



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Biologie Animale

قسم : بيولوجيا الحيوان

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Génétique Moléculaire*

Intitulé :

Association du polymorphisme I/D de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) et cancer colorectal

Présenté et soutenu par : ARBATNI Minet Allah Rayene.

Le : 04/07/2017

BOUFRAH Maissa.

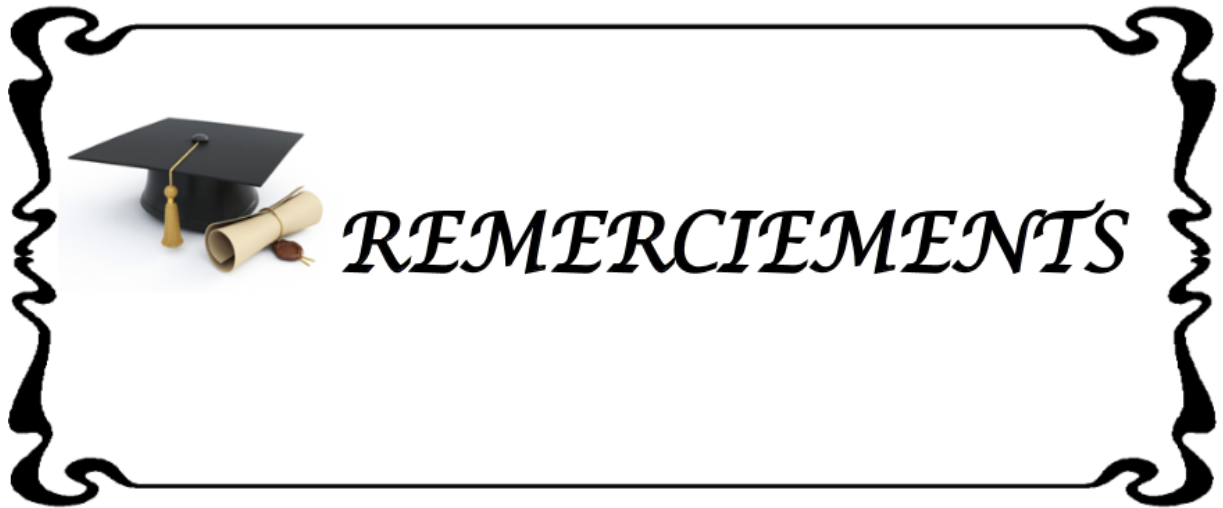
Jury d'évaluation :

Président du jury : *Mme SEDRATI Khadidja* (MCB - UFM Constantine 1).

Rapporteur : *Mme ZIADA-BOUCHAAR Hadia* (MCB - UFM Constantine 1).

Examinatrice : *Mme BOUDOUKHAN Ibtissem* (MAA - UFM Constantine 1).

Année universitaire 2016 - 2017



Nous témoignons que c'est par la grâce à Allah le tout puissant et miséricordieux, d'aide incessant, qu'il nous a porté et d'orientation imminente qu'il nous accordé pour achever ce travail.



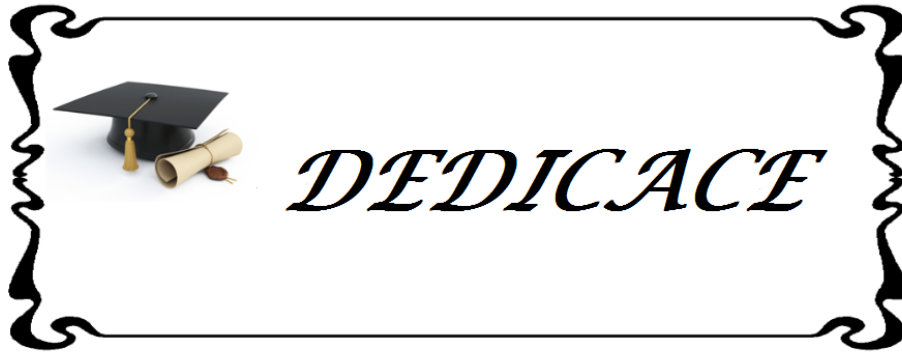
Nous remercions notre directrice de mémoire : Mme ZIADA-BOUCHAR Hadia ; pour la confiance qu'elle nous avons accordée en acceptant d'encadrer ce travail. Nous lui sommes reconnaissantes pour sa patience, ses encouragements, sa sympathie et sa disponibilité à tout moment. Ses conseils, ses commentaires, ses corrections et ses qualités scientifiques ont été très précieux pour mener à bien ce travail. Enfin, nous avons été extrêmement sensibles à ses qualités humaines, à sa rigueur, à son professionnalisme et à son ouverture d'esprit. Nous sommes infiniment heureux et honorés d'avoir fait notre thèse sous sa direction. Aucune expression de gratitude ne sera suffisante pour vous exprimer nos respects et nos reconnaissances.

Nous remercions Mme BOUDOUKHANE Ibtissem ; pour l'honneur qu'il nous avons fait en acceptant d'examiner ce travail.

Nous remercions Mme SEDRATI Khadidja ; qui a eu la bonté d'être présidente de ce jury. Assurée de l'intérêt que vous portez à ce travail, nous restons convaincue que votre présence nous assurera de la valorisation et de la teneur de notre travail. Veuillez croire en nos éternels respects et nos sincères gratitude.

Nous remercions Mme SEMMAME Ouara pour son aide précieuse dans la partie pratique de notre travail et sa générosité scientifique qu'elle n'a pas manqué de nous fournir. Nous remercions Mme SATTACHEF de notre filière pour tous les efforts qu'elle a déployés pour réussir et mener à bien notre formation de génétique avec toute l'équipe de nos enseignants. Nous remercions également M. Abadi pour son accueil au sein de laboratoire de Biologie et génétique moléculaire, Mme Yasmina pour son aide dans notre partie pratique.

Nous remercions tous ceux qui nous ont aidés à réaliser notre partie pratique au laboratoire de biologie moléculaire à l'université des frères Mentouri



A MES PARENTS BIEN-AIMÉ

Je vous dédie ce mémoire en reconnaissance de tout l'amour et de toute l'affection que vous n'avez jamais de me prodiguer.

Il n'est pas de mots assez forts pour exprimer mon immense amour et ma profonde gratitude pour tous les sacrifices et les efforts qu'avez consentis pour mon éducation.

Vous m'avez toujours guidée, soutenue, conseillée avec la plus grande des sagesse.

Je prie Dieu, le tout puissant, de vous accorder santé et longue vie afin que je puisse vous combler à mon tour sans jamais vous décevoir.

A MA SŒUR SOUMIA

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, la reconnaissance et le respect que j'ai pour toi.

Merci pour tout... pour votre amour, la confiance et l'énergie que tu m'as donnée...

Tu m'as toujours encouragé et soutenu dans mes choix, grâce à toi j'ai pu tracer mon Chemin et aboutir à mes objectifs..

Je prie Dieu le tout puissant de toi accorder santé, et beaucoup de bonheur

A TOUT MA FAMILLE

A MA PROCHEAMIE DE MON CŒUR SELMA

A TOUS MES AMIES DE LA PROMOTIONS.

MASSA

« Soyons reconnaissants aux personnes qui nous donnent du bonheur ; elles sont les charmants jardiniers par qui nos âmes sont fleuries. »
Marcel Proust.

JE DÉDIE CE MÉMOIRE À :

A MON ADORABLE MAMAN

Je vous dédie cette thèse en reconnaissance de tout l'amour et de toute l'affection que vous n'avez jamais cessé de me prodiguer.

Il n'est y'a pas de mots assez forts pour exprimer mon immense amour et ma profonde gratitude pour tous les sacrifices et les efforts qu'avez consentis pour mon éducation.

Si j'en suis arrivée là, ce n'est que grâce à toi ma maman adorée.

Une vie entière ne suffirait à te rendre cet amour et dévotion.

Tu es mon exemple dans la vie. Tu es la lanterne qui éclaire ma voie.

Ce modeste travail paraît bien dérisoire pour traduire une reconnaissance infinie envers une mère aussi merveilleuse dont j'ai la fierté d'être la fille. Longue vie à toi maman. Je t'aime très fort. A la mémoire de mon cher PAPA qui était toujours là à mes côtés comme preuve de reconnaissance d'une fille qui a toujours prié pour le salut de son âme. Puisse Dieu, le tout puissant, l'avoir en sa sainte miséricorde !

A MES SŒURS : HAYET, HANEN, CHARA, AMEL, SIHEM, IMEN

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, la reconnaissance et le respect que j'ai pour vous.

Vous m'avez aidée, soutenue, protégée, guidée et conseillée durant toutes mes années d'étude. Je prie Dieu le tout puissant de vous accorder santé, et beaucoup de bonheur.

A MES FRÈRES MOUNIR & MOHAMED

En témoignage de la tendresse et de l'amour que j'ai pour vous
Avec mes souhaits de bonheur et de succès dans votre parcours.

Je dédie ce mémoire également ;

A MON CHÈRE MARI LAMINE

Ton aide et tes conseils m'ont permis de surmonter les moments les plus
difficiles. Aucune dédicace ne saurait exprimer mon grand amour.
Que ce travail soit pour toi le témoignage de ton soutien constant.
Que Dieu puisse bénir notre union.

