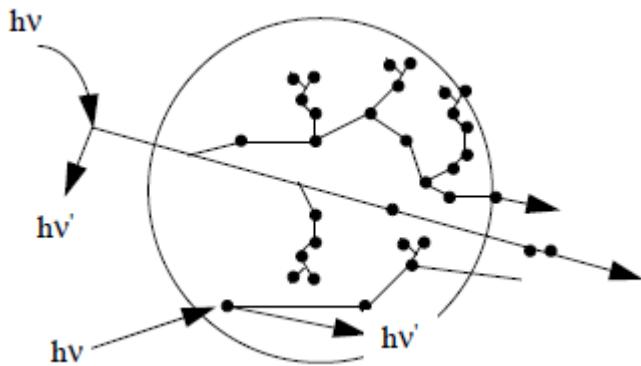


Figure 19: Trace d'un rayonnement à faible TEL dans le noyau cellulaire [61].

On distingue les grappes d'ionisations présentes à l'extrémité des trajectoires des électrons secondaires. Une répartition des ionisations beaucoup plus dense et moins dispersée est observée avec des rayonnements de TEL plus élevé [62].

Les radiations ionisantes interagissent avec les molécules biologiques entraînant de ce fait des lésions au niveau des différents constituants de la cellule. Ces lésions induisent des dysfonctionnements cellulaires pouvant aboutir à la mort de la cellule. On peut distinguer des effets biologiques déterministes et des effets biologiques stochastiques. **Les effets déterministes** sont les effets immédiats des radiations ionisantes dont la gravité est proportionnelle à la dose au-delà d'un certain seuil. **Les effets stochastiques** sont des événements tardifs dont la probabilité d'apparition dépend de la dose (et non leur gravité) et de l'individu. Les effets stochastiques représentent le risque d'avoir un effet des rayonnements ionisants avec une gravité constante.

III.2 Effets sur les molécules biologiques

III.2.1 Effets sur ADN

Les radiations ionisantes induisent plusieurs types de dommages sur l'ADN nucléaire : elles peuvent provoquer des cassures des chaînes d'ADN, des modifications des bases ainsi que des modifications structurales de l'ADN.

❖ Les ruptures de chaîne

Les radiations ionisantes peuvent créer deux types de cassures de l'ADN : les cassures simple-brin (CSB) et les cassures double-brins (CDB). **Les cassures simple-brin** sont provoquées par l'oxydation du désoxyribose, menant à la rupture de la liaison phosphodiester entre le phosphate et le désoxyribose. Ceci va alors induire l'écartement des deux brins avec pénétration des molécules d'eau dans la brèche, rompant ainsi les liaisons hydrogène entre les brins d'ADN. Le nombre de CSB formées augmente avec la dose mais ces lésions sont réparées très rapidement, leur conférant un faible impact sur la viabilité cellulaire [63].

Les CDB sont provoquées soit par un seul radical hydroxyle sur le désoxyribose avec transfert du radical formé sur le brin opposé, soit par deux radicaux hydroxyles traversant la même région dans un intervalle de temps insuffisant pour la réparation de la première cassure. Comme pour les CSB, le nombre de CDB formées est proportionnel à la dose. Cependant, ces lésions étant plus difficiles à réparer, elles sont plus délétères pour la cellule et jouent un rôle important dans la mort cellulaire radio-induite [64].

❖ Les modifications des bases

Les bases puriques et pyrimidiques ainsi que les oses constituant l'ADN peuvent être oxydés par les radicaux hydroxyles. L'oxydation des bases se traduit par un grand nombre de modifications, dont la plus fréquente est la 8-oxo-7,8-dihydrodéoxyguanine (8-oxoguanine). On peut également obtenir les 8-oxo-7,8-dihydropurine (8-oxoadénine), 2,6-diamino-4-hydroxy-5-

formamidopyrimidine, 5-hydroxycytosine, 5-hydroxyuracile et 5,6-dihydroxy-5,6-dihydrothymidine [65].

❖ **Les modifications structurales de l'ADN**

Les radiations ionisantes peuvent également créer des modifications structurales de l'ADN telles que des sites abasiques, des pontages ADN-ADN ou ADN-protéine ainsi que des aberrations chromosomiques et chromatidiennes. Les sites abasiques sont les conséquences des oxydations des bases et sont provoquées par la déstabilisation de la liaison N-glycosidique entre la base azotée et le désoxyribose.

Les pontages ADN-ADN peuvent être intra ou inter-brins. Elles résultent principalement de la formation d'une liaison entre deux bases. De plus, les radiations ionisantes peuvent créer des liaisons covalentes entre l'ADN et des protéines nucléaires, menant à des pontages ADN-protéines.

Enfin, les aberrations chromosomiques (translocations, délétions, inversions, anneaux dicentriques, centriques ou acentriques) sont retrouvées après irradiation des cellules en phase G0, G1 ou S du cycle cellulaire. Les aberrations chromatidiennes (cassures, anneaux centriques et acentriques, inversions paracentriques, translocation de chromatides) surviennent lors de l'irradiation des cellules en phase G2/M. La plupart de ces aberrations sont létales pour la cellule, seules les translocations ou inversions peuvent perdurer dans les générations suivantes [66].

❖ **Les sites de multi-dommages**

Un site de multi-dommages est provoqué par l'interaction d'un rayonnement ionisant avec la molécule d'ADN, provoquant la formation d'au moins deux dommages à l'ADN sur une courte distance (1 à 4 nm). Les lésions impliquées dans ces sites multi-dommages peuvent être des CSB, des bases oxydées ou encore des sites abasiques. En raison du nombre important de lésions sur un même site et du fait de leur complexité, les systèmes de réparations sont

rapidement dépassés et les erreurs de réparation sont plus fréquentes. Les sites de multi-dommages sont donc considérés comme fortement létaux [67].

III.2.2 Systèmes de Réparations des lésions radio-induites

Au sein de la cellule, il existe plusieurs mécanismes de réparation des lésions radio-induites précédemment citées. La réparation des mésappariements de bases (MMR, MisMatch Repair) est utilisée par la cellule en cas de mutation ponctuelle d'une base. Ce système de réparation commence par la reconnaissance du mésappariement et de la base à exciser par un complexe protéique (MSH2 et MSH6). Le brin endommagé est ensuite clivé par une endonucléase, puis dégradé par une exonucléase. Le brin complémentaire est alors re-synthétisé par l'ADN polymérase II, ce brin néosynthétisé étant ensuite suturé par une ADN ligase (Figure 20) [68].

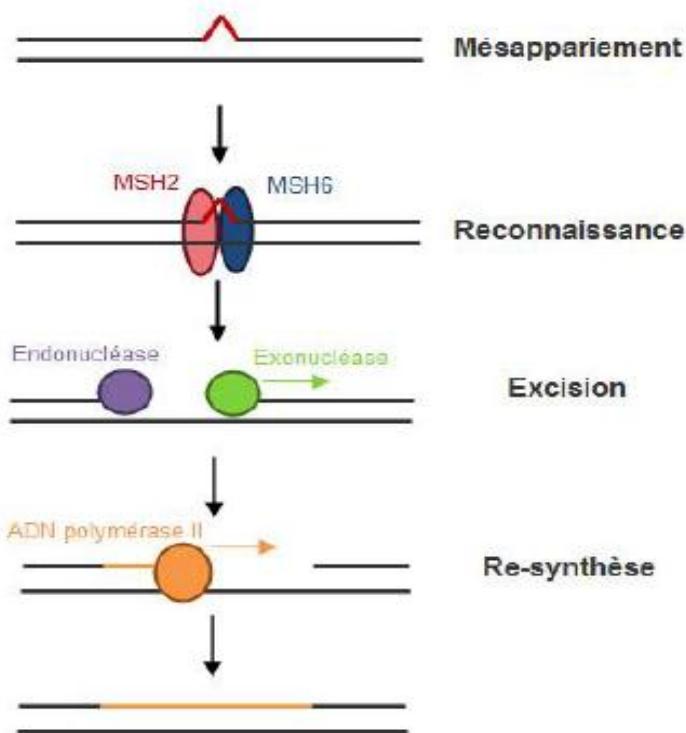


Figure 20: Réparation des mésappariements de bases [68].

La réparation par excision de base (BER, Base Excision Repair) permet de réparer les modifications de bases, les sites abasiques ainsi que les CSB. Les étapes sont similaires à la MMR avec une étape de reconnaissance suivie d'une excision de la base lésée. La reconnaissance est réalisée par des glycosylases (NTH1 pour les dérivés de bases pyrimidiques et OGG1 pour les dérivés oxydés de la guanine), enzymes qui vont également rompre la liaison N-glycosidique pour former un site abasique à la place de la base modifiée. Ce site abasique est ensuite reconnu par une apurique/apirimidique (AP) endonucléase (généralement APE1) qui se charge de cliver la chaîne principale du brin d'ADN et permet la formation d'une CSB. Enfin, une ADN polymérase permet la re-synthèse de la base (Figure 21) [69].

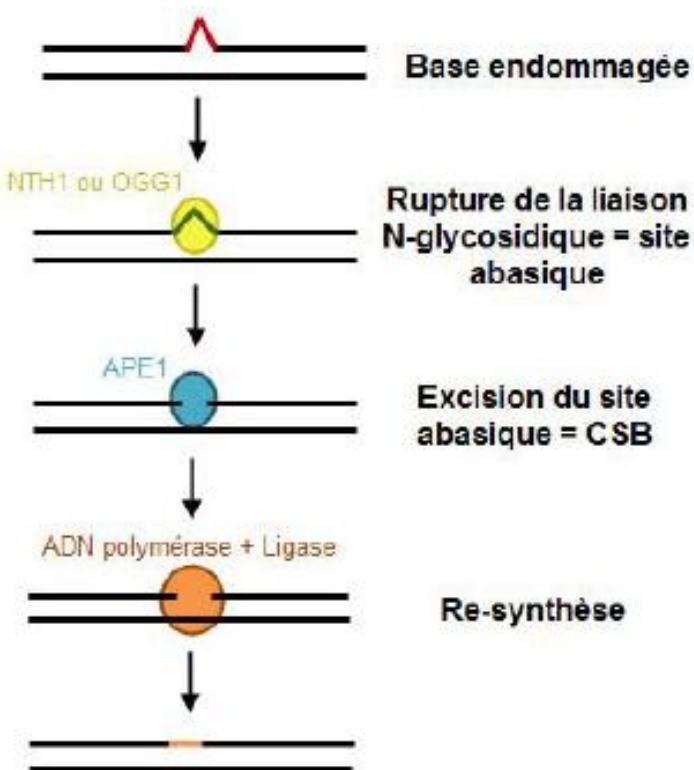


Figure 21: Réparation par excision de base [69].

Comme pour la MMR et la BER, la **réparation par excision de nucléotide** (NER, *Nucleotide Excision Repair*) permet de réparer des dommages simples brin, et plus particulièrement les dommages induits par les rayonnements UV. Il existe deux mécanismes de réparation par la NER faisant intervenir chacun des enzymes différentes : la NER génomique globale (NER-GG) et la NER couplée à la transcription (NER-CT). Le processus implique dans un premier temps la reconnaissance du brin endommagé. Dans le cas de la NER-GG, cette reconnaissance se fait par les complexes protéiques XPC-R23 et UV-DDB, alors que la NER-CT est enclenchée suite à l'arrêt de l'ARN polymérase à l'endroit du dommage. Dans les deux cas, cette reconnaissance entraîne le recrutement d'autres protéines nécessaires à l'identification du dommage (TFIIF, XPA, RPA). Dans un deuxième temps, ce brin est clivé tout en conservant le brin complémentaire. Cette excision est réalisée par le complexe ERCC1-XPF en 5' de la base endommagée, et par XPG en 3'. Enfin, le brin complémentaire est utilisé par l'ADN polymérase δ pour re-synthétiser le brin manquant et une ligase permet la formation du double brin d'ADN (Figure 22) [70].

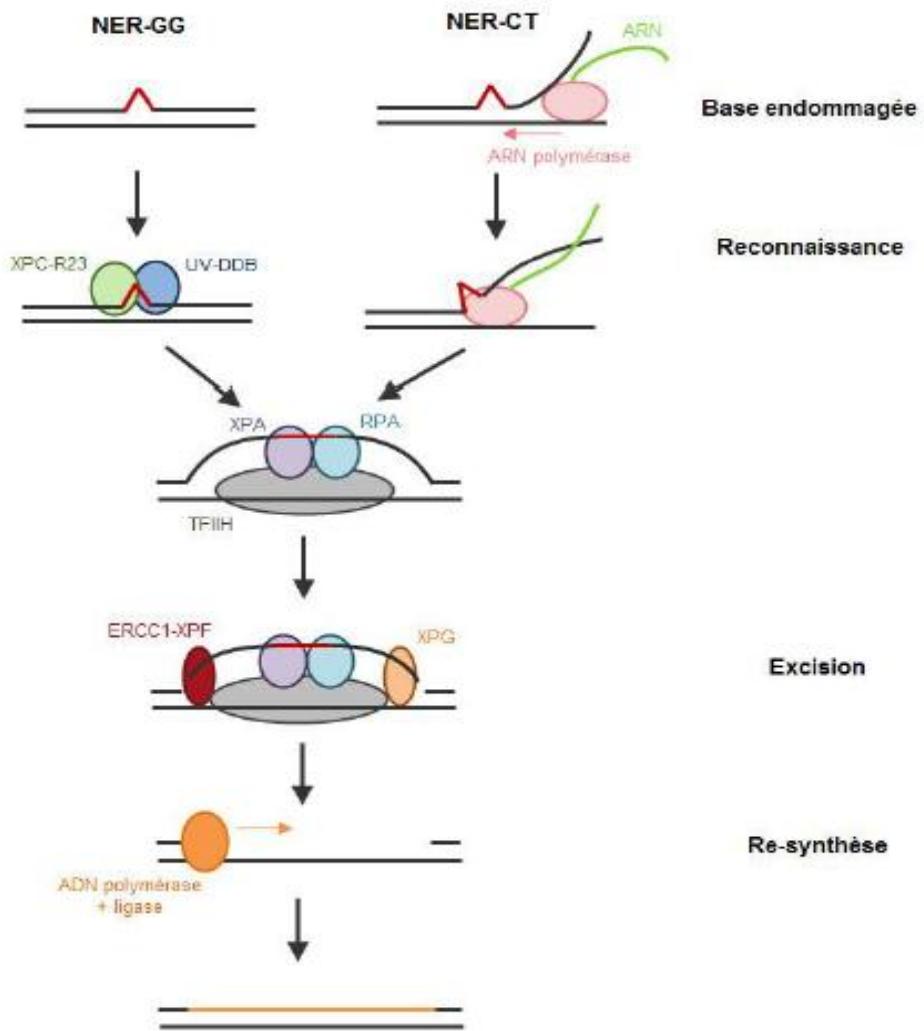


Figure 22: Réparation par excision de nucléotide [70].

