

Article original

Résultats préliminaires de l'effet du polymorphisme XRCC3 Thr241Met sur la susceptibilité au cancer de la prostate dans la population de l'Ouest Algérien: Etude cas-témoins

Preliminary results of the effect of the XRCC3 Thr241Met polymorphism on the susceptibility to prostatic cancer in the Western Algerian population: Case-control study.

Wefa Boughrara^{1,2,3}, Meriem Aberkane^{3,4}, Hamza Benabdallah⁵, Mohamed Yacine Abdelwahid Makrelouf⁶, Sarra Toumi⁶, Fatima Zohra Moghtit⁷

1 Ecole préparatoire en science de la nature et de la vie d'Oran (EPSNVO)

2 Laboratoire de génétique moléculaire et cellulaire / Université des sciences et de la technologie d'Oran Mohamed Boudiaf (USTO-MB), BP 1505 EL-M'NAOUAR- 31000 ORAN- Algérie.

3 Service de cytogénétique et de biologie moléculaire, Etablissement hospitalo-universitaire d'Oran (EHUO).

4 Département de pharmacie / Université d'Oran 1, Algérie.

5 Service d'oncologie, Etablissement hospitalo-universitaire d'Oran (EHUO).

6 Département de génétique moléculaire appliquée / Université des sciences et de la technologie d'Oran Mohamed Boudiaf (USTO-MB)

7 Département SNV, institut des sciences, Centre universitaire d'Ain Témouchent «Belhadj Bouchaib»

MOTS CLÉS

Cancer de la prostate;
XRCC3; Thr241Met; PCR;
Population Algérienne.

Résumé

Objectif - En Algérie, le cancer de la prostate (CP) représente un réel problème de santé publique. Notre étude consiste à déterminer l'influence du polymorphisme Thr241Met du gène XRCC3 sur la susceptibilité à développer le CP. Pour cela, nous avons entrepris une étude d'association cas/témoins portant sur ce polymorphisme dans un échantillon de la population de l'Ouest Algérien.

Matériels et méthodes - Cette étude a concerné dix sujets atteints de CP et vingt sujets sains non apparentés. L'exploration des différents génotypes du polymorphisme a été réalisée par la technique d'amplification en chaîne par polymérase - polymorphisme de longueur des fragments de restriction (PCR-RFLP). La comparaison des fréquences alléliques et génotypiques entre les deux groupes a été établie par le calcul de l'odds ratio (OR) avec un intervalle de confiance à 95%.

Résultats - A ce stade de l'étude, l'analyse statistique a montré qu'il n'existait aucune différence statistiquement significative de distribution des fréquences alléliques et génotypiques (OR=0,36 [0,12-1,1] ;P=0,7) de ce polymorphisme exploré entre les cas et les contrôles dans ce premier échantillon de la population explorée.

¹Auteur correspondant: wefaboughrara@gmail.com

KEY WORDS:

Cancer; XRCC3; Thr 241 Met; PCR; Algerian population.

Conclusion - En conclusion, il est envisagé d'augmenter le nombre de cas à étudier pour confirmer cette absence d'association. Par ailleurs, il est important d'explorer d'autres polymorphismes situés non seulement sur le gène XRCC3 mais aussi sur d'autres gènes impliqués dans la réparation de l'ADN, afin de caractériser au mieux sur le plan génétique, le cancer de la prostate dans la population de l'Ouest Algérien.

Abstract

Objective - In Algeria, prostate cancer (PC) is a real public health problem. Our study consists in determining the influence of the polymorphism Thr241Met of the XRCC3 gene on the susceptibility to develop a PC. To this end, we undertook a case-control study of this polymorphism in a sample of the Algerian West population.

Materials and methods - This case-control study involved 10 subjects with PC and 20 unrelated healthy subjects. The various genotypes of the polymorphism were investigated using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) technique. The comparison of allelic and genotypic frequencies between the two groups was established by calculating the odds ratio (OR) with a 95% confidence interval.

Results - In this preliminary exploration, statistical analysis showed that there was no statistically significant difference in the distribution of allelic and genotypic frequencies (OR = 0.36 [0.12-1.1], P = 0.7) of the polymorphism explored between cases and controls in this first sample of the population explored.

Conclusion - In conclusion, we consider increasing the size of the sample to be studied to confirm this lack of association. On the other hand, we believe that it is important to explore other polymorphisms located not only on the XRCC3 gene but also on other genes involved in DNA repair in order to enhance genetic characterization of PC in the western Algerian population.