A MES BELLES MÈRES

Aucun langage ne saurait exprimer mon respect et ma considération.
Que Dieu le tout puissant vous garde et vous procure santé et bonheur.

A TOUTE LA FAMILLE ARBATNI & MEGHERBI

A TOUS LES ÉTUDIANTS DE DE MASTER 2 GÉNÉTIQUE

En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les
moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous
souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

Rayen Minet Allah

Liste des abréviations

- APC : Adenomatous polyposis coli
- AJCC : [American Joint Committee on Cancer](#)
- CCR : Cancer Colorectal
- CIN : *Chromosomal Instability*
- CIMP : *CpG Island Methylator Phenotype*
- CpG : [cytosine-phosphate-guanine](#)
- DCC : *Deleted Colorectal Cancer*
- ECA : Enzyme de conversion de l'angiotensine
- *EpCAM : Epithelial cell adhesion molecule*
- HPNCC : *Hereditary non polyposis colorectal cancer*
- LOH : *Loss of Heterozygosity*
- MCC : *Mutated in Colorectal Cancer*
- MLH1 : *MutL Homolog 1*
- MMR : *Mismatch Repair*
- MSH2 : *MutSHomolog 2*
- MSH6 : *MutSHomolog 6*
- MSI : *Microsatellite instability*
- MSI-H : *MSI-High*
- MSI-L : *MSI-Low*
- MSS : Stabilité des microsatellites
- MUTYH : *MUTY Homolog*
- NCBI : National Center for Biotechnology Information
- OMIM : Online Mendelian Inheritance in Man
- PAF : Polypose adénomateuse familiale
- *PMS1 : Post meiotic Segregation 1*
- *PMS2 : Postmeiotic Segregation 2*
- P TNM : Pathology Tumor Node Metastasis
- RER+ : Replication Error
- RSOS : Recherche de sang occulte dans les selles
- SL : Syndrome de Lynch
- SMAD : SMA and MAD-related protein
- SNPs : Single Nucléotide Polymorphismes

- TIS : Test immunochimique des selles
- Tp53 : Tumor protein 53
- UICC : Union for International Cancer Control
- 8-oxoG : 8-Oxoguanine

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Classification TNM.

Tableau 2 : Stades TNM.

Tableau 3 : les gènes impliqués dans le syndrome de Lynch.

Tableau 4 : Les critères d'Amsterdam établis par l'International Collaborative Group on HNPCC.

Tableau 5 : Les critères de Bethesda impliquant dans le syndrome de Lynch.

Tableau 6 : Amorces utilisées pour l'amplification du gène *ECA*.

Tableau 7 : les quantités de chaque constituant du milieu réactionnel de la PCR.

Tableau 8 : Tableau de contingence pour le calcul de l'odds ratio.

Tableau 9 : fréquences alléliques de *l'ECA* chez les deux groupes.

Tableau 10 : Corrélation entre le polymorphisme I/D de L'ECA et le risque de CCR.

Liste des figures

Figure 1 : Les différentes parties du colon.....	2
Figure 2 : Les différentes couches de la paroi du côlon.....	2
Figure 3 : Evolution du cancer colorectal dans le temps.....	4
Figure 4 : Représentation schématique des différents stades du cancer colorectal.....	5
Figure 5 : Répartition des différents types de cancers du côlon.....	7
Figure 6 : La localisation du gène <i>APC</i>	8
Figure 7 : Génétique de la polypose adénomateuse familiale.....	9
Figure 8 : Localisation du gène <i>MUTYH</i>	10
Figure 9 : Génétique du syndrome MAP.....	10
Figure 10 : Modèle génétique de la cancérogénèse colorectale selon Fearon et Vogelstein...	12
Figure 11 : Mécanisme d'inactivation de transcription.....	14
Figure 12 : Le système Rénine Angiotensine.....	17
Figure 13 : Synthèse de l'Angiotensine I par la rénine.....	18
Figure 14 : Synthèse de L'Angiotensine II par l'ECA.....	19
Figure 15 : Structure de l'ECA.....	20
Figure 16 : Locus du gène de l'ECA.....	21
Figure 17 : Polymorphisme génétique de l'ECA.....	22
Figure 18 : Profil électrophorétique des fragments amplifiés par PCR du gène <i>ECA</i> sur gel d'agarose 2%.....	29
Figure 19 : Le logiciel « statistiques médicale et épidémiologiques ».....	31
Figure 20 : Répartition des témoins selon le sexe.....	32
Figure 21 : Répartition des témoins selon l'âge et le sexe.....	32
Figure 22 : Répartition des patients atteints du cancer colorectal selon le sexe.....	33
Figure 23 : Répartition des patients atteints CCR selon l'âge et le sexe.....	33

Figure 24 : Répartition des malades selon la localisation des tumeurs.....	34
Figure 25 : Répartition des sujets malades selon le stade TNM.....	35
Figure 26 : Répartition des malades selon les antécédents familiaux.....	36
Figure 27: Répartition des fréquences génotypiques.....	37



Table des matières

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction

La partie théorique

Généralité sur le Cancer Colorectal

1. Colon et rectum.....	2
1-1 Anatomie du colon.....	2
1-2 Fonction physiologique.....	2
2. Le Cancer Colorectal.....	2
2-1 Définition.....	3
2-2 Histoire Naturelle.....	3
2-3 Les stades du CCR selon classification TNM	4
2-4 Epidémiologie.....	5
3. Classification des cancers colorectaux.....	7
3-1 Les formes héréditaires.....	7
3-1-1 Les formes polyposiques.....	8
1) La polypose adénomateuse familiale (PAF).....	8
2) Polypose liée à MUTYH (MAP).....	8

3-1-2 Les formes non polyposiques.....	11
1) Le syndrome de Lynch.....	11
3-2 Les formes Sporadiques.....	12
4. La Génétique du Cancer Colorectal	12
4-1 Les mécanismes moléculaires de la cancérogénèse colorectale.....	12
4-2 Les différents types d'instabilité génétique.....	13
4-2-1 L'instabilité chromosomique (CIN).....	13
4-2-2 L'instabilité microsatellitaire (MSI).....	13
4-2-3 L'Hyper méthylation des îlots CpG (CIMP).....	15
5. Etiologie du cancer colorectal	15

L'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA)

1. Le système Rénine Angiotensine (SRA).....	16
2. La Rénine	17
3. L'Angiotensinogène.....	17
4. Les Angiotensines.....	18
4-1 L'Angiotensine I.....	18
4-2 L'Angiotensine II	18
5. L'enzyme de conversion de l'Angiotensine (ECA).....	19
5-1 La protéine de l'ECA.....	19
5-2 Structure de l'ECA.....	19
5-3 La fonction et le rôle de l'ECA.....	20
5-4 Gène de l'ECA.....	21

Association polymorphisme I/D de l'ECA et Cancer colorectal.

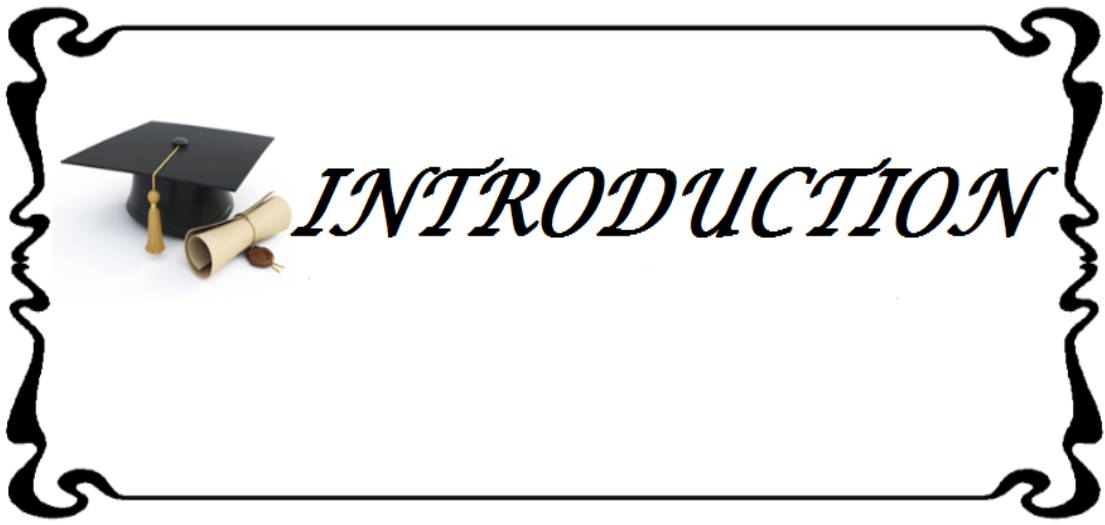
1. Polymorphisme génétique de l'ECA.....	22
2. Corrélation phénotype- génotype.....	23
3. L'association du polymorphisme I/D de l'ECA à la carcinogénèse	24

La partie pratique

Patients et Méthodes

1. Patients.....	25
-------------------------	-----------

1-1 Population étudiées	25
1-1-1 Population des patients.....	25
1-1-2 Population des témoins.....	25
2. Méthodes.....	25
2-1 Recueil des données	25
2-2 Prélèvement sanguin.....	26
3. Etude Moléculaire.....	26
3-1 Extraction de l'ADN	26
3-2 Génotypage de l'ECA.....	26
3-2-1 La PCR (Polymérase Chaine Réaction)	26
4. Analyses statistiques.....	29
Résultats et discussions	32
Conclusion	41
Bibliographie	42
Webographie	49
Annexes	



Introduction

Le cancer colorectal (CCR) se situe parmi les cancers digestifs les plus fréquents par sa fréquence et par sa gravité et atteint le colon ou le rectum. C'est le troisième cancer dans le monde après le cancer du poumon et le cancer du sein (Lecomte *et al*). Il constitue une part importante de la charge mondiale de morbidité et de mortalité, en effet près d'un million de cancer colorectal sont diagnostiqués, et près d'un demi-million de personnes en meurent chaque année soit environ 8% de tous les décès seront liés au cancer colorectal (Gingras et Béliveau, 2011).