Les CDB peuvent être réparées par deux mécanismes différents : la recombinaison homologue et la recombinaison non-homologue. **La recombinaison homologue** intervient quand la chromatide sœur non-endommagée est disponible, ceci lorsque la cellule est en phase S ou G2 du cycle cellulaire. Dans ce cas, l'information est récupérée sur le chromosome homologue non-endommagé pour réparer le brin lésé. Dans un premier temps, les CDB sont détectées par le complexe MRN (Mre11, Rad50, Nbs1) qui se fixe au niveau de la lésion afin de la protéger, puis, grâce à son activité 5'-3' exonucléase, le complexe MRN clive le brin 5' permettant ainsi la formation

d'un simple brin en 3'. Il y a ensuite formation d'un complexe composé des protéines RPA, Rad52 et Rad51 au niveau des simples brins, ce qui favorise l'appariement avec la chromatide sœur du chromosome homologue. La copie non endommagée est alors utilisée comme modèle pour re-synthétiser les brins manquants grâce à une ADN polymérase δ. Les jonctions "Holliday" qui sont alors formées sont ensuite suturées par une résolvase [71].

La recombinaison non-homologue (NHEJ ; *Non-Homologous End Joining*) est une alternative à la recombinaison homologue lorsque le brin de la chromatide soeur n'est pas disponible, notamment lorsque la cellule est en phase G1 et au début de la phase S. Dans un premier temps, les sous-unités régulatrices Ku70 et Ku80 de la protéine DNA-PK (*DNA-dependent protein kinase*) se fixent aux extrémités de la CDB afin de les protéger et de favoriser leur rapprochement. Une endonucléase, appelée Artémis, est alors recrutée grâce à la sous-unité catalytique de la DNA-PK et permet de couper la zone lésée. Une ADN polymérase est ensuite recrutée afin d'obtenir des bouts francs. Enfin, les extrémités sont reliées par le complexe XRCC4 / ADN ligase IV afin de reconstruire la double hélice de l'ADN [72].

La figure 23 représente la réparation des CDB par recombinaison homologue et non-homologue.

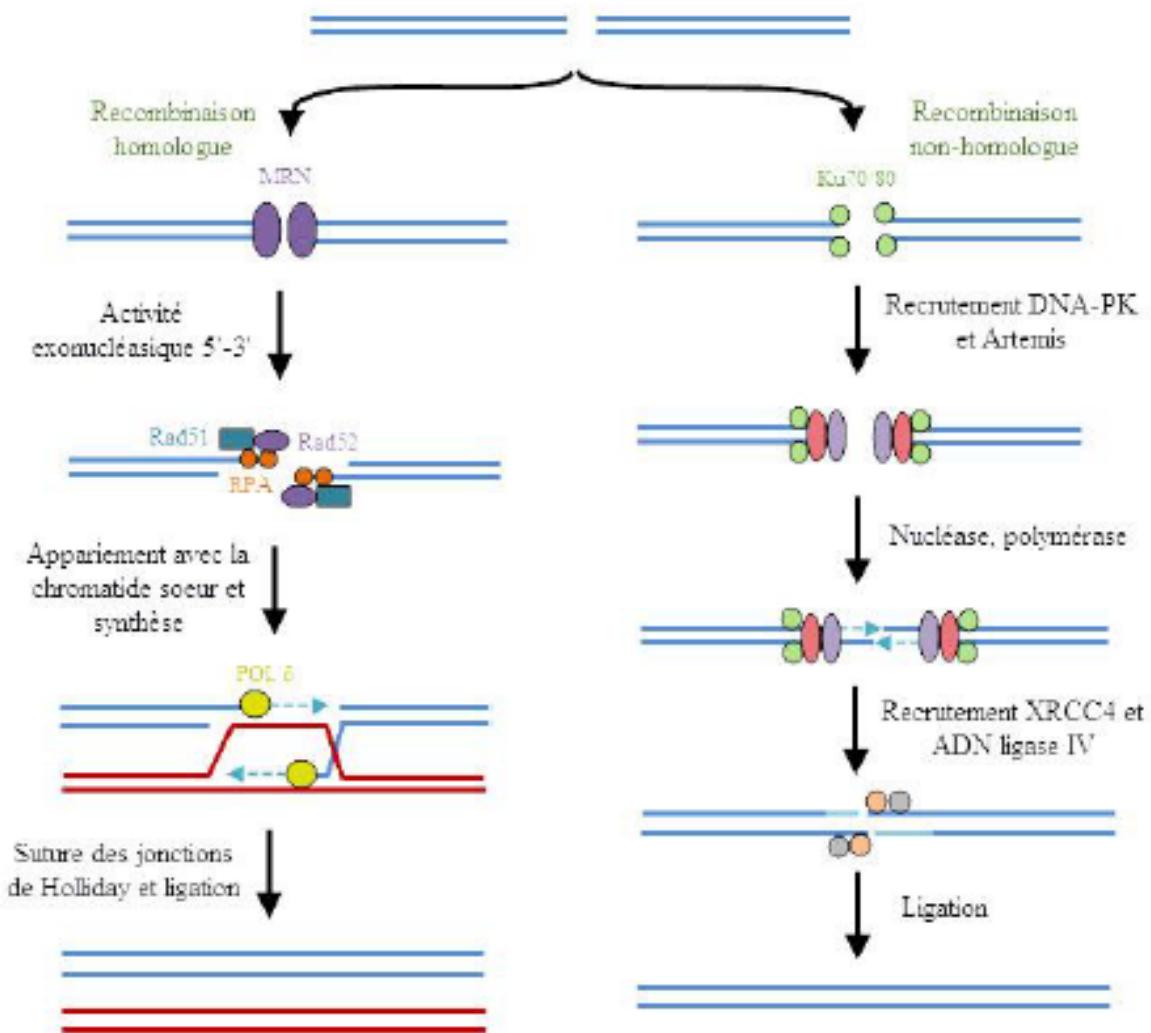


Figure 23: Réparation des Cassures Doubles Brins [71, 72].

III.3. Arrêts du cycle cellulaire radio-induits

III. 3.1. Généralités et régulation du cycle cellulaire

Dans le but de contrôler l'intégrité de l'information génétique transmise aux cellules filles, le cycle cellulaire présente des points de contrôle permettant la vérification du bon déroulement de l'étape précédente. Ces points de contrôle font appel à une machinerie cellulaire composée de différents complexes protéiques spécifiques à chaque étape. Ces complexes comprennent une sous-unité effectrice, les CDK (*Cycline-Dependant Kinase*) et une sous-unité régulatrice, les cyclines. Tout au long de la progression dans les différentes phases du cycle cellulaire (G₀/G₁, S, M, G₂), l'activation de complexes cycline/CDK différents suivant un ordre déterminé va être nécessaire afin de passer les différents points de contrôles et de progresser jusqu'à la phase suivante (Figure 24 et Tableau III). Bien que toutes les CDK aient un taux d'expression constant tout au long du cycle cellulaire, elles sont présentes sous forme inactives. C'est l'expression des différentes cyclines à des moments précis du cycle cellulaire qui phosphorylent et activent leurs CDK associées.

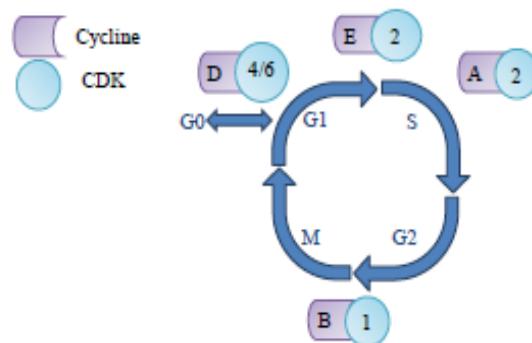


Figure 24: Schéma simplifié du cycle cellulaire et de sa régulation.

L'ensemble des phases G₁, S et G₂ correspond à l'interphase. Lors de la phase S, il y a réPLICATION de l'ADN. La phase M correspond à la mitose qui est elle-même divisée en différentes phases comprenant la prophase, la pro-métaphase, la métaphase, l'anaphase et la télophase [73].

Tableau III : Les différents complexes cycline/CDK présents selon la phase du cycle cellulaire [73].

Moment du cycle	Complexes	Rôle(s) des complexes
G1	Cycline D / CDK4 Cycline D / CDK6	Phosphorylent et inactivent la protéine Rb ("Rétinoblastoma protein"), ce qui libère les facteurs de transcription E2F qui contrôlent l'expression de gènes nécessaires pour la progression dans le cycle.
Transition G1/S	Cycline E / CDK2	Responsable de la transition G1/S. Phosphoryle la protéine Rb.
S Transition S/G2	Cycline A / CDK2	Active la réplication de l'ADN et inactive les facteurs de transcription de la phase G1. Induit la duplication du centrosome. Permet l'arrêt de la dégradation de la cycline B qui s'accumule.
G2/M	Cycline B / CDK1	Dirige la transition G2/M et active la progression de la mitose.

En plus de l'expression des cyclines adaptée en fonction de la phase du cycle cellulaire, il existe d'autres moyens de régulation des complexes cycline/CDK.

En effet, les CDK peuvent être phosphorylées au niveau de leur résidu commun, la thréonine 160/161, grâce au facteur de transcription TFIIH [73].

De plus, certaines CDK ont besoin d'être dé-phosphorylées au niveau des résidus thréonine 14 et tyrosine 15, déphosphorylation réalisée par une phosphatase de la famille CDC25. Enfin, il existe également des inhibiteurs de CDK (CKI, CDK inhibitors) composés des peptides p21WAF1, p27KIP1, p57KIP2 et INK4 qui vont intervenir dans différentes phases du cycle [74].

III. 3.2. Arrêts du cycle cellulaire après irradiation

Il y a deux points de contrôle lors du cycle cellulaire : le premier en phase G1, appelé point de restriction, et le second en phase G2. L'exposition des cellules aux rayonnements ionisants modifie leur progression dans le cycle cellulaire avec un arrêt en phase G1 pour les cellules exprimant la protéine p53 fonctionnelle, un arrêt en phase G2 pour la majorité des types cellulaires, ainsi qu'un arrêt en phase S. Ces arrêts sont dus soit à l'inhibition des complexes cyclines/CDK, soit à l'inhibition de l'avancement de la fourche de réPLICATION ce qui permet la reconnaissance et la réparation des dommages cellulaires radio-induits.

❖ Arrêt en phase G1

L'arrêt en phase G1 peut soit être transitoire et mener à la survie ou à l'apoptose, soit être irréversible et mener à la sénescence. D'un point de vue mécanistique, l'arrêt en phase G1 est généralement associé à l'activation de la protéine p53 ainsi qu'à sa stabilisation post-traductionnelle [75]. En effet, après irradiation, les lésions de l'ADN activent les kinases ATM/ATR, qui vont phosphoryler la protéine p53, soit de manière directe, soit de manière indirecte via la phosphorylation des protéines Chk1/Chk2 [76]. La protéine p53 peut alors induire l'expression de différentes CKI:

- activation des protéines $p15^{INK4B/MTS2}$ et $p16^{INK4A/CDKN2/MTS1/CDK4I}$, de la famille INK4, qui permettent l'inhibition du complexe cycline D/CDK4 nécessaire à la progression en phase G;
- activation des protéines $p21^{WAF1}$ et $p27^{KIP1}$ qui permet l'inhibition du complexe cycline E/CDK2 nécessaire à la transition G1/S [77].

Cependant, l'arrêt en phase G1 peut également emprunter une voie p53-indépendante par inactivation de la Cdc25A, qui est phosphorylée par les protéines Chk1/Chk2. La Cdc25A est alors dégradée dans le protéasome, empêchant de ce fait l'activation du complexe cycline E/CDK2. De plus, les radiations ionisantes peuvent également induire l'expression du TGF β qui active à son tour les protéines $p21^{WAF1}$, $p27^{KIP1}$ et $p^{15INK4B/MTS2}$ [78].

❖ Arrêt en phase S

Comme décrit précédemment, l'activation des protéines Chk1/Chk2 après irradiation, inactive la protéine Cdc25A qui est dégradée par le protéasome, empêchant de ce fait l'activation du complexe cycline A/CDK2. L'initiation de la réplication est alors inhibée, ce qui se traduit par un arrêt en phase S. Parallèlement, la protéine p53 est également activée et augmente l'expression de la protéine $p21^{WAF1}$ qui bloque le complexe cycline A/CDK2 nécessaire à la progression des cellules en phase S [79].

❖ Arrêt en phase G2

Comme pour les autres arrêts du cycle, l'arrêt en phase G2 fait intervenir la protéine p53 qui active la protéine chaperonne 14-3-3. Celle-ci inactive alors la phosphatase Cdc25C, empêchant l'activation de CDK1 et donc inhibe la progression en phase G2 [80].

Par ailleurs, il a été démontré que l'absence d'arrêt en phase G2 augmente l'entrée des cellules en apoptose alors qu'une majoration de cet arrêt est associée à une augmentation de la radiorésistance des cellules. Cependant, la radiorésistance des cellules n'est pas corrélée avec la durée de l'arrêt en phase G2 mais plutôt au nombre de cassures de l'ADN non réparées [81].

CHAPITRE IV : MARQUEURS DE RADIRESISTANCE

Le microenvironnement des tumeurs solides malignes est totalement différent de celui des tissus normaux, caractérisé par l'extrême diversité de la force ionique, du pH, de la distribution des éléments nutritifs et des concentrations d'oxygène [82]. Dans la plupart des tumeurs solides malignes, la vascularisation est fonctionnellement et structurellement défectueuse [83].