Introduction

Le cancer de la prostate (CP) est le deuxième cancer le plus fréquent chez les hommes et avec 1,1 million d'hommes atteints à travers le monde, avec une mortalité de plus de 307,000 hommes par an [1]. Il est aussi considéré comme la deuxième cause de décès par cancer chez les hommes [1]. En Algérie, le CP représente un réel problème de santé publique.

Bien que des études antérieures aient signalé plusieurs facteurs de risque établis tels que le tabagisme, l'origine ethnique, la lumière UV, l'inflammation, l'alimentation, l'âge et l'exposition aux rayonnements susceptibles d'accroître le risque de cancer de la prostate, il existe encore des difficultés à déterminer définitivement l'étiologie du CP. Ce cancer peut ne pas se développer même après une exposition à ces facteurs de risque, ce qui suggère que les variations génétiques peuvent être des facteurs importants contri-

buant au développement du CP. Ces facteurs génétiques, en particulier les polymorphismes nucléotidiques simples des gènes, ont été rapportés comme étant étroitement liés au développement de divers cancers, tels que la leucémie, le cancer buccal et le CP.

Le gène X-ray repair cross-complementing group3 (XRCC3) est l'un des gènes de réparation d'ADN impliqués dans le processus de réparation des recombinaisons homologues [1]. Ce gène est localisé en 14q32.3, mesure 18 kb et comprend 10 exons [2] ; sa protéine est constituée de 346 acides aminés (37850 Da). Différentes études ont incriminé le polymorphisme Thr241Met du gène XRCC3 dans la susceptibilité aux cancers [3, 4, 5]. Le polymorphisme dans l'exon 7 à la position 18067 est le plus étudié (Thr241Met). Celui-ci est caractérisé par la substitution de la cytosine (C) par la thymine (T) ce qui entraîne une substitution d'acides aminés au codon 241, et pourrait influencer la fonction de l'enzyme et affecter son association à d'autres protéines. En effet, ces deux acides aminés ont des

caractéristiques biochimique différentes, la première réside dans leurs poids moléculaire car le résidu muté est plus grand (149Da) que le résidu sauvage (119Da), ce qui a pour conséquence un changement de conformation. En second lieu, l'acide aminé muté est hydrophobe tandis que le sauvage est hydrophile, ce qui pourrait conduire à la perte des liaisons hydrogènes provoquant ainsi un défaut de repliement de la protéine. La position de cette substitution (Thr241Met) au niveau du domaine C-terminal pourrait affecter l'hydrolyse de l'ATP, entraînant une diminution de la capacité de réparation de l'ADN [6]. Cependant, le fonctionnement de cette variation XRCC3 Thr241Met n'est encore pas bien déterminé [7].

Une étude récente, a suggéré que les variations du gène XRCC3 Thr241Met peuvent altérer la capacité de réparation de l'ADN et ainsi influencer la sensibilité aux carcinogènes [8].

Notre étude consiste à rechercher une association entre le polymorphisme XRCC3 Thr241Met et le cancer de la prostate dans un échantillon de la population de l'Ouest Algérien.

Matériels et méthodes

Population d'étude

Notre étude a inclus dix patients atteints de cancer de la prostate (CP) de la population de l'Ouest Algérien. Ils ont été suivis dans le service d'oncologie de l'établissement hospitalo-universitaire d'Oran (EHUO). Vingt sujets témoins appariés à l'âge des patients CP, tous originaire de la population de l'Ouest Algérien, ont été choisis au hasard et étaient indemnes de toute pathologie cancéreuse au moment de l'étude. Les caractéristiques démographiques des cas et des témoins ont été relevées grâce à un questionnaire structuré. Après avoir signé un consentement éclairé, tous les individus inclus dans cette étude ont été prélevés au service d'oncologie de l'EHO. Les prélèvements de sang veineux ont été collectés dans des tubes d'Éthylène Diamine Tétra-Acétique (EDTA). L'analyse génétique consistant à isoler l'ADN et génotyper les individus a été effectuée au niveau du service de biologie moléculaire et de cytogénétique de l'EHO.

Extraction d'ADN :

Nous avons utilisé l'automate Maxwell® 16 Blood DNA Purification System pour l'extraction d'ADN à partir du sang total.

L'exploration des polymorphismes

Le polymorphisme XRCC3 Thr241Met a été génotypé par la technique de polymérisation en longueur de fragment de restriction par polymérase (PCR-RFLP).