En Algérie, le cancer colorectal est classé en troisième position, après le cancer du poumon et de la vessie, chez l'homme et le cancer du sein et du col utérus, chez la femme (Bouزيد, 2013). Cependant, au cours de ces dernières décennies, on a enregistré dans une augmentation alarmante du CCR et l'Algérie n'a malheureusement pas échappé à cette hausse.

L'Enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) est un composant important du Système Rénine Angiotensine, qui peut convertir l'angiotensine I (Ang I) en un peptide actif appelé l'angiotensine II (Ang II).

La découverte de polymorphisme I/D du gène *ECA* a été rapportée pour la première fois par (Rigat *et al.*, 1990). En effet, plusieurs études épidémiologiques ont évalué le polymorphisme insertion/délétion de l'ECA dans plusieurs cancers humains (Rocken, 2005 ; Medeiros, 2004). Dans cette étude nous avons assignés comme objectifs d'explorer la possibilité d'association entre le polymorphisme de l'ECA et la carcinogenèse dans le cancer colorectal.

Notre travail est réparti en :

- **une partie théorique** : Le côlon et le rectum (anatomie et physiologie), le cancer colorectal, ainsi que l'association de polymorphisme I/D de L'ECA dans le cancer colorectal.
- **une partie pratique** : Une étude cas/témoins, portant sur 69 sujets, dans le but de déterminer les différentes fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme I/D de L'ECA dans le cancer colorectal.

Partie théorique

Généralité sur le Cancer colorectal

1. Colon et rectum

1.1. Anatomie du côlon

Le côlon et le rectum forment une partie de la voie digestive, et ont pratiquement la même structure histologique. Le côlon fait suite à l'intestin grêle (MALLEM, 2010).

Le gros intestin est divisé en sept parties : le cæcum, le côlon ascendant, le côlon transverse, le côlon descendant et le côlon sigmoïde, le rectum et l'anus.

La longueur du côlon varie de 1,45 m à 1,65 m selon la taille de l'individu, le calibre du côlon diminue progressivement du cæcum (8,5 cm de diamètre) au sigmoïde (2,5 cm) (MALLEM, 2010).

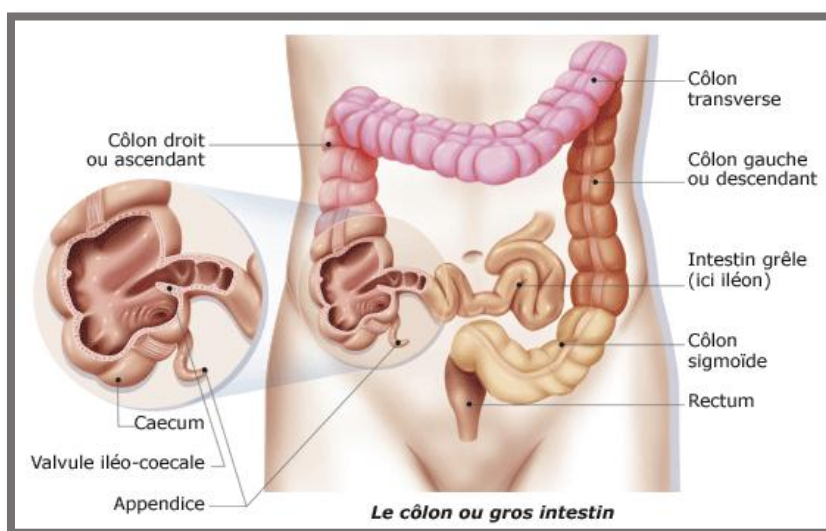


Figure 01 : Les différentes parties du côlon(w1).

La paroi du côlon est constituée de 5 couches différentes qui se superposent : La muqueuse, la musculaire-muqueuse, la sous-muqueuse, la musculuse et la séreuse (Guillaume, 2008).

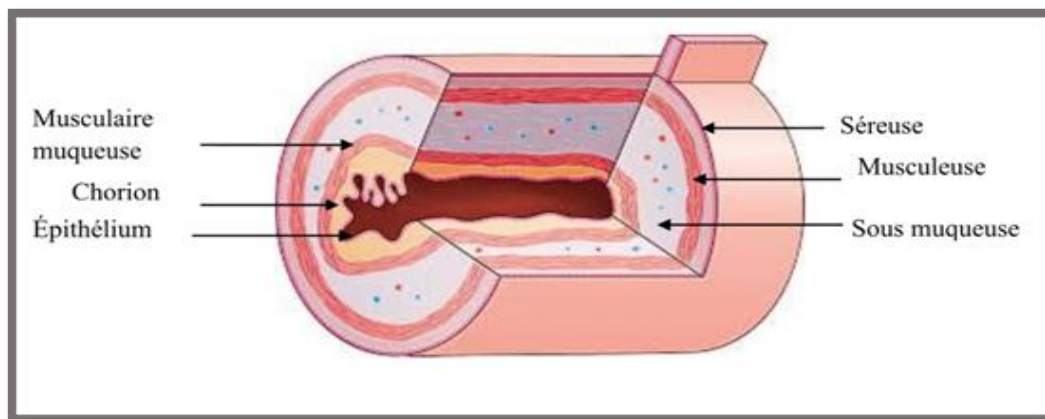


Figure 02 : Les différentes couches de la paroi du côlon (Schäffleret al. 2004).

1.2 Fonction physiologique

Concernant le colon on distingue des fonctions différentes, en effet :

- **motricité** : La paroi du gros intestin, notamment au niveau du côlon ascendant et du côlon transverse, possède une motricité accrue permettant le brassage, l'avancée, puis le stockage des matières (KOHLENER, 2010).
- **absorption d'eau et d'éléments nutritifs** : Le gros intestin intervient dans l'absorption de l'eau, ainsi que de différents éléments nutritifs (KOHLENER, 2010).
- **rôle protecteur du gros intestin** : Au niveau du cæcum, un sphincter permet d'empêcher le retour de matière vers l'intestin grêle. Le gros intestin a également la capacité de se défendre contre les agressions chimiques et mécaniques par la sécrétion de mucus, protégeant la muqueuse (KOHLENER, 2010).
- **le rectum** : Sa fonction principale est de stocker les selles avant qu'elles soient évacuées par l'anus (KOHLENER, 2010).

2. Le cancer colorectal

2.1 Définition

Le terme «cancer colo-rectal» s'applique à l'ensemble des cancers du gros intestin (carcinome colique) et du rectum (carcinome rectal) (w2).

Il est très fréquent et touche essentiellement les personnes de plus de 60 ans. Il se caractérise par des proliférations cellulaires malignes au niveau de la muqueuse du côlon et du rectum donnant lieu à une tumeur (w 3).

On parle de cancer colorectal de façon générale du fait de leurs similitudes dans de très nombreux points, une des seules différences, provient du fait qu'il touche autant d'homme que de femme dans sa localisation colique (w 3).

2.2 Histoire Naturelle

Le CCR est un adénocarcinome glandulaire qui se développe au niveau de la muqueuse colique. Le processus de carcinogenèse s'étend sur plusieurs années et donne lieu à une transformation cellulaire passant d'un aspect normal à un aspect néoplasique (CADI, 2010). Lors de la cancérogenèse colique, une hyper prolifération de l'épithélium colique apparaît au niveau des cryptes. Les cellules des cryptes aberrantes s'accumulent au-dessus de la muqueuse ce qui aboutit à la formation d'un polype adénomateux, macroscopiquement visible (Goldman *et al.*, 2013). Il s'agit là d'une véritable lésion précancéreuse qui correspond

Généralité sur le cancer colorectal

à l'expansion clonale de cellules mutées. Le franchissement et l'infiltration des différentes couches de la paroi du côlon ou du rectum définit l'étape de la transformation adénocarcinomateuse (Figure 03).