Ces caractéristiques conduisent à un déséquilibre entre l'apport d'oxygène et la consommation d'oxygène dans une tumeur solide maligne, et peut provoquer une oxygénation très hétérogène et gravement compromise des tumeurs [82]. L'hétérogénéité des concentrations intratumorales d'oxygène en particulier a attiré une attention considérable à la fois dans la recherche sur le cancer et le traitement du cancer depuis que Thomlinson et Gray ont proposé l'existence de régions hypoxiques dans les tumeurs solides et sa pertinence pour la radiorésistance tumorale en 1955 [83].

L'hypoxie tumorale se produit en raison d'un approvisionnement insuffisant de sang chargé d'oxygène en raison du réseau vasculaire désorganisé et chaotique qui se développe dans les tumeurs [84].

L'hypoxie induit la radiorésistance des tumeurs grâce à l'activation d'un facteur de transcription, le facteur inductible par l'hypoxie 1 (HIF-1) [82]. Ce dernier induit l'expression de protéines telles que le VEGF, l'anhydrase carbonique, le GLUT-1, etc.

IV.1 Marqueur hypoxique : HIF1 α (Hypoxia Inductible Factor 1 α)

Le HIF-1 a été initialement découvert par Gregg Semenza et ses collègues de travail en 1991 lors d'une étude menée sur le gène de l'érythropoïétine (EPO), un gène qui code pour l'hormone érythropoïétine pour la production de globules rouges [85].

Les séquences (5'-RCGTG-3') actives de l'ADN dans la configuration Cis ont été identifiées en position 3' non-codante du gène de l'EPO. Ces séquences d'ADN se sont avérées essentielles pour l'activation transcriptionnelle du gène de l'EPO dans la réponse à l'hypoxie et ainsi elles ont été nommées éléments de réponse à l'hypoxie.

D'autres études ont découvert que l'activation transcriptionnelle d'un grand nombre de gènes de régulation sont initiées par la liaison au HRE d'une protéine spécifique qui est induite dans des conditions d'hypoxie. Plus tard cette protéine a été identifiée comme étant le HIF-1 [86].

IV.1.1 Structure

Le HIF-1 est un facteur de transcription hétérodimérique obligatoire composé d'une sous-unité α de 826 acides aminés constituée de 15 exons sur le chromosome 14 (14q21-q24) et une sous-unité β de 789 acides aminés et située sur le chromosome 1 (1q21).

Il existe 3 isoformes de la sous-unité α : les isoformes HIF-1 α , HIF-2 α et HIF-3 α , et 2 isoformes de la sous-unité β . Le gène HIF-1 α est localisé sur le chromosome 14q23.2 [87].

Les deux sous-unités (α et β) appartiennent à la famille de protéines bHLH-PAS, parce que leurs structures sont relatives à deux protéines nucléaires trouvées chez Drosophila qui a le motif bHLH (basic-helix-loop-helix). En général, les motifs bHLH sont essentiels pour permettre la formation d'hétérodimère entre les sous-unités HIF-1 α et HIF-1 β et pour la liaison à la séquence HRE-ADN sur les gènes cible [88].

La sous-unité HIF-1 α a deux domaines de transactivation (TAD): NH2-terminal (N-TAD) et COOH-terminal (C-TAD). Ces deux domaines sont responsables de l'activité transcriptionnelle de HIF-1 α [89].

Le N-TAD est responsable de la stabilisation de HIF-1 α contre la dégradation [90]; le C-TAD interagit avec les co-activateurs comme le CBP/p300 pour

moduler la transcription du gène de HIF-1 α sous hypoxie. De plus, toutes les sous-unités de HIF-1 α se distinguent de HIF-1 β en ce qu'elles ont toutes un Domaine de Dégradation Dépendant de l'Oxygène (DDDO) chevauchant le N-TAD dans leurs structures. Ce domaine est important dans la médiation de la stabilité de la régulation de l'oxygène [91].

IV.1.2 Expression et régulation de HIF-1

Indépendamment du niveau d'oxygène, HIF-1 α est constitutivement transcrit et synthétisé par une série d'évènements de signalisation impliquant plusieurs facteurs de croissance et d'autres molécules de signalisation [92].

Le HIF-1 α subit une dégradation rapide dans les conditions normoxiques et a normalement une demi-vie courte (environ 5 minutes) [93]. En revanche, dans des conditions hypoxiques, plusieurs voies se sont révélées contrôler la stabilité et l'activité transcriptionnelle via des modifications post-traductionnelles impliquant des réactions d'hydroxylation, d'acétylation, d'ubiquitination, et de phosphorylation [92]; et impliquant 3 sensseurs de l'oxygène riches en Fer (dioxygénases) avec un domaine prolyl hydroxylase (DPH) [94].

En condition de normoxie ($Po_2 > 5\%$) les DPH sont actives et vont hydroxyler 2 résidus proline (Pro402 et Pro564) du domaine de dégradation dépendant de l'oxygène (DDDO) de HIF-1 α qui est lui-même situé sur la zone d'activation transcriptionnelle amino-terminale (N-TAD).

L'hydroxylation du DDDO permet son ubiquitinylation par la ligase E3 von Hippel-Lindau (VHL) et son trafic vers le protéasome pour y être dégradé [95].

Après translocation dans le noyau, le HIF se fixe sur des régions du génome appelées Hypoxia Response Elements (HRE) par l'intermédiaire d'une séquence d'ADN de reconnaissance 5'-RCGTG-3' et va ensuite influer positivement ou négativement l'expression de plus de 5% du génome dont des gènes impliquées dans l'érythropoïèse (EPO), l'angiogenèse (VEGF, ANG2, IL8), l'autophagie (BNIP3, BNIP3L) et la migration cellulaire (MMP2), mais aussi dans

l'homéostasie du pH (CAIX, CAXII, MCT4) et le métabolisme glycolytique (GLUT1, HK2, PGK1, PDK1, LDH-A) [87].

Par ailleurs, un autre résidu dans le DDDO (lysine, K532) peut être acétylé par une enzyme appelée arrest-defective-1 (ARD-1), une enzyme acétyle transférase. Bien que l'activité de l'ARD ne dépend pas de la disponibilité de l'oxygène, l'expression de l'ARD est diminuée en hypoxie [96], par conséquent, les sous-unités modifiées de HIF-1 α avec les fragments P402/P564 hydroxylés et K532 acétylé sont de préférence reconnus par pVHL et sont étiquetés pour l'ubiquitination et la dégradation par le protéasome (figure 25) [97].

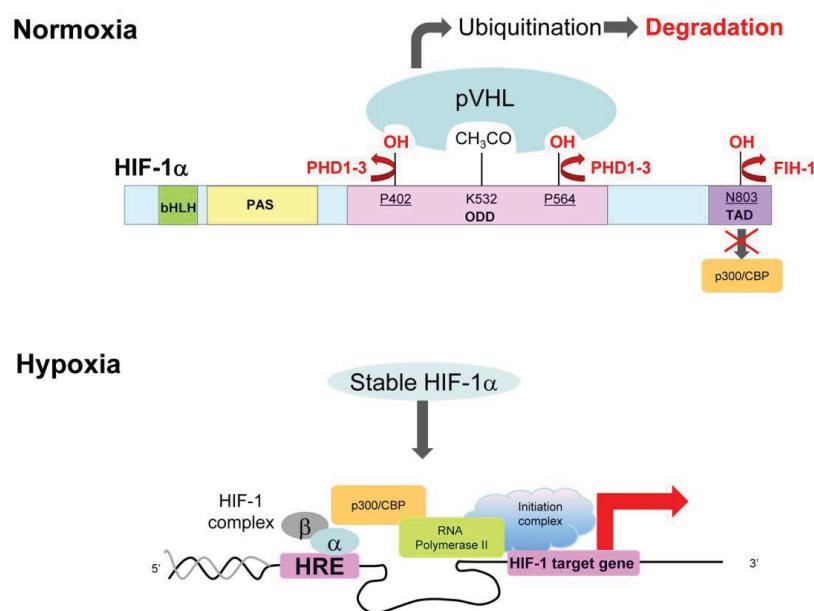


Figure 25: Régulation de HIF-1 α dépendante de l'hypoxie [98].

Le HIF-1 devient relativement stable dans des conditions hypoxiques, parce que l'épuisement d'oxygène inactive directement les prolyl hydroxylases, par conséquent le HIF-1 "échappe" à l'hydroxylation, l'ubiquitination et atteint un niveau d'équilibre supérieur. Ensuite, le HIF-1 α interagit avec le HIF-1 β pour former un hétérodimère actif, HIF-1 [99].

Le HIF-1 peut être induit et activé non seulement par l'hypoxie et ses mimétiques, mais aussi par l'irradiation. Moeller et al. ont constaté que l'activité de HIF-1 dans les tumeurs qui se développent dans la fenêtre des chambres du pli cutané a commencé à augmenter progressivement environ 12-24 h après l'irradiation, avec un pic de 48 h après le traitement. Cependant, ils ont également signalé qu'il n'y avait aucune augmentation détectable de l'expression et de l'activation de HIF-1 à 24, 48 et 72 h après l'irradiation des cellules cancéreuses *in vitro* [100].

Il a été découvert que les papillomavirus humain (HPV) E6 et E7 ont été en mesure, de manière indépendante, d'améliorer l'induction de HIF-1 α lors d'un traitement hypoxique [101]. Etant donné que les HPVs sont les agents responsables du cancer du col de l'utérus, il serait possible que HIF-1 soit induit et activé par l'hypoxie.

IV.1.3 Mécanisme d'action

Le mécanisme d'action de la radiorésistance médiée par HIF-1 a été révélé récemment. À savoir: (1) *l'irradiation active HIF-1 dans une tumeur solide*; (2) *HIF-1 induit l'expression du VEGF*; (3) *Le VEGF protège les cellules endothéliales des effets cytotoxiques du rayonnement*, et (4) *les vaisseaux sanguins de la tumeur radio protégée assurent l'apport d'oxygène et de nutriments aux cellules tumorales et maintiennent la croissance tumorale* [102].

Les cellules tumorales exposées à la fois à l'hypoxie et à l'irradiation subissent une apoptose par un mécanisme p53 et HIF-1-dépendant [103].

Le HIF-1 augmente la phosphorylation de p53 dans la cellule irradiée, en favorisant le clivage des caspases et, éventuellement, l'apoptose.

Deux voies ont été élaborées pour expliquer comment l'irradiation conduit à l'activation de HIF-1 [104]. Les deux partagent une origine commune : la réoxygénération tumorale induite par le rayonnement.

Le rayonnement tue préférentiellement les cellules tumorales bien oxygénées et hautement métaboliques. La mort de ces cellules permet de libérer l'oxygène qui sera distribuée aux régions de la tumeur irradiée qui étaient auparavant hypoxiques. Les tumeurs subissent une régression tumorale par mort cellulaire survenant après irradiation, libérant de l'espace pour les vaisseaux qui s'élargissent et améliorant ainsi la circulation sanguine et la livraison de nutriments aux régions mal vascularisées du tissu tumoral. Le résultat final est que les niveaux d'oxygène dans le tissu tumoral ont tendance à être augmentés après l'irradiation, phénomène appelé « effet de réoxygénération » [105].

Paradoxalement, l'augmentation de l'oxygénéation de la tumeur de cette manière provoque l'activation de la voie de HIF-1, qui est normalement sensible à une diminution de l'oxygénéation. Une partie de l'explication de ceci provient du stress oxydatif généré pendant la réoxygénération de la tumeur. Après l'irradiation, au cours de la réoxygénération, les espèces radicalaires libres s'accumulent dans le tissu tumoral et conduisent à la surexpression de HIF-1 [104].

Une autre hypothèse postule que les espèces radicalaires générées dans les mitochondries pendant l'hypoxie sont les signaux utilisés par la cellule pour détecter la privation d'oxygène et qu'elles sont donc elles-mêmes capables de mimer l'hypoxie [106].

Selon une autre hypothèse encore, les espèces réactives de l'azote inhibent la machinerie cellulaire qui décompose le HIF-1 au cours de la normoxie, faisant fonctionner le HIF-1 comme si les cellules étaient hypoxiques [107]. Mais quelle que soit la cause, la réoxygénération change clairement l'environnement redox dans les tumeurs irradiées, ce qui provoque l'accumulation du HIF-1 [105].

IV.1.4 Effets biologiques

Il est rapporté que le HIF-1 favorise la survie des cellules endothéliales après la radiothérapie en induisant l'expression de son gène en aval (le facteur de croissance des cellules endothéliales vasculaires), et entraîne ainsi la radiorésistance globale des tumeurs [107].

En fait, les recherches fondamentale et clinique ont confirmé que l'augmentation de l'hypoxie intratumorale et de l'activité de HIF-1 sont en corrélation avec un mauvais pronostic et les incidences à la fois de la récidive tumorale et des métastases de la tumeur après radiothérapie [109].

Le HIF-1 peut également renforcer le signal d'apoptose [110] et améliorer la glycolyse [111]. Comme l'a révélé une étude multicentrique, l'expression du HIF-1 α dans les tissus du cancer du col utérin est en corrélation négative avec la survie à 5 ans et en corrélation positive avec les effets indésirables de la radiothérapie (figure 26) [112].