L'amplification par PCR a été réalisée sur un volume final de 25 µl comprenant 20µM de chaque amorce (directe: 5'ACAGGGCTCTG-GAAGGCACCTGCTGAGCTCACGACC3' ; 5'GCCTGGTGGTCATCGAC-TC3) indirecte: 5'-CTACTACTAATCTGCCCA- 3'), du tampon de PCR 1x (Applied Biosystems), 1.25mM de dNTP, 25mM de MgCl2

(GeneAmp, Applied Biosystems), 1.5U de Taq et 100 à 200 ng d'ADN génomique. Les conditions de PCR consistaient en une dénaturation initiale à 95°C pendant 3 minutes, suivie de 30 cycles avec dénaturation pendant 20 secondes à 95°C, puis 20 secondes à 60°C, une extension 20 secondes à 72°C et une extension finale à 72°C pendant 5 minutes. Après amplification, les fragments d'ADN attendus du gène XRCC3 étaient de taille de 136 paires de bases (pb). Les amplicons ont été ensuite digérés par l'enzyme de restriction NcoI (site de restriction : 5' TAAT/TA 3') (TAKARA Biotechnologie (Dalian) CO., LTD) à 37 ° C pendant toute une nuit. Les individus normaux doivent présenter deux fragments de taille 39pb et 97pb, et un seul fragment de taille 136pb en présence de la substitution de C par un T en cette position qui abolit le site de restriction.

Analyse statistique

La description statistique de l'échantillon testé a été effectuée et indiquée en nombre et en fréquence. Les comparaisons des répartitions de fréquence des polymorphismes ont été effectuées à l'aide de tests X2 (programme Epi InfoTM version 7). Les valeurs de P ont été considérées comme statistiquement significatives à p <0,05. Le risque d'allèle et de génotype a été évalué en utilisant l'Odd ratio (OR) avec son d'intervalle de confiance (IC) à 95%.

Résultats

Nous n'avons observé aucune différence statistiquement significative entre patients et contrôles concernant l'âge, le statut tabagique et le statut pondéral. Les résultats sont représentés dans le Tableau 1.

Tableau 1: Distribution des caractéristiques démographiques et cliniques des patients et des témoins.

Caractéristique	Patients N=10 %	Témoins N=20 %	valeur P
Âge (moyenne ± écart-type)			
<70	3 (30)	9 (45)	
≥70	7 (70)	11 (55)	0.5
Statut tabagisme			
Fumeur	2 (20)	5 (25)	
Non-fumeur	8 (80)	15 (75)	0.2
Antécédents familiaux			
Sporadique	8 (80)		
Héréditaire	1 (10)		
Non documenté	1 (10)		
Poids (Kg)			
<70	3 (30)		
≥70	7 (70)		

% : pourcentage, n : nombre.

La distribution des fréquences alléliques chez les témoins montre que l'allèle C (Thr241) est l'allèle majeur (60%) et l'allèle T (Met241) est l'allèle mineur (35%). Cependant, aucune différence statistiquement significative dans la distribution des fréquences génotypiques et alléliques entre les cas et les témoins n'a été retrouvée lorsque nous avons analysé l'association entre XRCC3 et le risque de CP (Tableau 2).

Tableau 2. Distribution des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme XRCC3 Thr241Met dans les échantillons analysés.

<i>Thr241Met</i> <i>XRCC3</i>	Patients N=10 (%)	Témoins N=20 (%)	OR (95% CI)	valeur P
Genotypes				
Thr/Thr	1(0.1)	7(0.35)		
Thr/Met	5(0.5)	10(0.5)	0,29 [0,03- 3,05]	0,6
Met/Met	4(0.40)	3(0.15)	0,11[0,01-1,44]	1.8
Alleles				
<i>Thr</i>	7 (35)	24 (60)		
<i>Met</i>	13 (65)	16 (40)	0,36[0,12- 1,1]	0.7

% : pourcentage, n : nombre, OR : Odd ratio.

Discussion

Nos résultats préliminaires ont souligné en premier lieu une similarité entre la fréquence de l'allèle mineur dans notre échantillon d'étude et celles rapportées en Argentine (0.38) [9], en Turquie (0.38) [10] et en Espagne (0.33) [11]. Toutefois, cette fréquence est moins importante que celle décrite dans la population Jordanienne (0.55) [12], Tunisienne (0,47) [13], d'Arabie Saoudite (0.51) [14] et plus élevée que celle décrite chez la population Américaine (0.06) [15], Mexicaine (0.17) [16], Indienne (0.21) [9], Danoise (0,24) [17] et Thaïlandaise (0,05) [18].