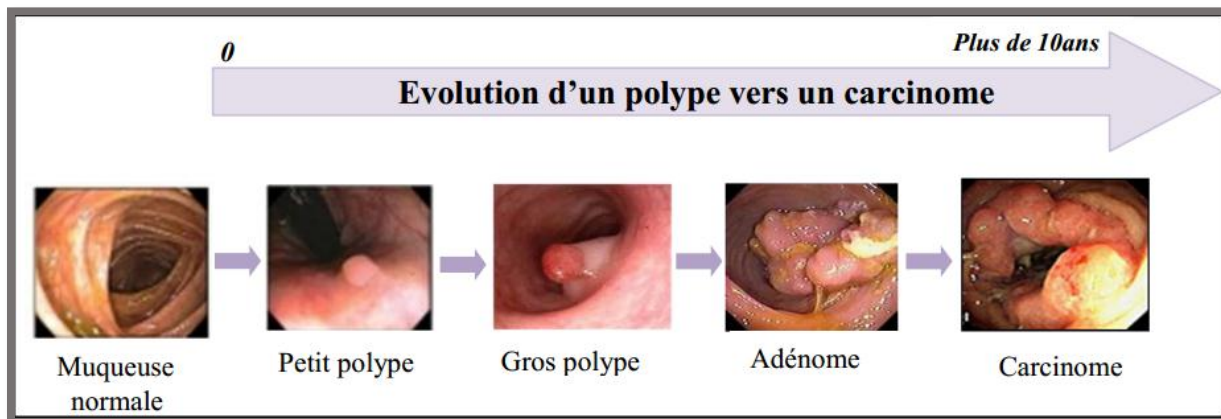


Figure 03 : Evolution du cancer colorectal dans le temps (w4).

En effet dans 60 à 80% des cas, le CCR se développe à partir d'une lésion précancéreuse qui est le polype adénomateux, résultant d'une hyper prolifération de la glande Lieberkühn (Abid, 2011). Cette dernière est une glande tubuleuse située dans le chorion de la muqueuse formant à partir d'invagination de l'épithélium (Brooker, 2000). Il existe quatre variétés histologiques de polypes colorectaux bénins (les polypes adénomateux, les polypes hyperplasiques, les polypes juvéniles, et les pseudo-polypes inflammatoires) (Bridou, 2012).

2.3 Les stades du CCR selon classification TNM

Les CCR sont classés selon l'importance de leur diffusion locale, régionale ou à distance au moment du diagnostic. La diffusion initiale de la maladie dépend le pronostic du patient et sa prise en charge thérapeutique. Cette classification est basée sur des données histologiques et d'imageries, afin de faciliter la prise en charge des patients.

La Première classification a été proposée par Dukes en 1932. Inadaptée pour les stades de gravité incertaine, cette classification a été modifiée à plusieurs reprises entre autre par Astler-Coller. Bien que largement utilisées jusque dans les années 1990, ces deux classifications ont été abandonnées, étant sources de confusion. Une classification dite pTNM, basée sur le degré de l'envahissement pariétal (T), l'importance de l'envahissement ganglionnaire loco-régional (N) et la diffusion à distance par la présence de métastases (M), a été adoptée. Depuis Janvier 2010, il est recommandé d'utiliser la classification pTNM 7^{ème} édition de L'Union

Généralité sur le cancer colorectal

internationale contre le cancer (UICC) et l'American Joint Committee on Cancer (AJCC)(Hari *et al.*, 2013) (Annexe 1).

Ces différentes informations permettent de classer les cancers du côlon en cinq stades(Compton *et al.*, 2000) (figure 04) (Annexe 2).

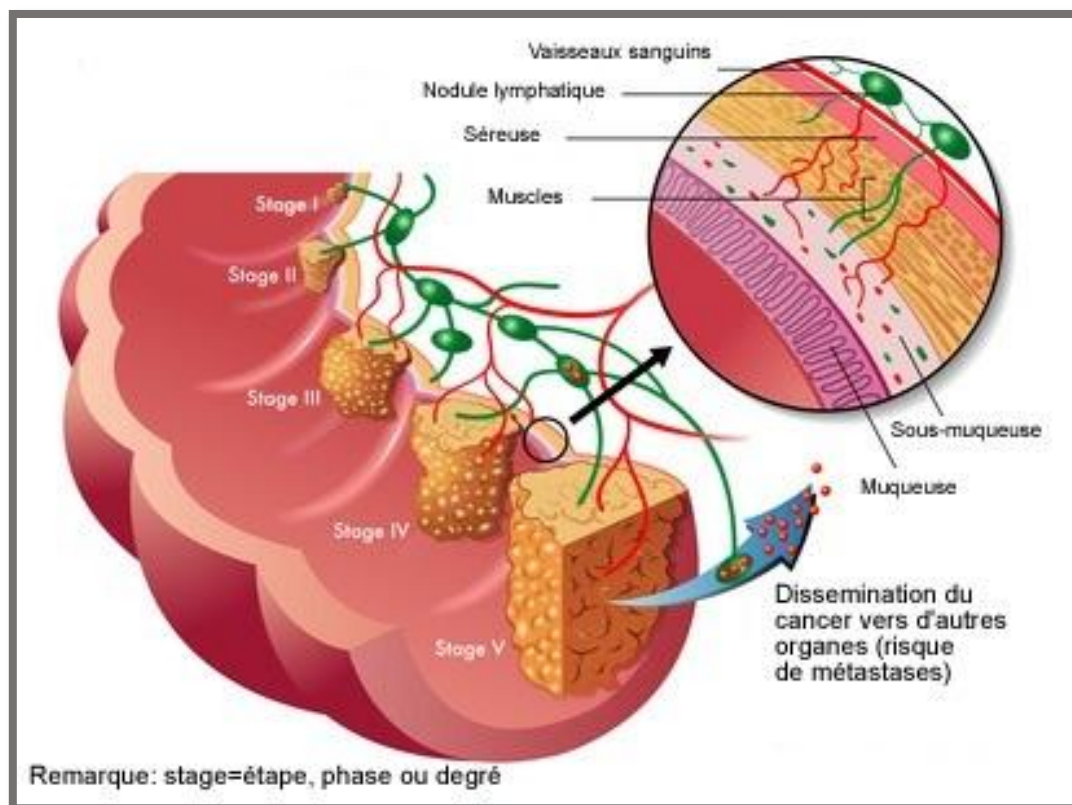


Figure 04 : Représentation schématique des différents stades du cancer colorectal (w 5).

2.4 Epidémiologie

Au monde :

Le CCR est une préoccupation majeure de santé publique dans le monde. Il occupe le troisième rang à l'échelle mondiale chez les deux sexes confondus. Selon l'OMS, le cancer colorectal représente 13% de tous les cancers (Ferlay *et al.*, 2013). On a estimé le nombre de nouveaux cas de cancers colorectaux à 1,4 millions en 2012 contre 1,2 millions en 2008, ce qui montre une relative augmentation de l'incidence des cancers colorectaux(Ferlay *et al.*, 2013).

Généralité sur le cancer colorectal

Pour cette même période, par sa fréquence le CCR est classé le troisième chez les hommes avec 746.000 nouveaux cas (10%) et le deuxième chez les femmes avec 614.000 nouveaux cas (9,2%)(IARC, 2012).

L'incidence des cancers colorectaux est la plus élevée pour les deux sexes, dans les régions d'Amérique du nord (Etats Unis et Canada), Australie, Nouvelle Zélande et plus récemment au Japon. L'incidence la plus faible se rencontre en Asie dans des pays comme l'Inde et la Thaïlande, en Amérique du Sud, en Afrique. Les pays d'Europe se situent à un niveau de risque intermédiaire. Les incidences les plus élevés se rencontre à Luxembourg, en Irlande et au Danemark, et les plus basses dans les pays du Sud comme la Grèce, l'Espagne, le Portugal et les pays de l'Europe de l'Est(Center *et al.*, 2009).

En Algérie :

Dans notre pays, les cancers digestifs présentent 20% - 25% de tous les cancers dans 50% ce sont des cancers colorectaux (Abid et Berkane, 2009).

L'incidence du CCR est en augmentation constante ces dernières années. En 2012 on a trouvé un taux de mortalité de 10%, ce qui le rapproche progressivement des chiffres occidentaux (Meddah *et al.*, 2009). Il représente par sa fréquence, la troisième pathologie cancéreuse après celui du sein et du col utérin chez la femme, et après celui du poumon et de la vessie chez l'homme (Ferlay *et al.*, 2015).

En 2014 :

- Chez les hommes : 2687 nouveaux cas ont été signalé. Le taux brute d'incidence est de 13.5/100 000 et il est classé en deuxième position après le cancer du poumon(Hamdi *et al.*, 2015).
- Chez les femmes : 2245 nouveaux cas ont été enregistré, le taux brute de l'incidence et de 11.2/100 000 et il est classé en deuxième position après le cancer du sein (Hamdi *et al.*, 2015).

La fréquence d'apparition du CCR augmente avec l'âge et son incidence double ensuite à chaque décennie. En effet, il est rare avant 50 ans, mais au-delà son incidence augmente très rapidement. L'incidence maximale se situe entre 50 et 70 ans avec un âge moyen de diagnostic d'environ 70 ans(Faivre, 2001).

3. Classification des cancers colorectaux

Parmi les CCR, on distingue les formes sporadiques (fortement majoritaires) et les formes familiales (ou héréditaires) qui surviennent chez des individus porteurs de prédispositions génétiques.