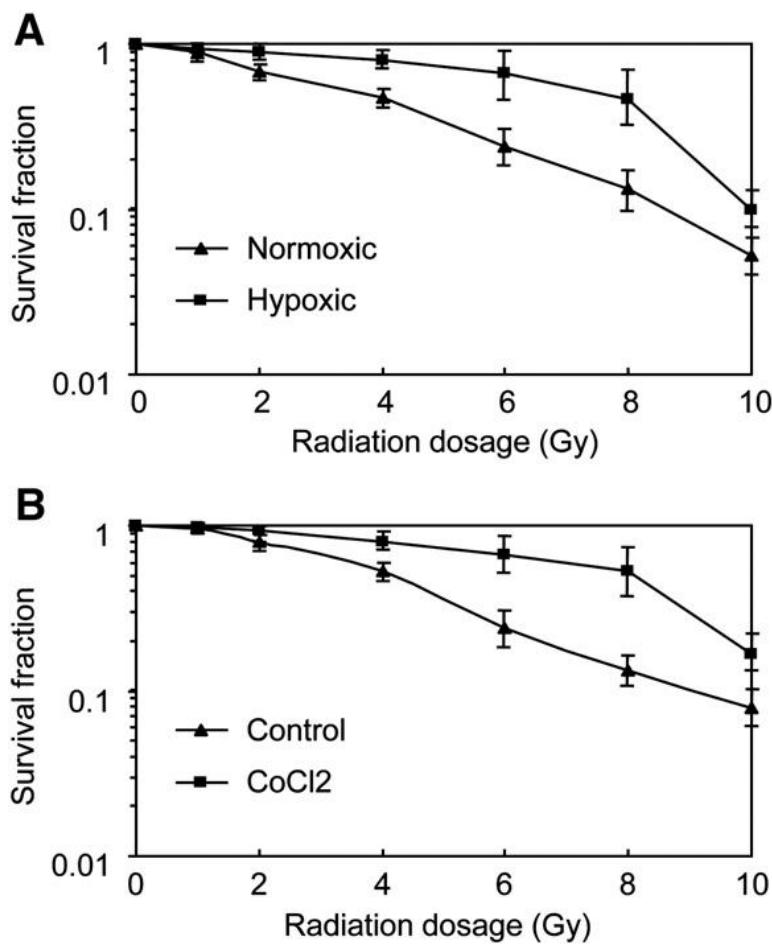


Figure 26 : Taux de survie des cellules en fonction de la dose d'irradiation

L'hypoxie augmente la résistance des cellules HeLa à des radiations. Les cellules HeLa du cancer du col utérin pré-traitées (A) dans des conditions hypoxiques ou (B) avec CoCl₂ (100 uM) mimant une hypoxie pendant 12 heures étaient soumis à un rayonnement à des dosages différents. Les fractions de survie ont été déterminées par un essai de formation de colonies. Les données ont été exprimées en moyenne ± écart type en triplicatas dans une expérience [112].

Dans une autre étude, l'expression de HIF-1 chez les patientes ayant subi une radiothérapie exclusive pour le cancer du col de l'utérus indique un risque accru de décès lié à la tumeur [113].

Ces données suggèrent que le HIF-1 pourrait jouer un rôle dans la régulation de la radiosensibilité de la tumeur. Des études ont montré que la déficience en HIF-1 favorise la radiosensibilité tumorale *in vivo*, ce qui suggère que le résultat net de l'activité de HIF-1 est de promouvoir la radiorésistance dans les tumeurs [114].

Il a été proposé que le HIF-1 dans des cellules cancéreuses pourrait induire l'expression d'une variété de cytokines pro-angiogéniques qui protège les cellules stromales endothéliales de la mort cellulaire induite par l'irradiation et, éventuellement, augmente la radiorésistance des cellules tumorales [115]. C'est l'*effet protecteur indirect du HIF-1 sur les cellules tumorales*.

Le statut du HIF-1 peut être en mesure de prédire la récurrence de la tumeur après une radiothérapie pour les patients atteints d'un carcinome du col utérin.

Le temps de survie a été calculé à partir de la date de début de l'irradiation à la mort ou au dernier de suivi selon les méthodes de Kaplan-Meier (figure 27) [116].

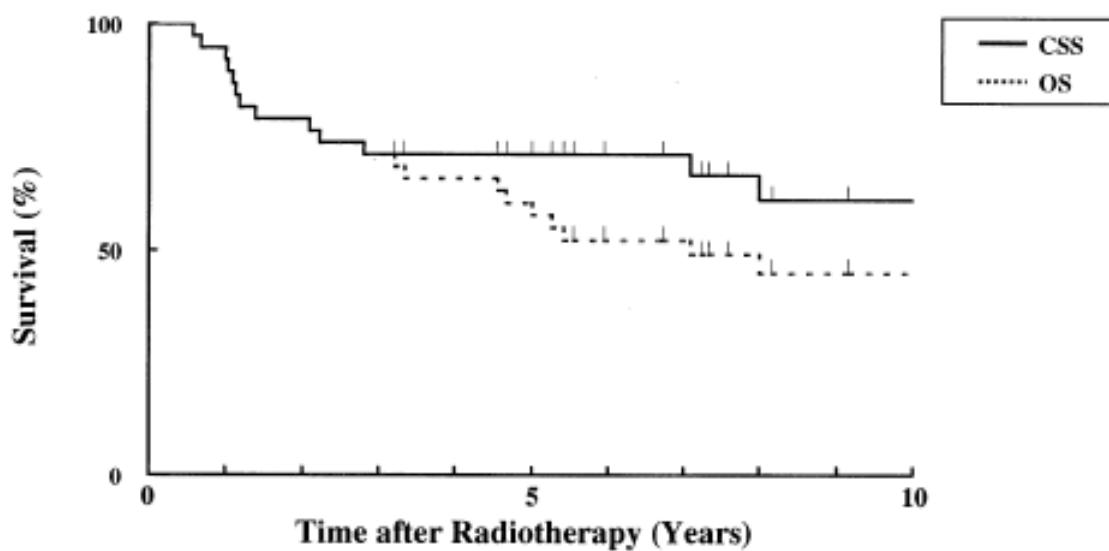


Figure 27 : Courbe de survie globale (OS) et de cause-spécifique de survie (CSS) des patientes atteintes du carcinome épidermoïde du col utérin de stade IIIB.

Les taux de survie globale et de cause spécifique de survie sur dix ans étaient respectivement de 44,8% et 61,1 % [116].

Ishikawa et coll. ont identifié le HIF-1 α comme un biomarqueur de mauvais pronostic après la radiothérapie chez les patientes atteintes de cancer du col

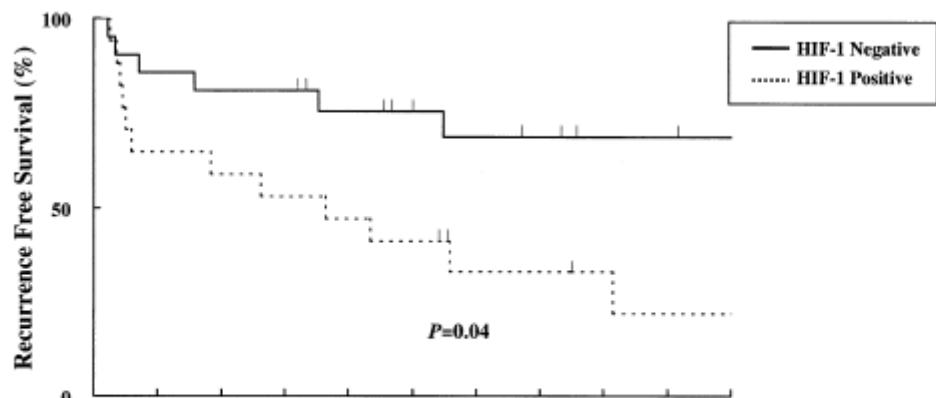
utérin; la survie sans récidive en 10 ans était seulement de 22% dans les tumeurs positives au HIF-1 α par rapport à 68,7 % dans les tumeurs négatives au HIF-1 α ($P = 0,04$) [117]. Des résultats similaires ont été rapportés par Kim et al. où le HIF-2 α était significativement associé à un risque plus élevé de récidive (HR = 1,525; IC à 95%, 1,144 à 2,033) [118].

Dans le cancer du col utérin avancé, cependant, il y a peu de rapports sur la corrélation de HIF-1 avec une infection par le HPV et la corrélation de HIF-1 avec l'expression d'autres protéines clés liées à la radiosensibilité.

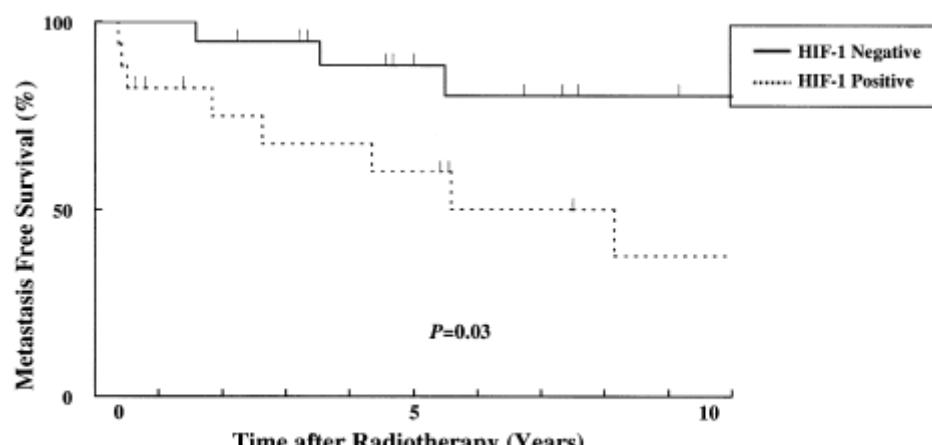
Birner et al. ont rapporté que la surexpression du HIF-1 dans le cancer du col utérin précoce a eu des effets sur un mauvais pronostic, y compris le taux de survie globale [119].

Dans cette étude, l'expression du HIF-1 s'est révélée être un puissant facteur de survie sans métastase et de survie sans récidive dans le carcinome du col utérin au stade IIIB chez les patientes qui ont été traitées par radiothérapie seule.

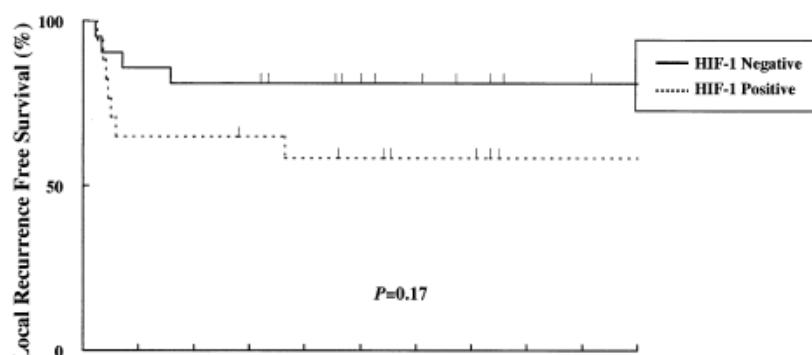
La survie sans récidive de 10 ans (a), la survie sans métastases (b), et les taux de survie locale sans récidive (c) pour les patients HIF-1-positifs étaient respectivement de 22,0%, 37,4% et 58,2% (figure 28).



(a)



(b)



(c)

Figure 28: Les courbes de survie des patients atteints de carcinome épidermoïde du col utérin stade IIIB selon l'expression de HIF-1 [120].

Les taux correspondants pour les patients de HIF-1-négatifs étaient respectivement 68,7%, 80,4% et 81,0%. Il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre les courbes de survie sans récidive locale, alors que des différences statistiquement significatives ont été observées dans la survie sans récidive et les courbes de survie sans métastases pour les deux groupes (respectivement $p = 0,04$ et $p = 0,03$) [120].

Le mécanisme final connu reliant l'activité de HIF-1 à la radiosensibilité tumorale implique la régulation de la radiosensibilité vasculaire. Cependant, trois des quatre effets médiés par HIF-1 décrits (amélioration de l'apoptose, du métabolisme et de la prolifération) aboutissent à la radiosensibilisation de la tumeur, tandis qu'un seul (la protection vasculaire) favorise la radiorésistance tumorale.

On pourrait prévoir alors, que le blocage de HIF-1 pourrait interférer avec la radiothérapie.

IV. 2 Marqueur angiogénique: VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor)

L'induction de l'angiogenèse est un mécanisme indispensable au développement des tumeurs au-delà de 1 à 2 cm de diamètre. Le VEGF joue un rôle central dans l'angiogenèse. C'est une cytokine à action paracrine, ce qui signifie que ce facteur agit sur les cellules endothéliales adjacentes des cellules où a lieu sa synthèse. C'est une glycoprotéine homodimérique de 34-36 kDa, liant l'héparine, dont la séquence présente de faibles analogies avec les chaînes A et B du facteur de croissance plaquettaire. Il est l'un des gènes sensibles à l'hypoxie, régulée à la hausse par l'augmentation des niveaux de HIF-1 [121].

IV.2.1 Structure

La structure du VEGF comporte un peptide signal qui lui permet d'être sécrété. Le gène codant pour le VEGF est composé de huit exons. Quatre formes du peptide sont produites par épissage alternatif; elles comprennent respectivement 121, 165, 189 et 206 acides aminés chez l'homme. Les formes murines possèdent un acide aminé en moins. L'exon 6 code pour une séquence cationique de 24 acides aminés qui confère aux formes longues de VEGF la propriété de se lier à des structures polyanioniques de la matrice extracellulaire. Les différentes formes de VEGF reconnaissent deux récepteurs à activité tyrosine kinase de la famille Fms.

IV.2.2 Expression et régulation

Chez l'adulte, le VEGF est produit dans de nombreux tissus normaux, en particulier les reins, le cœur et les poumons. Sa synthèse n'est pas forcément associée à une angiogenèse importante.

Un des aspects les plus remarquables de la régulation de l'expression du VEGF est sa sensibilité aux conditions d'hypoxie.

L'induction hypoxique du VEGF est bloquée par des inhibiteurs de tyrosine kinase (génistéine) et semble faire intervenir les proto-oncogènes c-Src et Raf-1

[122]. Cette action serait inhibée par le gène suppresseur de tumeurs (P53) [123].

Le myocarde est une source importante de VEGF dans l'organisme; la synthèse de VEGF par des myocytes cardiaques est fortement stimulée par l'hypoxie *in vivo* et *in vitro* [124,125].

IV.2.3 Mécanisme d'action

Sous l'action du VEGF, des cellules progénitrices nommées angioblastes, situées dans le stroma, donnent naissance à des cellules endothéliales. Celles-ci s'organisent pour former des tubes capillaires primitifs d'une section habituellement constituée de 3 cellules.

L'interaction du VEGF avec ses récepteurs exprimés par les cellules endothéliales déclenche une série de réactions qui vont aboutir à la création d'un nouveau vaisseau à partir du vaisseau parental.