En second lieu, il ressort de ces premiers résultats que le polymorphisme Thr241Met du gène XRCC3 semble n'avoir aucun effet sur la survenue du CP dans la population de l'Ouest Algérien. Ces données préliminaires sont en accord avec celles qui ont été rapportées dans les populations Polonaise [19], Indienne [9], et Américaine [20]. Cependant, une méta-analyse portant sur un total de 499 cas et 571 témoins a révélé une association significative entre le génotype hétérozygote (OR = 0,71, p= 0,017) et le génotype dominant (OR = 0,74, p =0,035) de ce polymorphisme et le risque de cancer de la prostate [21]. Paradoxalement, une étude cas/témoins menée sur une population en Aus-

tralie constituée de 116 patients atteints et 132 témoins sains a indiqué que le génotype hétérozygote (OR = 0,66, p = 0,042) est associé à un faible risque de cancer de la prostate [22].

Ces résultats pourraient être dus au nombre réduit de notre échantillon d'étude. Il est donc impératif de poursuivre cette exploration sur une plus large cohorte. Par ailleurs, une analyse des facteurs environnementaux permettrait de réaliser une stratification des résultats en fonction de l'exposition à d'autres facteurs favorisant le cancer comme l'âge et le statut fumeur.

Enfin, des analyses d'interaction gènes-environnement permettraient une meilleure évaluation du rôle des facteurs environnementaux, sachant qu'une bonne caractérisation des interactions entre ceux-ci et les paramètres génétiques constituent un élément clé dans la compréhension des maladies complexes.

Conclusion

En conclusion, notre étude n'a retrouvé aucune association entre le polymorphisme XRCC3 Thr241Met et le cancer de la prostate dans un échantillon de la population de l'Ouest Algérien. Cependant, il est indispensable d'augmenter la taille de l'échantillon et d'explorer d'autres polymorphismes situés sur le gène XRCC3 impliqués dans le CP. De plus, l'étude d'autres polymorphismes impliquant d'autres gènes de réparation de l'ADN dans le cancer de la prostate tels que XRCC1, pourraient nous révéler des marqueurs différents qui seraient impliqués dans le développement du cancer de la prostate dans notre contexte.

Remerciements

Nous sommes reconnaissants aux patients atteints du cancer de la prostate et aux oncologues du service d'Oncologie de l'établissement hospitalo-universitaire d'Oran (EHUO) pour leur contribution précieuse à la présente étude.

Conflits d'intérêts

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêt.

References bibliographiques

- [1] Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer* 2015 ; 1;136(5):E359-86. doi: 10.1002/ijc.29210. Epub 2014 Oct 9.
- [2] Tebbs RS, Zhao Y, Tucker JD et al. Correction of chromosomal instability and sensitivity to diverse mutagens by a cloned cDNA of

the XRCC3 DNA repair gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1995; 92: 6354-6358

[3] Yulan Y, Liang H, Li T et al. Association of XRCC3 Thr241Met Polymorphism and Leukemia Risk: Evidence from a Meta-Analysis. *Leukemia & Lymphoma* 2014; 55(9): 2130-34. doi:10.3109/10428194.2013.853303

[4] Pearce C L, Near A M, Van Den Berg D J et al. Validating Genetic Risk Associations for Ovarian Cancer through the International Ovarian Cancer Association Consortium. *British Journal of Cancer* 2009; 100 (2): 412-20. doi:10.1038/sj.bjc.6604820.

[5] Margulis V, Lin J, Yang H et al. Genetic Susceptibility to Renal Cell Carcinoma: The Role of DNA Double-Strand Break Repair Pathway. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers* 2008; 17 (9): 2366-73. doi:10.1158/1055-9965.EPI-08-0259.

[6] Moghtit F Z, Aberkane M S, Le Morvan V et al. No Association between XRCC3 Thr241Met and XPD Lys751Gln Polymorphisms and the Risk of Colorectal Cancer in West Algerian Population: A Case-Control Study. *Medical Oncology* 2014; 31 (5): 942. doi:10.1007/s12032-0140942-3.

[8] Nowacka-Zawisza M, Wiśnik E, Wasilewski A et al. Polymorphisms of Homologous Recombination RAD51, RAD51B, XRCC2, and XRCC3 Genes and the Risk of Prostate Cancer. *Analytical Cellular Pathology* 2015. doi:10.1155/2015/828646.