Dans les CCR sporadiques, des altérations génétiques sont retrouvées uniquement dans les cellules somatiques. En revanche, dans les formes héréditaires, on retrouve des altérations dans les cellules germinales, les cellules tumorales présentant ces mêmes altérations accompagnées de nombreuses autres modifications *de novo* (GUILLEMOT, 2013).

Environ 5% des CCR sont liées à des anomalies génétiques constitutionnelles, mutations du gène *APC* dans la polypose adénomateuse familiale (PAF) et mutation du système de réparation de l'ADN MMR dans le syndrome de Lynch ou syndrome HPNCC (SEDKAOUI, 2015).

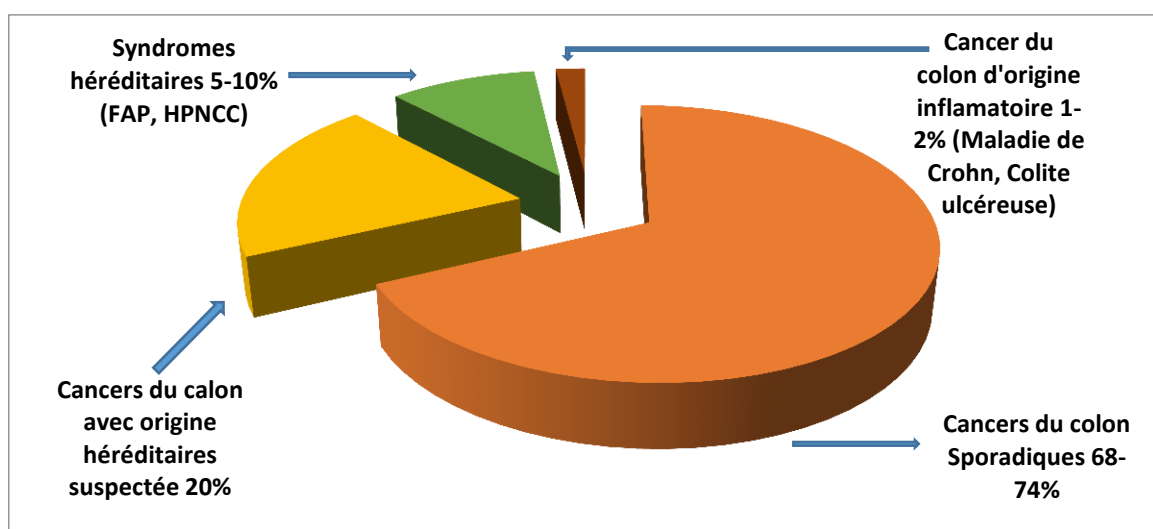


Figure 05 : Répartition des différents types de cancers du côlon (Weitz *et al.*, 2005).

3.1 Les formes Héréditaire

Les syndromes prédisposant au CCR ont tout d'abord été définis par leur présentation clinique avant que les gènes responsables ne soient identifiés. On peut distinguer principalement les polyposes et le syndrome de Lynch (OMIM : 120435 et 609310).

Chaque syndrome a son mécanisme propre : la polypose adénomateuse familiale est liée à une instabilité chromosomique, le syndrome de Lynch est caractéristique du phénotype MSI. La polypose liée à *MUTYH* est pour le moment la moins bien caractérisée (LEFEVRE, 2012).

3.1.1 Les formes polyposiques

1) Polypose adénomateuse familiale (PAF)

La Polypose Adénomateuse Familiale (PAF) est le syndrome le plus connu de prédisposition héréditaire au cancer colorectal, elle représente ~0,5% de l'ensemble des CCR (Fearon, 2011). La PAF se définit par l'apparition de plusieurs centaines de polypes (présence de 100 à 1000 polypes) au niveau du côlon et du rectum apparaissant le plus souvent à la puberté, ces polypes grossissant progressivement pour dégénérer et se transformer en cancers malins qui apparaissent dès l'âge de 20 ans (Haffen, 2012).

Ce syndrome est de transmission autosomique dominante avec une pénétrance de 100%. Son apparition est consécutive à une mutation congénitale sur le gène *APC* (GenBank ID : 324), ce gène suppresseur de tumeur situé sur le locus 5q21. Constitué de 15 exons avec une séquence de 8532 paires de bases (figure 06) code pour une protéine de 2843 acides aminés (Macrae *et al.*, 2009), joue un rôle dans la régulation de la prolifération cellulaire et au maintien de l'apoptose à travers son interaction avec la β -caténine.

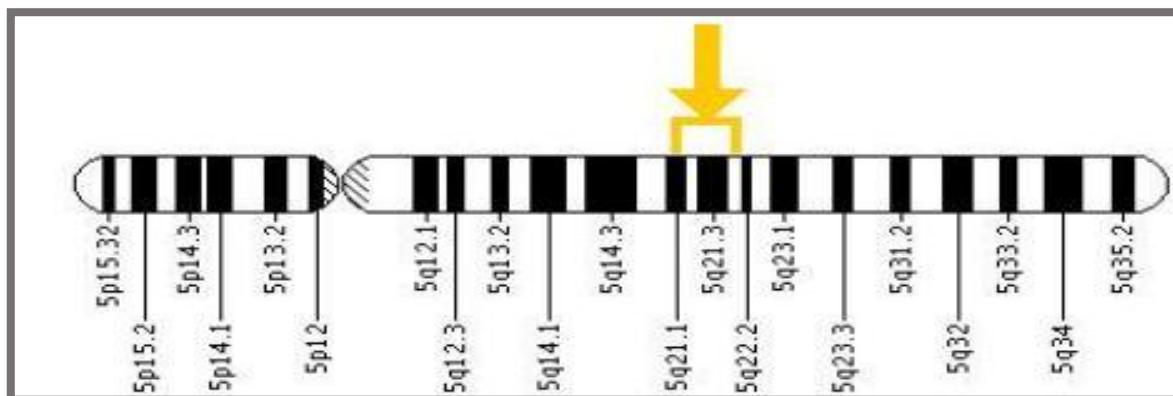


Figure 06 : La localisation du gène *APC*(w6).

Les mutations congénitales d'*APC* sont les plus souvent des mutations ponctuelles (Nagase *et al.*, 1992). En effet les mutations de *novovo* d'*APC* sont responsables d'environ 20 à 25% des cas de PAF (Jasperson *et al.*, 2010). Des cas de néo mutation en mosaïque ont également été décrits dans 20% des cas (Hes *et al.*, 2008) (Figure 07).

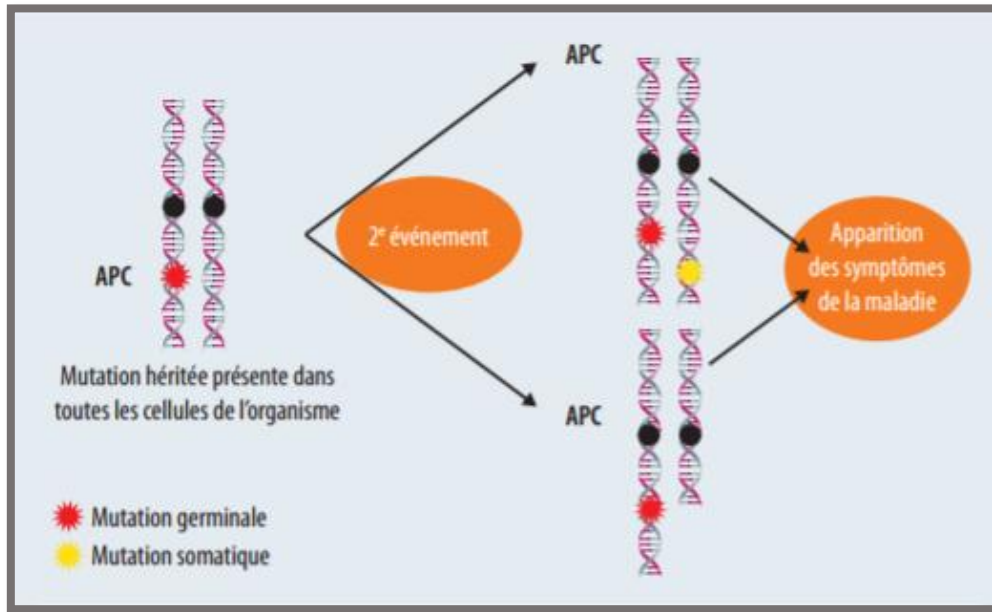


Figure 07 : Génétique de la polypose adénomateuse familiale(Lefèvre, 2013).

2) Polypose liée à *MUTYH* (MAP)

En 2002, N. Al-Tassan et son équipe rapportent le cas d'une famille anglaise où 3 enfants sur 7 présentaient des polypes nombreux et des cancers colorectaux tous découverts avant 50 ans(Al-Tassan *et al.*, 2002). Les parents ne présentaient aucun antécédent de cancer. Tout le gène APC fut séquencé sans qu'aucune mutation congénitale soit retrouvée, mais il existait 18 mutations acquises, dont 15 (83%) étaient des transversions (remplacement d'un doublet G:C par un doublet T:A). Dans ces tumeurs, les mutations bi-alléliques retrouvées inactivaient la protéine APC. Cette découverte conduisit l'équipe à étudier les 3 gènes du système BER impliqués dans la réparation des lésions induites par la 7,8-dihydro-8-oxoguanine (8-oxoG) et conduisant à des transversions G:C→T:A. Seul le gène *MUTYH* (GeneID: 4595) présentait des mutations congénitales: Tyr165Cys et Gly382Asp.