Dans un premier temps, le VEGF provoque la perte de contact entre les cellules endothéliales et les péricytes, et la perméabilité vasculaire augmente. Cette perméabilisation libère du sérum et des protéines plasmatiques qui vont contribuer à la formation d'une matrice extracellulaire dans laquelle le néo-vaisseau pourra s'intégrer. La membrane basale du vaisseau parental est ensuite détruite sous l'effet de collagénases, de protéases et de l'activateur du plasminogène. Des cellules endothéliales sont alors libérées et leur prolifération conduit à la formation d'un nouveau vaisseau bourgeonnant à partir du vaisseau parental [126].

IV.2.4 Effets biologiques

Le VEGF est une cytokine pro-angiogénique connue pour stimuler la prolifération et la migration des cellules endothéliales et pour favoriser la perméabilité des vaisseaux.

L'activation de son récepteur par le VEGF entraîne toute une série d'événements cellulaires et intracellulaires. Au niveau intracellulaire, le VEGF

intervient dans la production du monoxyde d'azote (NO). Il provoque la prolifération et la migration des cellules endothéliales, sur lesquelles il exerce également un effet anti-apoptotique. Il inhibe les cellules dendritiques et mobilise les cellules progénitrices des cellules endothéliales.

La radiosensibilité des cellules endothéliales au sein d'une tumeur, semble être fortement dépendante de leur exposition à des stimulants pro-angiogéniques.

Une étude a montré que le VEGF pourrait induire l'extravasation des protéines plasmatiques fournies par la matrice pour la croissance des cellules tumorales et la mise en place d'un nouveau réseau capillaire en améliorant la perméabilité vasculaire [127].

Plusieurs études [128] ont démontré que des niveaux élevés de HIF-1 et l'expression du VEGF dans les cellules tumorales sont en corrélation avec un plus grand potentiel de malignité et des caractéristiques de croissance plus agressives.

Il a été montré que le VEGF joue un rôle clé dans l'angiogenèse tumorale. La plus grande étude évaluant la valeur pronostique des concentrations sériques de VEGF publiées par Zusterzeel et al. [129] a prouvé la corrélation entre les niveaux de VEGF sérique et la réponse aux différents traitements [130].

L'analyse de la régression logistique des facteurs qui influent sur l'effet thérapeutique a montré que la taille de la tumeur et le niveau de VEGF sérique avant le traitement ont été des facteurs de risque indépendants affectant l'effet thérapeutique. En effet, plus le taux de VEGF sérique est élevé, moindre est l'effet thérapeutique lorsque la tumeur est de taille > 4 cm.

L'augmentation des taux de VEGF sérique avant le traitement pourrait indiquer un risque plus élevé d'échec thérapeutique chez les patientes atteintes de cancer modéré ou avancé recevant en même temps une radiothérapie et une chimiothérapie.

IV.3 Marqueurs métaboliques

IV.3.1 AC IX (Anhydrase carbonique IX)

Les anhydrases carboniques (AC) représentent une famille de 16 protéines enzymatiques (métalloenzymes zinc) dont la distribution tissulaire varie selon l'isoforme et permettent l'hydratation réversible d'une molécule de CO₂ en HCO₃⁻ + H⁺ [131].

L'anhydrase carbonique type IX (AC-IX) est une glycoprotéine transmembranaire, de 54 à 58 kDa, qui a été identifiée comme un antigène MN par Zavada et al. en 1993 [132].

L'AC-IX situé sur le chromosome 9p13.3 est un biomarqueur de plusieurs types de tumeurs humaines, à savoir les carcinomes du col de l'utérus, du rein, de l'œsophage et de l'estomac, du colon, de la tête et du cou, du poumon, et du sein.

IV.3.1.1 Structure

La structure globale des isoformes des anhydrases carboniques est similaire. Le site actif est en forme de cône avec à son sommet l'ion zinc II, coordonné à trois résidus d'histidine. A proximité du zinc, une poche à résidus hydrophiles et une poche à résidus hydrophobes sont définies. Leur composition en acides aminés est proche d'une isoforme à une autre [133].

IV.3.1.2 Expression et régulation

L'expression de l'AC IX est physiologiquement restreinte à la muqueuse gastrique de l'estomac, du duodénum, de l'intestin grêle et de l'arbre biliaire. Deux isoformes de l'AC sont surexprimées dans certains cancers. La première est l'AC-IX, caractérisée par Pasterokeva et son équipe en 1992; la seconde est l'AC-XII [134].

L'AC-IX est très peu exprimée dans les cellules saines, par contre, elle est surexprimée dans les cellules cancéreuses (notamment dans les tumeurs solides), suggérant la possibilité d'une action thérapeutique sélective.

L'expression de l'AC-IX est contrôlée par le HIF-1 et est régulée à la hausse dans des régions hypoxiques des tissus tumoraux. L'expression de l'AC-IX a été associée à la densité des micro-vaisseaux et à l'hypoxie dans les cellules cancéreuses épidermoïdes de la tête et du cou et avec le stade de la tumeur et la métastase du ganglion lymphatique dans le cancer du col de l'utérus [135].

Bien que le "silencing" de l'AC-IX par technique de siRNA inductible a permis de ralentir la progression tumorale in vitro, la sous-expression de l'AC-IX n'entraîne pas de mort cellulaire, à cause, en partie, de la surexpression concomitante de l'AC-XII [136].

IV.3.1.3 Mécanisme d'action

L'AC-IX catalyse la réaction d'hydratation du dioxyde de carbone. Lors de cette réaction, elle favorise les phénomènes d'invasion et de migration cellulaire.

Par ailleurs, elle participe à l'acidification du milieu extracellulaire ce qui contribue à l'induction d'une chimiorésistance en diminuant l'efficacité des agents anticancéreux, comme certains inhibiteurs de topoisomérasées.

En 1930, Otto Warburg a démontré que les tumeurs convertissent préférentiellement le glucose en acide lactique, même dans des conditions normoxiques. Cette anomalie métabolique a été confirmée pour les gliomes in vitro et in vivo.

Cette circonstance crée une charge acide spécifique de la tumeur, ce qui devrait provoquer une acidose intracellulaire dans les tumeurs cérébrales. Il a démontré que l'hypoxie est un changement environnemental commun dans les tumeurs malignes [137].

L'AC-IX et XII peuvent sauver les cellules tumorales de la mort cellulaire apoptotique par le désaccouplement de l'hypoxie et une acidose.

IV.3.1.4 Effets biologiques

L'AC-IX joue un rôle dans la régulation de l'homéostasie du pH par la catalyse de l'hydratation réversible du dioxyde de carbone [138].

L'expression de l'AC-IX dans les tissus cancéreux et son absence dans les homologues normaux suggèrent un rôle dans la carcinogenèse.

L'AC-IX est non seulement émergeante en tant qu'un important bio-marqueur impliqué dans la carcinogenèse mais son expression semble être induite par l'hypoxie.

La régulation du pH intracellulaire et extracellulaire de AC-IX est au centre de sa capacité à moduler un grand nombre de processus de tumorigénèse et métastatiques, y compris la survie cellulaire, la prolifération et l'invasion.

De façon générale, la surexpression de l'AC-IX est souvent associée à une faible réponse des thérapies classiques de radiothérapie ou de chimiothérapie.

De récentes études ont démontré que l'AC-IX joue un rôle essentiel dans la carcinogenèse, et elle est surexprimée dans divers tumeurs, incluant le cancer épidermoïde et l'adénocarcinome du col [139].

Dans le cas du carcinome du col, des études préliminaires ont montré que l'expression de l'AC-IX est régulée à la hausse dans les régions hypoxiques de tumeurs cervicales et est associée à un mauvais pronostic.

Plus récemment, Liao et autres ont rapporté que l'immunocytochimie de AC-IX a détecté les lésions glandulaires endocervicales significatives dans 95 % de la population japonaise et dans 100 % de la population des Etats-Unis, indiquant que l'AC-IX est un marqueur prometteur aussi bien pour l'adénocarcinome lié à HPV que pour l'adénocarcinome indépendant, y compris le GAS (gastric-type adenocarcinoma) du col de l'utérus [140].

Cependant, d'autres rapports ont également indiqué qu'il n'y avait aucune association entre l'expression de l'AC-IX et les résultats cliniques dans le cancer du col de l'utérus transitoire, le carcinome des cellules de la vessie, ou du cancer épidermoïde de la tête et du cou.

Une étude confirme l'observation selon laquelle la forte expression de l'AC-IX était associée à un mauvais résultat clinique.

Elle a défini des niveaux élevés d'expression de l'AC-IX à plus de 80 % dans les cellules tumorales, sur une coupe de tissu entier, présentant une forte immunoréactivité à l'AC-IX parce que cela représente une distribution diffuse uniforme d'hypoxie dans tout le carcinome.

Les femmes présentant de fortes expressions de l'AC-IX avaient un risque accru de progression de la maladie et de décès.

L'expression de CA-IX n'a pas été associée à l'âge, à la race, au stade, au type de cellules, à la catégorie, aux marges positives, aux extensions paramétriales, aux ganglions lymphatiques positifs ou à l'invasion de l'espace lymphovasculaire, corrélant avec les publications antérieures.

Cependant, le niveau d'expression de CA-IX est corrélé avec la taille de la tumeur et la profondeur d'invasion du col. Ces résultats sont biologiquement plausibles étant donné que l'expression de CA-IX serait induite par transcription médiée par HIF lorsque la capacité de diffusion du système vasculaire tumoral est dépassé étant donné que la tumeur augmente de taille et envahit plus profondément les tissus environnants [141].

IV.3.2 Glucose transport 1 : GLUT-1

La première étape cinétiquement limitante du métabolisme du glucose est le transport du glucose à travers la membrane plasmique. La famille de protéines GLUT est responsable de cette fonction. Le membre le plus important de cette famille dans les cellules tumorales est le GLUT-1 [142].

Le GLUT-1 est responsable du transport de base de glucose à travers la membrane plasmique dans le cytosol de nombreuses cellules cancéreuses, ce qui constitue une étape limitant la vitesse dans le métabolisme du glucose.

IV.3.2.1 Expression et régulation

Le gène de GLUT-1 est exprimé dans pratiquement tous les tissus de l'organisme. La protéine GLUT-1 a été initialement mise en évidence dans les globules rouges et le cerveau (cellules endothéliales des capillaires). Elle est

également présente dans certains tissus sensibles à l'insuline comme le muscle squelettique etc.

Cette isoforme est localisée essentiellement au niveau de la membrane plasmique des cellules et en faible quantité dans une fraction microsomale intracellulaire. Le GLUT-1, qui présente une faible vitesse de transport du glucose (d'environ 2 Mm/Km) est saturable pour des glycémies physiologiques chez l'homme (5.5 mM). Ainsi cette isoforme assure le transport basal du glucose dans la cellule et alimente le flux glycolytique nécessaire à la survie des cellules.

Le GLUT-1 est surexprimé dans de nombreuses tumeurs, notamment hépatique, pancréatique, du sein, de l'œsophage, du cerveau, du rein, du poumon, cutanée, colorectale, de l'endomètre, de l'ovaire, et cancers cervicaux [143].

IV.3.2.2 Mécanisme d'action

Comme décrit par Warburg il y a plus de 50 ans, les cellules tumorales maintiennent un taux élevé de glycolyse, même dans des conditions d'approvisionnement suffisant en oxygène [144], et le phénotype de la glycolyse dans les tumeurs malignes corrèle étroitement avec la radiorésistance [145]. Il a été conclu que la glycolyse améliorait la radiorésistance via trois mécanismes : en premier lieu, lorsque le rayonnement ionisant est absorbé dans les tissus, des radicaux libres et des ROS sont produits par suite de l'ionisation soit directement dans la molécule d'ADN elle-même ou indirectement dans d'autres molécules cellulaires, principalement la molécule d'eau (H_2O). Tant les radicaux libres que les ROS peuvent rompre les liaisons chimiques et initier la chaîne d'événements entraînant des dommages de l'ADN. Outre le mécanisme de protection de l'hypoxie, les cellules tumorales contrent l'action directe et indirecte de la radiothérapie par la surexpression de leur capacité antioxydante endogène par l'accumulation de pyruvate, de lactate et du couple redox glutathion/glutathion

disulfure et NADPH/NADP⁺. Ces molécules, qui sont des produits du métabolisme du glucose, constituent un réseau tampon redox intracellulaire qui nettoie efficacement les radicaux libres et les ROS [145]. Cette adaptation redox est une conception importante du mécanisme qui explique pourquoi les cellules cancéreuses deviennent résistantes à la radiothérapie.

En second lieu, la glycolyse peut fournir l'ATP pour les fonctions physiologiques des cellules cancéreuses. Les cellules tumorales ont besoin d'un vaste système vasculaire pour leur approvisionnement en nutriments et en oxygène, mais l'oxygène ne peut pas diffuser au-delà d'environ 150 µm à travers les tissus. Comme la croissance de la tumeur dépasse son système vasculaire, les cellules deviennent hypoxiques.

En raison de leur environnement intrinsèquement hypoxique, les cellules cancéreuses ont souvent recours à la glycolyse, ou à la décomposition en anaérobiose du glucose pour former l'ATP pour subvenir à leurs besoins en énergie [146].

Liu et al. ont montré qu'une inhibition de GLUT-1 diminue les taux d'ATP aboutissant à une viabilité réduite des cellules cancéreuses *in vitro*, ce qui inhibe la croissance tumorale dans des modèles de tumeurs *in vivo*. L'addition d'ATP sauve les cellules cancéreuses avec GLUT-1 inhibé, ce qui suggère que l'inhibition de la glycolyse a un effet anti-cancéreux partiellement à travers la déplétion de l'ATP [147].

D'autres études précliniques qui bloquent le métabolisme du glucose d'une tumeur à différents niveaux se sont révélées diminuer le niveau de l'ATP et radiosensibilités différentes tumeurs solides [145].

La glycolyse en aérobie ne génère que deux molécules d'ATP par molécule de glucose, tandis que la phosphorylation oxydative génère jusqu'à 36 molécules d'ATP par oxydation complète d'une molécule de glucose. Cependant, les cellules tumorales sont exposées à un apport continu de glucose dans le sang et l'ATP produit par la glycolyse en aérobie en circulation est abondante pour ses

besoins. Par conséquent, les cellules tumorales passent à cette glycolyse en aérobie moins efficace pour satisfaire le métabolisme anabolique [148]. Tous ces avantages soutiennent l'idée que la glycolyse en aérobie permet aux cellules cancéreuses d'acquérir potentiellement plus de radiorésistance.