[9] Mandal, Raju K, Rakesh Kapoor et al. Polymorphic Variants of DNA Repair Gene XRCC3 and XRCC7 and Risk of Prostate Cancer: A Study from North Indian Population. *DNA and Cell Biology* 2010; 29 (11): 669-674. doi:10.1089/dna.2010.1047.

[10] Pérez, Luis Orlando, Andrea Crivaro et al. XRCC2 R188H (rs3218536), XRCC3 T241M (rs861539) and R243H (rs77381814) Single Nucleotide Polymorphisms in Cervical Cancer Risk. *Pathology & Oncology Research* 2013; 19(3): 553-58. doi:10.1007/s12253-013-9616-2.

[11] Rodriguez-Hernandez I, Perdomo S, Santos-Briz A et al. Analysis of DNA Repair Gene Polymorphisms in Glioblastoma. *Gene* 2014; 536 (1): 79-83. doi:10.1016/j.gene.2013.11.077.

[12] Al Zoubi, Mazhar S. X-Ray Repair Cross-Complementing Protein 1 and 3 Polymorphisms and Susceptibility of Breast Cancer in a Jordanian Population. *Saudi Medical Journal* 2015; 36 (10): 1163-67. doi:10.15537/smj.2015.10.12659.

[13] Ben Salah, Ghada, Nourhene Fendri-Kriaa et al. An Interethnic Variability and a Functional Prediction of DNA Repair Gene Polymorphisms: The Example of XRCC3 (p.Thr241Met) and XPD

(p.Lys751Gln) in a Healthy Tunisian Population. *Molecular Biology* 2012; 39 (10): 9639-9647. doi:10.1007/s11033-012-1829-z.

[14] Alaa Mohammed A, Abdulkareem H, Al Anazi M et al. Polymorphisms in DNA Repair Gene XRCC3 and Susceptibility to Breast Cancer in Saudi Females. *BioMed Research International* 2016; 1-9. doi:10.1155/2016/8721052.

[15] Ritchey Jamie D, Wen-Yi Huang, Anand P. Chokkalingam et al. Genetic Variants of DNA Repair Genes and Prostate Cancer: A Population-Based Study. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: A Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology* 2005; 14(7): 1703-9. doi:10.1158/1055-9965.EPI-04-0809.

[16] Sandoval-Carrillo, Ada, Edna M et al. Polymorphisms in DNA Repair Genes (APEX1, XPD, XRCC1 and XRCC3) and Risk of Preeclampsia in a Mexican Mestizo Population. *International Journal of Molecular Sciences* 2014; 15(3): 4273-83. doi:10.3390/ijms15034273.

[17] Curwen, Gillian B, Samantha Murphy et al. A Study of DNA Damage Recognition and Repair Gene Polymorphisms in Relation to Cancer Predisposition and G2 Chromosomal Radiosensitivity. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 2011; 52(1): 72-76. doi:10.1002/em.20633.

[18] Settheetham-Ishida, Wannapa, Pissamai Yuenyao et al. Genetic Risk of DNA Repair Gene Polymorphisms (XRCC1 and XRCC3) for High Risk Human Papillomavirus Negative Cervical Cancer in Northeast Thailand. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP* 2011; 12(4): 963-66.

[19] Nowacka-Zawisza, Maria Ewelina Wiśnik, Andrzej Wasilewski et al. Krajewska. « Polymorphisms of Homologous Recombination RAD51, RAD51B, XRCC2, and XRCC3 Genes and the Risk of Prostate Cancer ». *Analytical Cellular Pathology (Amsterdam)* 2015. doi:10.1155/2015/828646.

[20] Ritchey, Jamie D, Wen-Yi Huang et al. Genetic Variants of DNA Repair Genes and Prostate Cancer: A Population-Based Study. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: A Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology* 2005; 14 (7): 1703-1709. doi:10.1158/1055-9965.EPI-04-0809.

[21] Xuan, Gao, Ying Hui et al. The Association of XRCC3 Thr241Met Genetic Variant with Risk of Prostate Cancer: A Meta-Analysis. *African Health Sciences* 2015; 15(1): 117-22. doi:10.4314/ahs.v15i1.16.

[22] Dhillon VS, Yeoh E, Fenech M. DNA repair gene polymorphisms and prostate cancer risk in South Australia--results of a pilot study. *Urol Oncol* 2011;29(6):641-6. doi: 10.1016/j.urolonc.2009.08.013.