La protéine *MUTYH*, codée par le gène *MUTYH* se situe sur le chromosome 1 entre les bandes p34.3 et p32.1 et s'étend sur 11.2 kb. Il comprend 16 exons couvrant environ 1,6 de séquence codante (Slupska *et al.*, 1996), la *MUTH* est une ADN glycosylase du système de réparation par excision de bases BER (Base Excision Repair) qui joue un rôle majeur dans la réparation des lésions oxydatives de l'ADN (figure 08).

Généralité sur le cancer colorectal

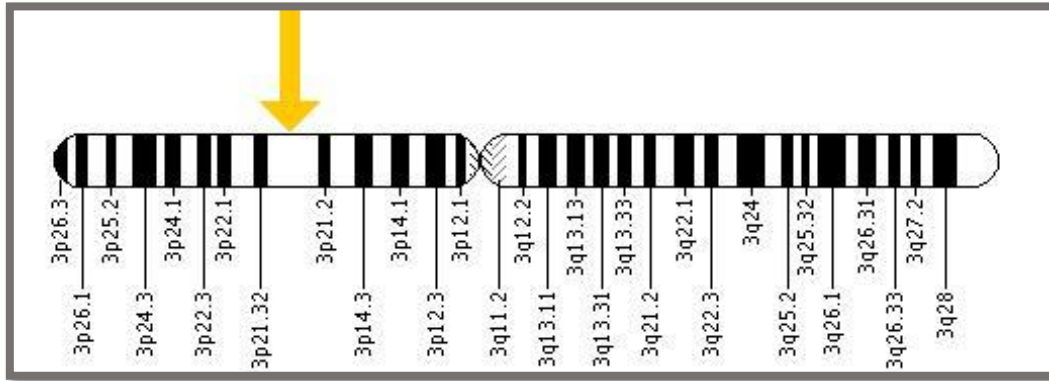


Figure 08 : Localisation du gène MUTYH (Ibosquet 2012).

La 8-oxoG est une lésion oxydative fréquente de l'ADN qui peut être causée au cours du métabolisme cellulaire normal ou à la suite d'un stress oxydant environnemental.

Le syndrome MAP est de transmission autosomique récessive avec mutation bi-allélique des allèles de MUTYH à la naissance. L'absence d'activité de MUTYH entraîne l'accumulation de transversion G:C→T:A sur le gène APC, notamment au niveau des séquences GAA, ce qui conduit à un codon stop. Ces derniers vont finir par inactiver somatiquement l'APC, entraînant l'apparition de polypes puis d'un cancer colique (figure 09).

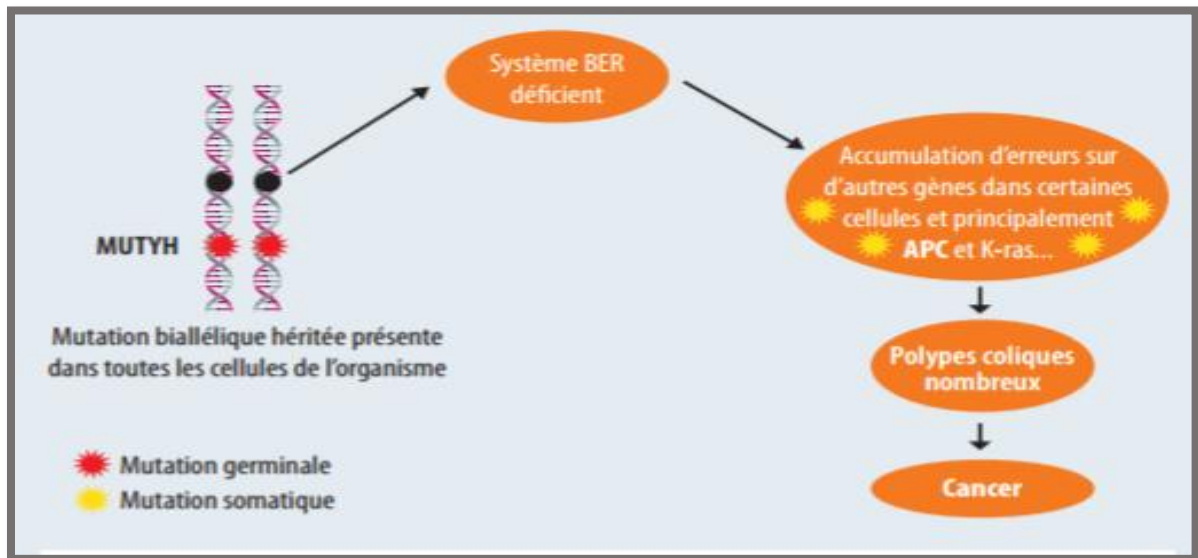


Figure09 : Génétique du syndrome MAP (*MUTYH-Associated Polyposis*) (Lefèvre, 2013).

3.1.2 Les forme non polyposique

1) Le syndrome de Lynch

Près de 3% des cas de CCR sont attribués au syndrome de Lynch ou syndrome HNPCC, il a une transmission autosomique dominante à forte pénétrance (80-85%) et il représente la forme la plus fréquente des CCR Héritaires.

Il expose également les patients à d'autres cancers mais avec une fréquence beaucoup plus faible : estomac 15%, ovaire 10%, hépatobiliaire 5%, tractus urinaire supérieur 5%, pancréas 3%, intestin grêle 3% et glioblastome 2%)(LEFEVRE, 2012).

Ce Syndrome est lié à une mutation germinale d'un des gènes impliqués dans le système de réparation des mésappariements MMR qui surviennent lors de la réplication de l'ADN(SEDKAOUI, 2015). Ce système est composé de 4 gènes appelés *MLH1* (chromosome 2), *MSH2* (chromosome 3), *MSH6* (chromosome 2), et *PMS2* (chromosome 7). Les mutations sur *hMLH1* et *hMSH2* représentent environ 90% des SL ; *hMSH6* environ 10% et *hPMS2* est rarement trouvée mutée(Peltomäki et Vasen, 2004), ces mutations se traduisant par un phénotype MSI. En accord avec la théorie de Knudson (Knudson, 1971), les mutations doivent être bialléliques afin d'inactiver ces gènes suppresseur de tumeurs. Les principaux gènes impliqués dans la survenue de syndrome HNPCC sont mentionnés en (Annexe 3).

Dans certaines familles présentant un phénotype de syndrome de Lynch typique avec un phénotype MSI et une perte d'expression de *MSH2*, aucune mutation germinale n'est identifiée sur un des gènes du système MMR. Récemment, certains de ces cas ont été explicités par l'existence d'une délétion germinale du gène *EpCAM* (également nommé *TACSTD1*)(Guarinos *et al.*, 2010). La délétion provoque une fusion des transcrits *EpCAM-MSH2* responsable de l'inactivation de la protéine et serait responsable d'environ 6% des SL (Niessen *et al.*, 2009). Il existe enfin quelques cas décrits de méthylation germinale du promoteur de *hMLH1* responsable de SL sans mutation germinale identifiée (Van Roon *et al.*, 2010).

En effet, plusieurs outils ont été décrits pour poser le diagnostic de ce syndrome. Le Consortium International sur le syndrome HNPCC énonce des critères, dits d'Amsterdam, définissant ce syndrome sur le plan clinique selon trois critères : Critère de nombre, d'apparenté et d'âge. Ces critères ont été retenus en 1991 à Amsterdam(critères d'Amsterdam

I)(Vasen *et al.*, 1991), puis ils ont été modifiés en 1998(Vasen *et al.*, 1999)Amsterdam II (Annexe 4),et Bethesda en 1997 puis révisé en 2004(Umar *et al.*, 2004) (Annexe 5).

3-2 Les formes Sporadique

Par opposition aux formes familiales, on définit les formes sporadiques qui représentent la majorité des CCR dans 95% des cas(Lamber, 2009). Cette catégorie de cancer est représentée par tous les CCR isolés pour lesquels il n'existe pas d'histoire familiale. Ils sont caractérisés par une apparition nettement plus tardive et sont peu fréquentes avant 50ans avec une augmentation sensible après 60ans (Weitz *et al.*, 2005). Ces cancers résultent d'un nombre important des mutations exclusivement somatique dans différents gènes impliqués dans le processus de cancérisation (Sameer, 2013).

4 La génétique du Cancer Colorectal

L'étude des formes héréditaires de cancers du côlon a permis de mieux comprendre les mécanismes responsables du développement des CCR sporadiques. Il est maintenant reconnu que les CCR sporadiques progressent par étape depuis une hyper prolifération du tissu épithélial jusqu'à la formation d'un adénome invasif. Cette évolution est connue sous le nom de séquence (adénome-carcinome). En effet, la bonne connaissance de l'évolution phénotypique des CCR a conduit Vogelstein et Fearon à proposer, pour la première fois en 1990, un modèle génétique de développement des CCR, qui est défini par une accumulation multi-étapes d'anomalies génétique chronologiquement déterminées(Fearon et Vogelstein, 1990)(Figure 10).