VI.3.2.3 Effets biologiques

Dans les études d'avant-garde dans les années 1920, Otto Warburg a observé que les cancers possèdent une remarquable capacité à maintenir des taux élevés d'anaérobiose comme la glycolyse, même en présence d'oxygène : c'est l'effet Warburg. De nombreuses études ont certifié que le métabolisme glycolytique dans les tumeurs malignes est en corrélation avec la radiorésistance [149]. La découverte que les tumeurs métabolisent les sucres à un taux plus élevé que les tissus normaux a été faite il y a plus de 70 ans. Depuis lors, les applications diagnostiques et thérapeutiques de ce phénomène ont été recherchées. Nous savons maintenant que l'expression accrue de GLUT-1 est non seulement trouvée dans une grande variété de types de tumeurs, mais prédit toujours un mauvais pronostic [150]. En outre, l'identification de l'HRE (hypoxie-réponse-éléments) dans le GLUT-1 promotor a conduit à sa validation ultérieure en tant que marqueur intrinsèque de l'hypoxie.

Une étude a montré que, les niveaux d'expression de GLUT-1 étaient inversement corrélés avec une réponse au rayonnement et la différence était également significative lorsque le groupe d'étude résistant aux rayonnements ionisants a été divisé en trois sous-groupes. Plus important encore, les patients ayant une faible expression de GLUT-1 étaient beaucoup bien portant que ceux avec une forte expression, et la surexpression de GLUT-1 peut être considérée comme un facteur prédictif significatif de mauvaise survie.

Des expériences *in vitro* et des études de xénogreffes de tumeurs rapportées par Pedersen et al. affirment que l'expression de GLUT-1 joue un rôle indépendant de l'hypoxie dans la modulation de la sensibilité aux radiations et

ont démontré un lien entre l'expression de GLUT-1 et la résistance aux radiations dans deux lignées cellulaires (CPH-54A et CPH-54B) dérivées d'un seul carcinome à petites cellules du poumon [151].

Toutes ces études ont fourni un appui à l'hypothèse que la fonction de GLUT-1 affecte directement la radiosensibilité des cellules cancéreuses.

Plus récemment, la surexpression de GLUT-1, représentant un mécanisme de base qui peut contribuer à un métabolisme accru du glucose, a été bien documentée dans les tumeurs solides humaines [152]. Malgré de légères différences dans la procédure de coloration, le type d'analyse et les valeurs de coupure, toutes ces études ont uniformément associé la surexpression de GLUT-1 avec l'agressivité tumorale accrue et des résultats cliniques défavorables. Considérant que des preuves cliniques écrasantes ont été accumulées attestant de l'importance biologique de GLUT-1 dans les tumeurs solides et que le phénotype de la glycolyse est en corrélation marquée avec la radiorésistance, cela laisse supposer qu'il existe une certaine relation entre la surexpression de GLUT-1 et la radiorésistance. En fait, il a été suggéré que l'inhibition de GLUT-1 régule à la baisse la glycolyse avec une diminution du taux de l'absorption du glucose, induit l'arrêt du cycle cellulaire, et supprime la prolifération des cellules cancéreuses *in vitro* et *in vivo* [151].

CONCLUSION

Le cancer du col de l'utérus est un cancer très souvent curable avec un taux de survie de près de 85 % aux stades I et II, et de plus de 50 % en cas de tumeur évoluée. Le taux de contrôle locorégional s'est amélioré ces dernières années grâce au schéma de chimioradiothérapie et à l'optimisation de la curiethérapie utérovaginale. L'incidence standardisée sur l'âge des CIC en Afrique subsaharienne est l'une des plus élevées au monde.

Au Sénégal, il n'existe pas de registre de cancer du col utérin. Cependant une étude épidémiologique effectuée à l'institut Curie de Dakar a montré que la prévalence du cancer du col de l'utérus était de 240 cas en 2001.

En plus, l'étude de Ferlay et al. en 2008 a montré que le Sénégal est caractérisé par une incidence et un taux de mortalité de cancer du col de l'utérus très élevé et occupe le 17^{ième} rang au niveau du continent Africain.

Le cancer du col de l'utérus est le cancer prédominant chez les femmes en Afrique de l'Est, en Asie du Sud-Est et en Mélanésie, alors qu'elle est la cause la plus fréquente de décès par cancer en Afrique de l'Est, au Moyen-Orient, en Afrique de l'Ouest; en Amérique centrale; en Asie du Sud-Central et en Mélanésie.

Le traitement du cancer du col de l'utérus repose de manière standard sur la chirurgie, tandis que les cancers du col de l'utérus à des stades évolués nécessitent le recours à la radiothérapie associée ou non à la chimiothérapie.

Cependant, il existe de plus en plus d'échecs de traitement par radiothérapie. Cette radiorésistance est essentiellement associée à un facteur appelé hypoxie en majorité responsable de la surexpression de marqueurs de radiorésistance tels que le HIF-1 α , le VEGF, l'AC-IX, le GLUT-1, etc.

Les progrès des techniques moléculaires, immunohistochimiques, et immunologiques ont permis l'identification et la validation des biomarqueurs avec de nombreuses caractéristiques biologiques dans les cellules tumorales.

Ce travail a permis d'évaluer les mécanismes d'action des différents marqueurs, de révéler le rôle clé de l'hypoxie et de chacun de ces marqueurs

dans la survenue de la radiorésistance, et de suggérer les éventuelles corrélations entre ces différents marqueurs dans la radiorésistance.

Le HIF-1 est le médiateur le plus important de la transduction du signal de l'hypoxie, qui contrôle l'expression de plus de 100 gènes et exerce divers impacts sur la radiosensibilité des cellules tumorales. Les cellules tumorales sont faites pour être hypoxiques dans un milieu limité en glucose, sans l'aide de l'effet favorisant la glycolyse de HIF-1, leur métabolisme baisse, les taux d'ATP chutent, et la clonogénicité augmente *in vitro*.

Les biomarqueurs de la résistance ou de la sensibilité à la radiothérapie sont intéressants pour leur rôle potentiel dans la conception de stratégies thérapeutiques personnalisées ciblant les vulnérabilités des tumeurs individuelles.

La forte toxicité associée à l'échec de la prise en charge des formes avancées du cancer du col de l'utérus par les traitements conventionnels obligent à trouver des stratégies alternatives, plus ciblées et qui tiennent compte de l'hétérogénéité tumorale.

Étant donné que le rayonnement ionisant est un composant indispensable dans le traitement du cancer du col utérin, et que l'échec du traitement par rayonnement est courant et attribué principalement à la radiorésistance tumorale, la prédiction d'une réponse tumorale par la mise en évidence de biomarqueurs de radiorésistance aux rayonnements ionisants avant le début du traitement serait un atout pour la planification du traitement.

Les programmes traditionnels de traitement pourraient être modifiés selon l'état de radiorésistance: les patients atteints de tumeurs radiorésistantes pourraient être traités avec des protocoles mettant l'accent sur la chirurgie et la chimiothérapie, et les stratégies de radiosensibilisation pourraient être préférentiellement utilisées chez les patientes présentant une radiorésistance tumorale.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

1. JEMAL A; BRAY F; MELISSA M; FERLAY J.

Global Cancer Statistics. *CA CANCER J CLIN*, 2011, **61**, p 69–90.

2. WEST CM, DAVIDSON SE, ROBERTS SA, HUNTER RD.

The independence of intrinsic radiosensitivity as a prognostic factor for patient response to radiotherapy of carcinoma of the cervix. *Br J Cancer* 1997; **76**(9):1184-1190.

3. HAVERKOS H W.

Multifactorial Etiology of Cervical Cancer: A Hypothesis. *MedGenMed*, 2005; **7**, 57p.

4. CURADO MP, EDWARDS B, SHIN HR, STORM H, FERLAY J.

Cancer Incidence in Five Continents Vol. IX. IARC Scientific publications No.160. Lyon, 2007.

5. MONSONEGO J.

Infections à papillomavirus. État des connaissances, pratiques et prévention vaccinale. Springer. Paris, 2006.

6. FERLAY J, SHIN HR, BRAY F, FORMAN D, MATHERS CD, PARKIN D.

Cancer Incidence and Mortality, GLOBOCAN 2008.

7. ZHAO FH, HU SY, ZHANG SW, et al (2010).

Cervical cancer mortality in 2004 - 2005 and changes during last 30 years in China. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi*, **44**, 408-12.

8. SHI JF, QIAO YL, SMITH JS, et al (2008).

Epidemiology and prevention of human papillomavirus and cervical cancer in China and Mongolia. *Vaccine*, **26**, M53-9.

9. JING LI, LE-NI KANG, YOU-LIN QIAO1. Review of the Cervical Cancer Disease Burden in Mainland China. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, Vol 12, 2011, 1149-1153

10. BOYLE P, FERLAY J.

Cancer incidence and mortality in Europe, 2004. *Ann Oncol* 2005; **16**(3):481-8.

11. ARBYN M, RAIFF AO, AUTIER P, FERLAY J.

Burden of cervical cancer in Europe: estimates for 2004. *Ann Oncol* 2007; **18**(10):1708-15.

12. GUIZARD AV, TRETARRE B.

Col de l'utérus. In: Réseau français des registres de cancer, Hospices civils de Lyon, Inserm, Invs, eds. Estimation de l'incidence et de la mortalité par cancer en France de 1980 à 2005. Francim, HCL, Inserm, InVS. Saint-Maurice, 2008.

13. BELOT A, GROSCLAUDE P, BOSSARD N, JOUGLA E, BENHAMOU E, DELAFOSSE P, et al.

Cancer incidence and mortality in France over the period 1980-2005. Rev Épidemiol Santé Publique 2008

14. US Mortality Public Use Data Tapes 1960-2000, US Mortality Volumes 1930-1959, National Center for Health Statistics, Centers for Disease Control and Prevention; 2003.

15. DEM A, DIENG MM, TRAORE B, GAYE M, DIOP M, TOURE P.
2008.

Les carcinomes épidermoïdes du col utérin à l'Institut du cancer de Dakar. *Cahiers Santé*, **18**(1):31-33.

16. ARBYN M., CASTELLSAGUE X, DE SANJOSE S, BRUNI L, SARAIYA M, BRAY F, FERLAY J.

Worldwide burden of cervical cancer in 2008. *Annals of Oncology*, 2011, **22**: 2675-2686.

17. www.fondsanticancer.org. Consulté le 01.07.2016.

18. DACHEZ, 2008

J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris). 2008 Feb; 37 Suppl 1:S152-4. doi: 10.1016/j.jgyn.2007.11.023. Epub 2008 Jan 11. Review. French.

19. www. sante-medecine.com et Aubin, 2003. Consulté le 01.07.2016.

20. AGIUS G.

Infection à papillomavirus du cancer du col de l'utérus. Communication personnelle, 2006.

21. DE VILLIERS EM, FAUQUET C, BROKER TR, BERNARD HU, ZUR HAUSEN H.

Classification of papillomaviruses. *Virology* 2004; **324**(1):17-27.

22. MUÑOZ N, CASTELLSAGUE X, DE GONZALEZ AB, GISSMANN L.

Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer. *Vaccine* 2006; **24**(Suppl 3): S1-S10.

23. KOSHIOL J, LINDSAY L, PIMENTA JM, et al.

Persistent human papillomavirus infection and cervical neoplasia: a systematic review and meta-analysis. *Am J Epidemiol.* 2008; **168**:123–137.

24. PETO J, GILHAM C, DEACON J, TAYLOR C, ÉVANS C, BINNS W, et al.

Cervical HPV infection and neoplasia in a large population-based prospective study: the Manchester cohort. *Br J Cancer* 2004; **91**(5):942-53.

25. MEDEIROS R, PRAZERES H, PINTO D et al.

Characterization of HPV genotype profile in squamous cervical lesions in Portugal, a southern European population at high risk of cervical cancer. *Eur J Cancer Prev* 2005; **14**(5):467-471.

26. ANNA R. GIULIANO, GABRIELLA ANIC, AND ALAN G. NYITRAY.

Epidemiology and pathology of HPV disease in males. *Gynecol Oncol.* 2010 May ; **117**(2 0): S15–S19.

**27. R. MUNAGALA, H. KAUSAR, C. MUNJAL, R.C. GUPTA,
WITHAFERIN A.**

Induces p53-dependent apoptosis by repression of HPV oncogenes and upregulation of tumor suppressor proteins in human cervical cancer cells. *Carcinogenesis* **32** (2011) 1697-1705.

28. RIETHMULLER D, SCHAAAL JP, MOUGIN C.

Épidémiologie et histoire naturelle de l'infection génitale à papillomavirus humain. *Gynecol Obstet Fertil* 2002; **30**(2):139-46.

29. HOWLEY, P. M. 1996.

Papillomavirinae: the viruses and their replication, p. 947–978.

30. LEPIQUE AP, RABACHINI T, VILLA LL.

HPV vaccination: The beginning of the end of cervical cancer? - A Review. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2009; **104**(1):1–10.

**31. SONIA L. GONZALEZ, MATT STREMLAU, XI HE, JOHN R.
BASILE, AND KARL MUUNGER.**

Degradation of the Retinoblastoma Tumor Suppressor by the Human Papillomavirus Type 16 E7 Oncoprotein Is Important for Functional Inactivation and Is Separable from Proteasomal Degradation of E7. *JOURNAL OF VIROLOGY*, 2001, p. 7583–7591.

32. HALAZONETIS TD, GORGOULIS VG, BARTEK J.

Science 2008 Mar 7; **319**(5868): 1352-5.

33. COBRINIK, D. 2005.

Pocket proteins and cell cycle control. *Oncogene* **24**: 2796–2809.

**34. SARRAF Z, HAMEDI B, HOOSHMAND S, MOSALAIE A,
ROBATI M, MOMTAHAN M, et al.**

The effect of extrafascial hysterectomy after completion of external beam radiotherapy for treatment of locally advanced stages (IIB-III) of Cervical Cancer. *Iran Red Crescent Med J.* 2013; **15**(12).

35. WRIGHT VC.

Salud Publica Mex. 2003; 45 Suppl 3:S417-29. Review.

36. Hantz, 2006

37. OSTÖR AG.

Studies on 200 cases of early squamous cell carcinoma of the cervix. *Int J Gynecol Pathol.* 1993 Jul; 12(3):193-207.

38. LANLAN WEI, ANASTACIA M.GRIEGO, MING CHU AND MICHELLE A. OZBUN.

Tobacco exposure results in increased E6 and E7 oncogene expression, DNA damage and mutation rates in cells maintaining episomal human papillomavirus 16 genomes. *Carcinogenesis vol.35 no.10 pp.2373–2381, 2014.*

39. STENSEN S, KJAER SK, JENSEN SM, et al.

Factors associated with typespecific persistence of high-risk human papillomavirus infection: A population-based study. *Int J Cancer.* 2016; 138:361–368.

40. APPLEBY, P. et al. (2006)

Carcinoma of the cervix and tobacco smoking: collaborative reanalysis of individual data on 13,541 women with carcinoma of the cervix and 23,017 women without carcinoma of the cervix from 23 epidemiological studies. *Int. J. Cancer, 118, 1481–1495.*

41. MELIKIAN A.A. et al. (1999)

Identification of benzo[a]pyrene metabolites in cervical mucus and DNA adducts in cervical tissues in humans by gas chromatography-mass spectrometry. *Cancer Lett., 146, 127–134.*

42. LANLAN WEI, ANASTACIA M.GRIEGO, MING CHU AND MICHELLE A. OZBUN

Tobacco exposure results in increased E6 and E7 oncogene expression, DNA damage and mutation rates in cells maintaining episomal human papillomavirus 16 genomes. *Carcinogenesis vol.35 no.10 pp.2373–2381, 2014.*

43. HECHT, S.S. (2003)

Tobacco carcinogens, their biomarkers and tobaccoinduced cancer. *Nat. Rev. Cancer*, **3**, 733–744.

44. MOTTILLO S, FILION KB, GENEST J, et al.

The metabolic syndrome and cardiovascular risk a systematic review and meta-analysis. *J Am Coll Cardiol.* 2010; **56**:1113–1132.

45. STOCKS T, BJORGE T, ULMER H, et al.

Metabolic risk score and cancer risk: pooled analysis of seven cohorts. *Int J Epidemiol.* 2015; **44**:1353–1363.

46. ULMER H, BJORGE T, CONCIN H, et al.

Metabolic risk factors and cervical cancer in the metabolic syndrome and cancer project (MeCan). *Gynecol Oncol.* 2012; **125**:330–335.

47. BROMBERG-WHITE JL, MEYERS C.

Comparison of the basal and glucocorticoid-inducible activities of the upstream regulatory regions of HPV18 and HPV31 in multiple epithelial cell lines. *Virology* 2003; **306**: 197–202.

48. KAMRADT MC, MOHIDEEN N, KRUEGER E, et al.

Inhibition of radiation-induced apoptosis by dexamethasone in cervical carcinoma cell lines depends upon increased HPV E6/E7. *Br J Cancer* 2000; **82**: 1709–1716.

49. HERR I, GASSLER N, FRIESS H, et al.

Regulation of differential pro and anti-apoptotic signaling by glucocorticoids. *Apoptosis* 2007; **12**: 271–291.

50. <http://www.e-cancer.fr/>.

51. DORIS B, BOYER L, LAVOUE V, RIOU F, HENNO S, TAS P, SEVENE L, LEVEQUE J.

Cervical papsmear in an epidemiologically exposed population: Ideas, facts and arguments. *JGO B R*, 2014, **43**, P. 26-34.

52. MAZERON J. J, LOCOCHE T, MAUGIS A.

Techniques d'irradiation des cancers. Edition VIGOT, Paris, 1992, 2-7114-1188-5.

53. MAGNE J R, MARTY R M M.

Biophysique-physico-chimie/physique: Rappels de cours, exercices et QCM corrigés. Ellipses, 1991, 432 p, 2-7298-91-40-4

54. GALY G, FRAYSSE M.

Radiopharmacie et médicaments radiopharmaceutique. *Lavoisier, 2012, 438, p 978-2-7430-1443-8.*

55. GALLE P, PAULIN R.

Biophysique-radiobiologie-radiopathologie. *Masson, Paris, 2000, 253, p 2-225-85636-2.*

56. GIORMINI MARION

Inhibition des protéines anti-apoptotiques de la famille Bcl-2 par l'ABT-737 : intérêt pour le traitement des cancers des voies aérodigestives supérieures. Thèse de doctorat : Biologie et Oncologie. Lyon: Ecole Doctorale Interdisciplinaire Sciences Et Santé, 2015, 271 p.

57. DOUKI T, RAVANAT JL, POUGET JP et al.

Minor contribution of direct ionization to DNA base damage induced by heavy ions. *Int J Radiat Biol, 2006, 82, p 119-127.*

58. BENSASSON, R. V., LAND, E. J. & TRUSCOTT, T. G. (1993)

Light and ionizing radiation: generation of excited states and radicals. Dans Excited States and Free Radicals in Biology and Medicine pp. 249-289, Oxford University Press, New York.

59. SYMONS, M. C. R. (1994)

Direct and indirect damage to DNA by ionising radiation. *Radiat. Phys. Chem. 43, 403-405.*

60. WARD, J. F. (1988)

DNA damage produced by ionizing radiation in mammalian cells: identities, mechanism of formation and repairability. *Prog. Nucleic Acids Res. Mol. Biol.* **35**, 95-125.

61.GOODHEAD, D. T. (1994)

Initial events in the cellular effects of ionizing radiations: clustered damage in DNA. *Int. J. Radiat. Biol.* **65**, 7-17.

62.HOLLEY, W. R. AND CHATTERJEE, A. (1996)

Clusters of DNA damage induced by ionizing radiation: formation of short DNA fragments. I. Theoretical modeling. *Radiat. Res.* **145**, 188-199.

63.EVANS MD, DIZDAROGLU M, COOKE MS.

Oxidative DNA damage and disease: induction, repair and significance. *Mutat Res.* **2004**, 567, p. 1-61.

64.DIKOMEY E, DAHM-DAPHI J, BRAMMER I, et al.

Correlation between cellular radiosensitivity and non-repaired double-strand breaks studied in nine mammalian cell lines. *Int J Radiat Biol.* **1998**, **73**, p. 269-278.

65.CADET J, DELATOUR T, DOUKI T, et al.

Hydroxyl radicals and DNA base damage. *Mutat Res.* **1999**, **424**, p. 9-21.

66.DIZDAROGLU, M. & GAJEWSKI, E. (1989)

Structure and mechanism of hydroxyl radical-induced formation of a DNA-protein cross-link involving thymine and lysine in nucleohistone. *Cancer Res.* **49**, 3463-3467.

67.PEARSON CG, SHIKAZONO N, THACKER J, et al.

Enhanced mutagenic potential of 8-oxo-7,8-dihydroguanine when present within a clustered DNA damage site. *Nucleic Acids Res.* **2004**, **32**, p. 263-270.

68. KUNKEL TA, ERIE DA.

DNA mismatch repair. *Annu Rev Biochem.* **2005**, **74**, p. 681-710.

69.KIM YJ, WILSON DM.

Overview of base excision repair biochemistry. *Curr Mol Pharmacol*, 2012, **5**, p. 3-13.

70.FOUSTERI M, MULLENDERS LH.

Transcription-coupled nucleotide excision repair in mammalian cells: molecular mechanisms and biological effects. *Cell Res*, 2008, **18**, p. 73-84.

71.SAN FILIPPO J, SUNG P, KLEIN H.

Mechanism of eukaryotic homologous recombination. *Annu Rev Biochem*, 2008, **77**, p. 229-257.

72.LIEBER MR.

The mechanism of double-strand DNA break repair by the nonhomologous DNA end-joining pathway. *Annu Rev Biochem*, 2010, **79**, p. 181-211.

73.SERIZAWA H, MÄKELÄ TP, CONAWAY JW, et al.

Association of Cdk-activating kinase subunits with transcription factor TFIIH. *Nature*, 1995, **374**, p. 280-282.

74.SEXL V, DIEHL JA, SHERR CJ, et al.

A rate limiting function of cdc25A for S phase entry inversely correlates with tyrosine dephosphorylation of Cdk2. *Oncogene*, 1999, **18**, p. 573-582.

75.NELSON WG, KASTAN MB.

DNA strand-breaks – The DNA template Alterations that trigger p53-dependant DNA damage response pathways. *Mol Cell Biol*, 1994, **14**, p. 1815-1823.

76.VOUSDEN KH, LANE DP.

p53 in health and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, **8**, p. 275-283.

77.HSU SL, HSU JW, LIU MC, et al.

Retinoic acid-mediated G1 arrest is associated with induction of p27 (Kip1) and inhibition of cyclin-dependent kinase 3 in human lung squamous carcinoma CH27 cells. *Exp Cell Res*, 2000, **258**, p. 322-331.

78. NILSSON I, HOFFMANN I.

Cell cycle regulation by the Cdc25 phosphatase family. *Prog Cell Cycle Res*, 2000, **4**, p. 107-114.

79. PETROCELLI T, POON R, DRUCKER DJ, et al.

UVB radiation induces p21Cip1/WAF1 and mediates G1 and S phase checkpoints. *Oncogene*, 1996, **12**, p. 1387-1396.

80. GRAVES PR, YU L, SCHWARZ JK, et al.

The Chk1 protein kinase and the Cdc25C regulatory pathways are targets of the anticancer agent UCN-01. *J Biol Chem*, 2000, **275**, p. 5600-5605.

81. PALAYOOR ST, MACKLIS RM, BUMP EA, et al.

Modulation of radiation-induced apoptosis and G2/M block in murine T-lymphoma cells. *Radiat Res*, 1995, **141**, p. 235-243.

82. HARADA, H.; HIRAOKA, M.

Hypoxia-inducible factor 1 in tumor radioresistance. *Curr. Signal Transduct Ther.* 2010, **5**, 188-196.

83. THOMLINSON, R.H., GRAY, L.H.

The histological structure of some human lung cancers and the possible implications for radiotherapy. *Br. J. Cancer* 1955, **9**, 539-549.

84. VAUPEL P, HOECKEL M.

Predictive power of the tumor oxygenation status. *Adv Exp Med Biol* 1999; **471**: 533-9.

85. SEMENZA GL, NEJFELT MK, CHI SM, ANTONARAKIS SE.

Hypoxia- inducible nuclear factors bind to an enhancer element located 3' to the human erythropoietin gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; **88**: 5680-4.

86. GOLDBERG MA, DUNNING SP, BUNN HF.

Regulation of the erythropoietin gene: evidence that the oxygen sensor is a hemeprotein. *Science* 1988; **242**: 1412-5.

87. JEROME DOYEN

Rôle des protéines de régulation du pH intracellulaire et du métabolisme énergétique dans les carcinomes du sein "triple négatif". Thèse de doctorat de Recherche clinique et thérapeutique. Nice : Antoine-Lacassagne, 2013, 110 p.

88. JIANG BH, RUE E, WANG GL, ROE R, SEMENZA GL.

Dimerization, DNA binding, and transactivation properties of hypoxia-inducible factor1. *J BiolChem* 1996; **271**:17771–8.

89. LI H, KOHP, WHITLOCK JP.

Induction of phosphoglycerate kinase 1 gene expression by hypoxia. Roles of Arntand HIF-1 α . *J BiolChem* 1996; **271**:21262–7.

90. YAMASHITA K, DISCHER DJ, HU J, BISHOPRIC NH, WEBSTER KA.

Molecular regulation of the endothelin-1 gene by hypoxia. Contributions of hypoxia-inducible factor-1, activator protein-1, GATA-2, AND p300/CBP. *J BiolChem* 2001; **276**:12645–53.

91. BRUICK RK, MC KNIGHT SL.

A conserved family of prolyl-4-hydroxylases that modify HIF. *Science* 2001; **294**:1337–40.

92. KALLIO PJ, PONGRATZI, GRADIN K, MCGUIRE J, POELLINGER L.

Activation of hypoxia-induciblefactor1 α : post transcriptional regulation and conformational change by recruitment of the Arnt transcription factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; **94**: 5667–72.

93. SALCEDA S, CARO J.

Hypoxia-inducible factor1 α (HIF-1 α) protein is rapidly degraded by the ubiquitin-proteasome system under normoxic conditions. Its stabilization by hypoxia depends on redox-induced changes. *J Biol Chem* 1997; **272**: 22642–7.

94. BERRA E, RICHARD DE, GOTHIE E, POUYSSEGUR J.

HIF-1-dependent transcriptional activity is required for oxygen-mediated HIF-1alpha degradation. *FEBS Lett* 2001; **491**:85-90.

95. JAAKKOLA P, MOLE DR, TIAN YM, et al.

Targeting of HIF-alpha to the von Hippel-Lindau ubiquitylation complex by O2-regulated prolyl hydroxylation. *Science* 2001; **292**: 468-72.

96. JEONG J-W, BAE M-K, AHN M-Y, KIM S-H, SOHN T-K, BAE M-H, et al.

Regulation and destabilization of HIF-1 α by ARD1-mediated acetylation. *Cell* 2002; **111**:709–20.

97. MAXWELL PH, WIESENER MS, CHANG GW, CLIFFORD SC, VAUX EC, COCKMAN ME, et al.

The tumour suppressor protein VHL targets hypoxia-inducible factors for oxygen-dependent proteolysis. *Nature* 1999; **399**: 271–5.

98. CHAN JOO YEOM 1, LIHUA ZENG, YUXI ZHU, MASAHIRO HIRAKAWA AND HIROSHI HARADA.

Strategies to Assess Hypoxic/HIF-1-Active Cancer Cells for the Development of Innovative Radiation Therapy. *Cancers* 2011, **3**, 3610-3631; doi: 10.3390/cancers3033610.

99. WANG GL, JIANG BH, RUE EA, SEMENZA GL.

Hypoxia-inducible factor 1 is a basic helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O2 tension. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; **92**: 5510–5514.

100. B.J. MOELLER, Y. CAO, C.Y. LI, M.W. DEWHIRST.

Radiation activates HIF-1 to regulate vascular radiosensitivity in tumors: role of reoxygenation, free radicals, and stress granules. *Cancer Cell* 5 (2004) 429–441.