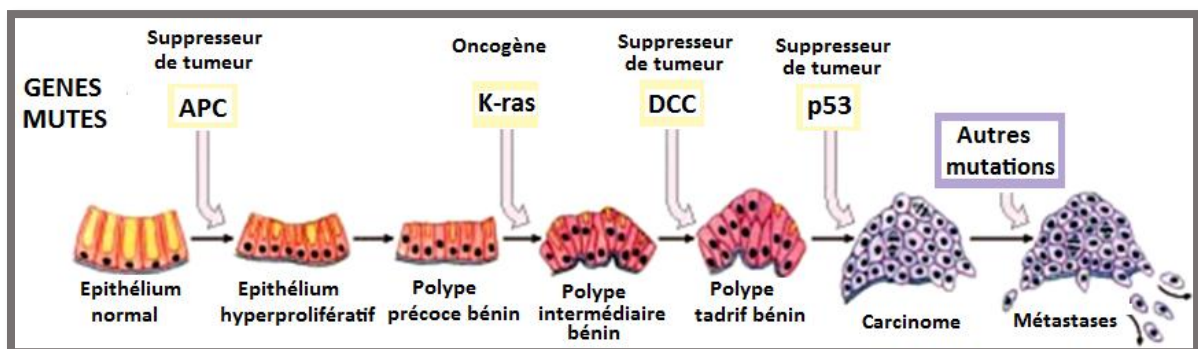


Figure 10 : Modèle génétique de la cancérogénèse colorectale selon Fearon et Vogelstein.

4-1 Les mécanismes moléculaires de la cancérogénèse colorectale

Les récents progrès de la biologie moléculaire ont permis d'identifier les différentes altérations et mécanismes moléculaires à l'origine de la cancérogénèse colorectale. Les deux mécanismes moléculaires fondamentaux sont : L'instabilité chromosomique (CIN) et

l'instabilité génétique (MSI) (Lengauer et al., 1998). Plus récemment, un troisième mécanisme d'instabilité a été identifié : L'Hyper méthylation des îlots CpG (CIMP).

4-2 Les différents types d'instabilité génétique

4-2-1 L'instabilité chromosomique (CIN)

Elle représente d'environ 80% des cancers sporadiques et est caractérisée par des anomalies de nombre des chromosomes et des pertes alléliques sur les bras courts des chromosomes 8, 17 et sur le bras long des chromosomes 5, 18 et 22 (Laurent-Puig *et al.*, 2010). Ces régions renferment des gènes majeurs tels que : *APC* en 5q ; *Tp53* en 17p ; *DCC* en 18q ; *SMAD2*, *SMAD4*; *MCC* en 5q (Laurent-Puig *et al.*, 2005). Ces anomalies sont le plus souvent associées à des mutations sur les gènes *APC* ou *Tp53* qui entraînent une inactivation complète de ces gènes suppresseurs de tumeur. La CIN a notamment pour conséquences un déséquilibre du nombre de chromosomes (aneuploïdie) et une fréquente perte d'hétérozygotie (Loss of Heterozygosity ou LOH) (Pino et Chung, 2010). En effet une des fonctions de la protéine *APC* est de maintenir la polymérisation des microtubules du noyau cellulaire (Fodde *et al.*, 2001).

4-2-2 L'instabilité microsatellitaire (MSI)

Ce mécanisme est retrouvé dans environ 15% des CCR (Laurent-Puig *et al.*, 2010), avec 3% des MSI associés au syndrome de Lynch et 12% retrouvées dans les cancers sporadiques (Boland et Goel, 2010). Il se caractérise par une instabilité des loci microsatellitaires (séquences d'ADN formées par la répétition continue de 1 à 4 nucléotide, qui sont très fréquentes dans l'ensemble du génome et sont particulièrement à risque d'être mal répliquées par l'ADN polymérase), liée à un défaut de réparation des mésappariements de l'ADN, tâche normalement dévolue au système MMR. Le système MMR peut être inactivé en cas de mutation germinale associée à une mutation somatique (Syndrome de Lynch) ou par méthylation du promoteur de *hMLH1* qui inactive sa transcription (forme sporadique) (LEFEVRE, 2012). La perte de l'une des fonctions des protéines du système MMR est responsable d'une déficience de la réparation conduisant à l'accumulation de mutations secondaires au niveau des séquences micro-satellitaires, ce qui entraîne une instabilité génétique (Grady, 2004). Cette instabilité micro-satellitaire confère aux cellules tumorales un phénotype dit MSI+ ou anciennement RER+.

4-2-3L'Hyper méthylation des îlots CpG (CIMP)

Le phénotype CIMP est retrouvé dans environ 20 à 30% des CCR (Weisenberger *et al.*, 2006). Il est plus fréquent dans les tumeurs du colon droit et les tumeurs peut différencier (SEDKAOUI, 2015). La méthylation est l'ajout d'un groupement méthyle sur une base cytosine de l'ADN. C'est un phénomène de régulation transcriptionnelle importante dans la cellule (figure11).

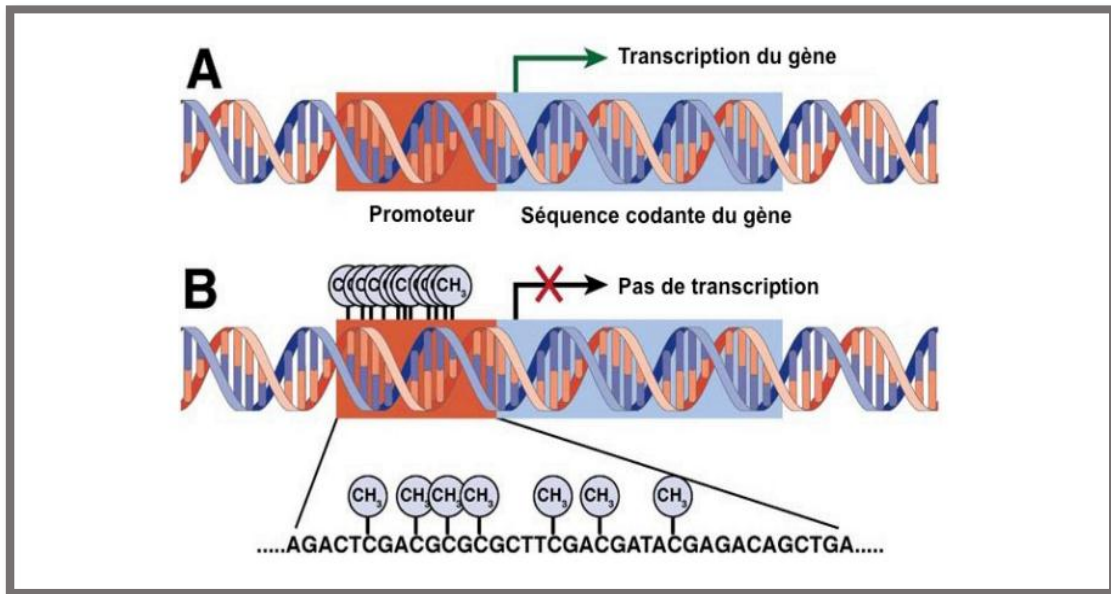


Figure 11 : Mécanisme d'inactivation de la transcription (Leggett et Whitehall, 2010).

La caractéristique principale associée à ce groupe de CCR est l'hyper méthylation de la région promotrice de nombreux gènes. Ce dérèglement touche les cytosines des îlots CpG des régions régulatrices des gènes et entraîne leur inactivation transcriptionnelle aboutissant ainsi à l'abolition de leur expression. Dans le CCR, plusieurs gènes suppresseurs de tumeurs peuvent être inactivés à travers ce phénomène conduisant au phénotype CIMP (Cheng *et al.*, 2008). Cette altération épigénétique est également à l'origine du phénotype MSI dans les CCRs sporadiques avec l'hyper méthylation du promoteur du gène *mlh1* (Boland et Goel, 2010).

5. Etiologie du cancer colorectal

Le cancer colorectal n'est pas attribuable à une cause unique, mais certains facteurs connus pourraient augmenter le risque qu'une personne en soit atteinte :

- ✓ La consommation d'alcool entraîne une augmentation du risque de CCR de 9% par verre d'alcool consommé par jour (w7).

Généralité sur le cancer colorectal

- ✓ Le surpoids et l'obésité entraînent une augmentation du risque de CCR de 15% pour une augmentation L'IMC (Indice de Masse Corporelle) de 5Kg/ m². Une augmentation significative du risque est également observée avec l'augmentation l'adiposité abdominale (w7).
- ✓ Le risque du CCR est augmenté de 29% par portion de 100g de viande rouge consommée par jour et de 21% par portion de 50g de charcuterie consommée par jour (w7).
- ✓ Le tabac augmente le risque de CCR de 20% après 30ans de tabagisme (Botteri *et al.*, 2008).