101. M. NAKAMURA, J.M. BODILY, M. BEGLIN, S. KYO, M. INOUE, L.A. LAIMINS.

Hypoxia-specific stabilization of HIF-1alpha by human papillomaviruses. *Virology* 387 (2009) 442–448.

102. HARADA, H., ITASAKA, S., KIZAKA-KONDOH, S., SHIBUYA, K.; MORINIBU, A.; SHINOMIYA, K.; HIRAOKA, M.

The Akt/mTOR pathway assures the synthesis of HIF-1alpha protein in a glucose and reoxygenation-dependent manner in irradiated tumors. *J. Biol. Chem.* 2009, **284**, 5332–5342.

103. MOELLER BJ, DREHER MR, RABBANI ZN, SCHROEDER T, CAO Y, LI CY, DEWHIRST MW (2005b)

Pleiotropic effects of HIF-1 blockade on tumor radiosensitivity. *Cancer Cell* 8: 99–110.

104. MOELLER BJ, CAO Y, LI CY, DEWHIRST MW (2004)

Radiation activates HIF-1 to regulate vascular radiosensitivity in tumors: role of reoxygenation, free radicals, and stress granules. *Cancer Cell* 5: 429–441.

105. BJ MOELLER AND MW DEWHIRST

HIF-1 and tumour radiosensitivity. *British Journal of Cancer* (2006) **95**, 1–5.

106. CHANDEL NS, MCCLINTOCK DS, FELICIANO CE, WOOD TM, MELENDEZ JA (2000)

Reactive oxygen species generated at mitochondrial complex III stabilize hypoxia-inducible factor-1alpha during hypoxia: a mechanism of O₂ sensing. *J Biol Chem* 275: 25130–25138.

107. METZEN E, ZHOU J, JELKMANN W, FANDREY J, BRUNE B
(2003)

Nitric oxide impairs normoxic degradation of HIF-1alpha by inhibition of prolyl hydroxylases. *Mol Biol Cell* 14: 3470–3481.

108. MOELLER BJ, CAO Y, LI CY, DEWHIRST MW.

Radiation activates HIF-1 to regulate vascular radiosensitivity in tumors: role of reoxygenation, free radicals, and stress granules. *Cancer Cell* 2004; **5**: 429–441.

109. SEMENZA GL.

Defining the role of hypoxia-inducible factor 1 in cancer biology and therapeutics. *Oncogene* 2010; **29**: 625–634.

110. P. CARMELIET, Y. DOR, J.M. HERBERT, D. FUKUMURA, K. BRUSSELMANS et al.

Role of HIF-1alpha in hypoxia-mediated apoptosis, cell proliferation and tumour angiogenesis. *Nature* 394 (1998) 485–490.

111. G.L. SEMENZA, P.H. ROTH, H.M. FANG, G.L. WANG.

Transcriptional regulation of genes encoding glycolytic enzymes by hypoxia-inducible factor 1. *J. Biol. Chem.* 269 (1994) 23757–23763.

112. J. MARKOWSKA, J.P. GRABOWSKI, K. TOMASZEWSKA, Z. KOJS, J. PUDELEK, et al.

Significance of hypoxia in uterine cervical cancer. *Multicentre study, Eur. J. Gynaecol. Oncol.* 28 (2007) 386–388.

113. K. DELLAS, M. BACHE, S.U. PIGORSCH, H. TAUBERT, M. KAPPLER, et al.

Prognostic impact of HIF-1alpha expression in patients with definitive radiotherapy for cervical cancer, Strahlenther. *Onkol.* 184 (2008) 169–174.

114. K.J. WILLIAMS, B.A. TELFER, D. XENAKI, M.R. SHERIDAN, I. DESBAILLETS, et al.

Enhanced response to radiotherapy in tumours deficient in the function of hypoxia-inducible factor-1 Radiother. *Oncol.* 75 (2005) 89–98.

115. W.Y. KIM, S.H. OH, J.K. WOO, W.K. HONG, H.Y. LEE.

Targeting heat shock protein 90 overrides the resistance of lung cancer cells by blocking radiation-induced stabilization of hypoxia-inducible factor-1alpha. *Cancer Res.* 69 (2009) 1624–1632.

116. KAPLAN E, MEIER P.

Non-parametric estimation from incomplete observation. *JAMA* 1958; 53:457–481.

117. ISHIKAWA H, SAKURAI H, HASEGAWA M, et al.

Expression of hypoxic-inducible factor 1alpha predicts metastasis-free survival after radiation therapy alone in stage IIIB cervical squamous cell carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004; **60**: 513-21.

118. KIM MK, KIM TJ, SUNG CO, et al.

Clinical significance of HIF-2 α immunostaining area in radioresistant cervical cancer. *J Gynecol Oncol* 2011; **22**: 44-8.

119. BIRNER P, SCHINDL M, OBERMAIR A, et al.

Overexpression of hypoxia-inducible factor 1 is a marker for an unfavorable prognosis in early-stage invasive cervical cancer. *Cancer Res* 2000; **60**:4693–4696.

**120. HITOSHI ISHIKAWA, MASATOSHI HASEGAWA,
MITSUHASHI, MITSUHIRO TAKAHASHI, MASANOBU
NAKAJIMA, JUN-ICHI SAITO.**

Expression of hypoxic-inducible factor 1 predicts metastasis-free survival after radiation therapy alone in stage IIIb cervical squamous cell carcinoma. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.*, Vol. 60, No. 2, pp. 513–521, 2004.

**121. DUNST J, STADLER P, BECKER A, KUHNT T,
LAUTENSCHLAGER C, MOLLS M, HAENSGEN G.**

Tumor hypoxia and systemic levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) in head and neck cancers. *Strahlenther Onkol* 2001, **177**:469-473.

**122. MUKHOPADHYAY D, TSIOKAS L, ZHOU XM, FOSTER D,
BRUGGE JS, SUKHATME VP.**

Hypoxic induction of human vascular endothelial growth factor expression through c-Src activation. *Nature* 1995; **375**: 577-81.

123. MUKHOPADHYAY D, TSIOKAS L, SUKHATME VP.

Wild-type p53 and v-Src exert opposing influences on human vascular endothelial growth factor gene expression. *Cancer Res* 1995; **55**: 6161-5.

124. HASHIMOTO E, OGITA T, NAKAOKA T, MATSUOKA R, TAKAO A, KIRA Y.

Rapid expression of vascular endothelial growth factor by transient ischemia in rat heart. *Am J Physiol* 1994; 267: H1948-4.

125. LADOUX A, FRELIN C.

Hypoxia is a strong inducer of vascular endothelial growth factor mRNA expression in the heart. *Biochem Biophys Res Commun* 1993 ; 195 : 1005-10.

126. CARMELIET P.

Angiogenesis in life, disease and medicine. *Nature* 2005; 438: 932-6.

127. GONG J, ZHU S, ZHANG Y, et al (2014).

Interplay of VEGFa and MMP2 regulates invasion of glioblastoma. *Tumour Biol*, 12.

128. SEMENZA GL

Targeting HIF-1 for cancer therapy. *Nat Rev Cancer*, 2003; 3: 721–32.

129. ZUSTERZEEL PL, SPAN PN, DIJKSTERHUIS MG, THOMAS CM, SWEEP FC, et al.

Serum vascular endothelial growth factor: a prognostic factor in cervical cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2009; 135: 283-290.

130. KANG JO, HONG SE.

The prognostic effect of VEGF expression in squamous cell carcinoma of the cervix treated with radiation therapy alone. *J Korean Med Sci* 2004; 19: 693-697.

131. SUPURAN CT.

Carbonic anhydrases: novel therapeutic applications for inhibitors and activators. *Nat Rev Drug Discov* 2008; 7:168-81.

132. J. ZAVADA, Z. ZAVADOVA, S. PASTOREKOVA, P. CIAMPOR, J. PASTOREK, V. ZELNIK.

Expression of MaTu-MN protein in human tumor cultures and in clinical specimens. *Int. J. Cancer* 54 (1993) 268–274.

133. SUPURAN, C.T., SCOZZAFAVA, A., Bioorganic and Medicinal Chemistry 2007, 15, 4336-4350.; **WHITTINGTON, D.A., WAHEED, A., ULMASOV, B., SHAH, G.N., GRUBB, J.H., SLY, W.S., CHRISTIANSON, D.W.**, Proceeding of the National Academy of Sciences USA 2001, **98**, 9545-9550.

134. THIRY, A., SUPURAN, C.T., MASEREEL, B., DOGNE, J.M.

Journal of Medicinal Chemistry 2007, **51**, 3051-3056 et **PASTOREKOVA, S., ZAVADOVA, Z., KOSTAL, M., BABUSIKOVA, O., ZAVADA, J.**, Virology 1992, **187**, 620-626.

135. MAYER A, HÖCKEL M, VAUPEL P.

Carbonic anhydrase IX expression and tumor oxygenation status do not correlate at the microregional level in locally advanced cancers of the uterine cervix. *Clin Cancer Res* 2005; **11**:7220–5.

136. CHICHE J, ILC K, LAFERRIERE J, et al.

Hypoxia-inducible carbonic anhydrase IX and XII promote tumor cell growth by counteracting acidosis through the regulation of the intracellular pH. *Cancer Res* 2009; **69**: 358-68.

137. VAUPEL P, KELLEHER DK, HOCKEL M.

Oxygen status of malignant tumors: Pathogenesis of hypoxia and significance for tumor therapy. *Semin Oncol.* 2001; **28 (suppl)**: 29–35.

138. S. IVANOV, S.Y. LIAO, A. IVANOVA, A. DANILKOVITCH-MIAGKOVA, N. TARASOVA, et al.

Expression of hypoxia-inducible cellsurface transmembrane carbonic anhydrases in human cancer. *Am. J. Pathol.* 158 (2001) 905–919.

139. S.Y. LIAO, C. BREWER, J. ZAVADA, J. PASTOREK, S. PASTOREKOVA, et al.

Identification of the MN antigen as a diagnostic biomarker of cervical intraepithelial squamous and glandular neoplasia and cervical carcinomas. *Am. J. Pathol.* 145 (1994) 598–609.

**140. S.Y. LIAO, W.H. RODGERS, J. KAUDERER, T.A. BONFIGLIO,
K.M. DARCY, R. CARTER, L. LEVINE, et al.**

Carbonic anhydrase IX (CA-IX) and high-risk human papillomavirus (H-HPV) as diagnostic biomarkers of cervical dysplasia/neoplasia in Japanese women with a cytologic diagnosis of atypical glandular cells (AGC): a Gynecologic Oncology Group (GOG) Study. *Br. J. Cancer* 104 (2011) 353–360.

**141. TATUM JL, KELLOFF GJ, GILLIEWS RJ, ARBEIT JM,
BROWN JM, CHAO KS, et al.**

Hypoxia: importance in tumor biology, noninvasive measurement by imaging, and value of its measurement in the management of cancer therapy. *Int J Radiat Biol* 2006; 82: 699–757.

142. MACHEDA ML, ROGERS S AND BEST JD.

Molecular and cellular regulation of glucose transporter (GLUT) proteins in cancer. *J Cell Physiol* 2005; 202: 654-662.

143. MEDINA RA AND OWEN GI.

Glucose transporters: expression, regulation and cancer. *Biol Res* 2002; 35: 9-26.

144. BARTRONS R AND CARO J.

Hypoxia, glucose metabolism and the Warburg's effect. *J Bioenerg Biomembr* 2007; 39: 223-229.

145. MEIJER TW, KAANDERS JH, SPAN PN AND BUSSINK J.

Targeting hypoxia, HIF-1, and tumor glucose metabolism to improve radiotherapy efficacy. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 5585-5594.

146. SZABLEWSKI L.

Expression of glucose transporters in cancers. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1835: 164-169.

147. LIU Y, CAO Y, ZHANG W, BERGMEIER S, QIAN Y, AKBAR H, COLVIN R, DING J, TONG L, WU S, HINES J AND CHEN X.

A small-molecule inhibitor of glucose transporter 1 downregulates glycolysis, induces cell-cycle arrest, and inhibits cancer cell growth in vitro and in vivo.
Mol Cancer Ther 2012; **11**: 1672-1682.

148. VANDER HEIDEN MG, CANTLEY LC AND THOMPSON CB.

Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science* 2009; **324**: 1029-1033.

149. SATTLER UG, MEYER SS, QUENNET V, HOERNER C, KNOERZER H, FABIAN C, YAROMINA A, ZIPS D, WALENTA S, BAUMANN M AND MUELLER-KLIESER W.

Glycolytic metabolism and tumour response to fractionated irradiation.
Radiother Oncol 2010; **94**: 102-109.

150. CARTIANA G, FAGOTTI G, MEGATHAES A, NADJI M, ANGIOLI R, PANALVER M, MANCUSO S, SCAMBIA G.

Glut-1 expression in ovarian carcinoma: association with survival and response to chemotherapy. *Cancer* 2001; **92**:1144 –50.

151. PEDERSEN MW, HOLM S, LUND EL, HOJGAARD L AND KRISTJANSEN PE.

Coregulation of glucose uptake and vascular endothelial growth factor (VEGF) in two small-cell lung cancer (SCLC) sublines in vivo and in vitro. *Neoplasia* 2001; **3**: 80-87.

152. KUNKEL M, MOERGEL M, STOCKINGER M, JEONG JH, FRITZ G, LEHR HA AND WHITESIDE TL.

Overexpression of GLUT-1 is associated with resistance to radiotherapy and adverse prognosis in squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Oral Oncol* 2007; **43**: 796-803.

SERMENT DE GALIEN

“Je jure, en présence des Maîtres de la Faculté, des conseillers de l’Ordre des Pharmaciens et de mes condisciples:

D’honorer ceux qui m’ont instruite dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement;

D’exercer, dans l’intérêt de la Santé Publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l’honneur, de la probité et du désintéressement,

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m’accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couverte d’opprobre et méprisée de mes confrères si j’y manque.”

PERMIS D'IMPRIMER

Vu :
Le Président de jury

Vu :
Le Doyen

Vu et permis d'imprimer
pour le Recteur, Président de l'assemblée de l'Université Cheikh Anta DIOP de Dakar et par
délégation.

Le Doyen