❖ Les facteurs protecteurs :

La pratique d'activité physique diminue le risque de CCR de 18 à 19% selon le type d'activité physique considéré et son intensité (w7).

Les aliments riches en fibre et en calcium (plus spécifiquement la consommation de lait) diminuent le risque de CCR (w7).

L'enzyme de conversion de L'Angiotensine (ECA)

Enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA)

L'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) est une enzyme clé du SRA (Système Rénine-Angiotensine), qui peut convertir l'angiotensine I (Ang I) en un peptide actif appelé l'angiotensine II (Ang II). Plusieurs études ont été faites sur l'ECA et le risque de développement des cancers humains, notamment le cancer colorectal, le cancer du sein et de la prostate (Röcken *et al.*, 2005 ; Medeiros *et al.*, 2004).

1. Le système Rénine Angiotensine (SRA)

Le système rénine-angiotensine joue un rôle prépondérant dans l'homéostasie sanguine et le contrôle des fonctions cardiovasculaires de l'organisme (Laragh et Sealey, 2010).

Il est composé d'enzymes protéolytiques telles que la rénine et l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA), mais également de peptides ayant ou non un potentiel vasoactif (angiotensinogène, l'angiotensine I et l'angiotensine II), ainsi que de deux types de récepteurs à sept domaines transmembranaire (RAT1 et RAT2) jouant le rôle de protéines fonctionnelles de ce système (Abdull, 2010).

La mobilisation du SRA fait suite à une activation des cellules spécialisées de l'appareil juxta-glomérulaire au niveau rénal en réponse à une baisse de pression artérielle ou une diminution de l'osmolarité plasmatique. En effet, les cellules myoépithélioïdes de l'artériole afférente du glomérule, dans lesquelles est synthétisée et stockée la rénine qui va être ensuite sécréter sous sa forme active dans la circulation. La rénine ainsi diffuse dans les compartiments plasmatique, lymphatique et interstitiel où elle agira sur son substrat, l'angiotensinogène produite par le foie, en vue de sa transformation en angiotensine I (Ang I). À son tour, l'Ang I sera converti en angiotensine II (Ang II) par l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) qui est généralement présente sur le lit vasculaire endothélial des vaisseaux sanguins. L'Ang II, en se fixant à ses récepteurs AT1 et AT2, régule la pression artérielle en induisant une vasoconstriction et en augmentant la volémie par l'intermédiaire de l'aldostérone (Abdull, 2010).

Enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA)

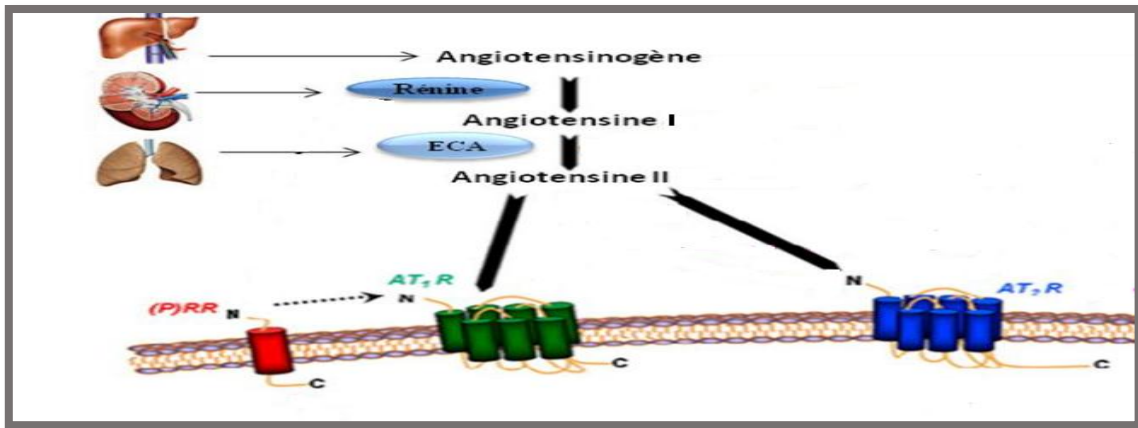


Figure 12 : Le système Rénine Angiotensine (Jones *et al.*, 2008).

2. La Rénine

La rénine appartient à la famille très ancienne des aspartyl protéases sécrétée par les cellules juxta-glomérulaires rénales et est initialement synthétisée sous forme de prépro-rénine. Il s'agit d'une pro-enzyme de 406 résidus d'acides aminés dont le clivage d'une séquence de 23 acides aminés produit la pro-rénine (383 acides aminés). Cette dernière, à son tour, sera tronquée de 43 acides aminés pour former la rénine (Abdull, 2010).

La rénine a la particularité d'avoir un pH optimum (5 à 7,5 pour la rénine humaine) beaucoup plus alcalin que les autres aspartyl protéases qui agissent habituellement dans des conditions de pH comprises entre 2 et 4. Par ailleurs, la rénine possède un substrat spécifique (l'angiotensinogène), alors que les autres aspartyl protéases ne présentent pas cette spécificité d'action (Gould et Green, 1971).

3. L'Angiotensinogène

L'angiotensinogène, est une glycoprotéine appartenant à la famille des inhibiteurs des sérine-protéases (serpines) qui sont des protéines hépatiques jouant un rôle dans l'inflammation, comme l' α 1-antitrypsine, l'antithrombine III et l'ovalbumine (Doolittle, 1983). L'angiotensinogène est toujours le seul substrat connu qui est soumis à l'activité enzymatique de la rénine et par conséquent, le précurseur direct de l'angiotensine I (Lefebvre, 2008).

L'angiotensinogène est principalement synthétisé et sécrété dans le foie. Il existe néanmoins d'autres lieux de synthèse d'angiotensinogène comme le cerveau, le rein, le cœur et la glande surrénale (Gardier, 2004).

Enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA)

Le gène de l'angiotensinogène est situé sur le chromosome 1 locus q42-q43 et se compose de 5 exons et de 4 introns, totalisant près de 13000 bases (13 kb) (w9).

Il n'y a pas de processus de stockage de l'angiotensinogène et son taux de sécrétion est donc principalement régulé au niveau transcriptionnel. Les œstrogènes, les glucocorticoïdes, les hormones thyroïdiennes et l'angiotensine II augmentent la sécrétion d'angiotensinogène (Gardier, 2004).

4. Les Angiotensines

4-1 L'Angiotensine I

L'angiotensine I (Ang I) est le produit de la réaction de la rénine sur son substrat l'angiotensinogène. Elle clive son substrat entre l'acide aminé en position 10 (leucine) et celui en position 11 (leucine ou valine chez l'homme) pour libérer l'angiotensine I. Ce peptide, dont la séquence correspond aux 10 acides aminés NH₂ terminaux de l'angiotensinogène est une molécule inactive, qui peut être clivée par différentes enzymes pour produire des peptides biologiquement actifs, dont l'angiotensine II (Ang II), considérée comme l'effecteur majeur du SRA (Gardier, 2004).

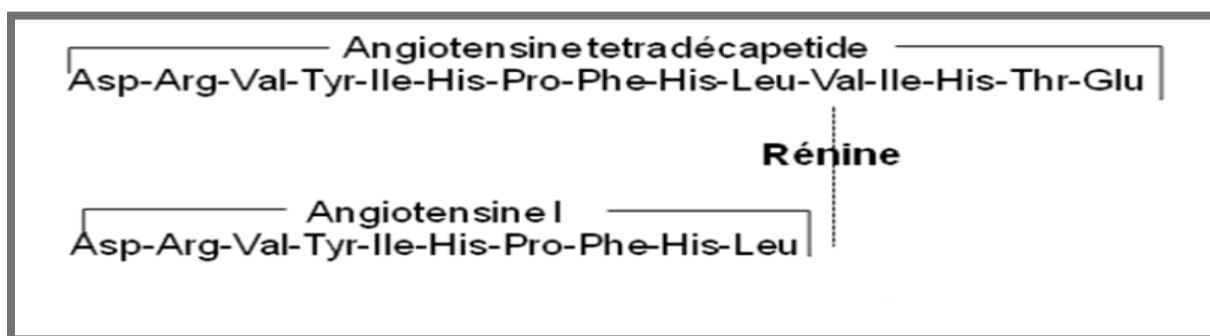


Figure 13 : Synthèse de l'Angiotensine I par la rénine (Wright et Harding, 2008).

4-2 L'Angiotensine II

Une métallo-protéase à zinc, l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA), transforme l'Angiotensine I en Angiotensine II (Ang II), qui est un octapeptide physiologiquement actif et un puissant vasoconstricteur. D'autres enzymes comme les chymases produites dans le cœur, constituent une voie parallèle de synthèse de l'Ang II, c'est l'hormone peptidique la plus puissante du SRA. Elle a de nombreuses fonctions telles que la régulation de la PA, le tonus vasculaire et le contrôle de la rétention d'eau (Kim *et al.*, 1995). Elle influence aussi les fonctions endothéliales et stimule l'inflammation, la prolifération et le processus de thrombose (Schrader *et al.*, 2007).

Enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA)

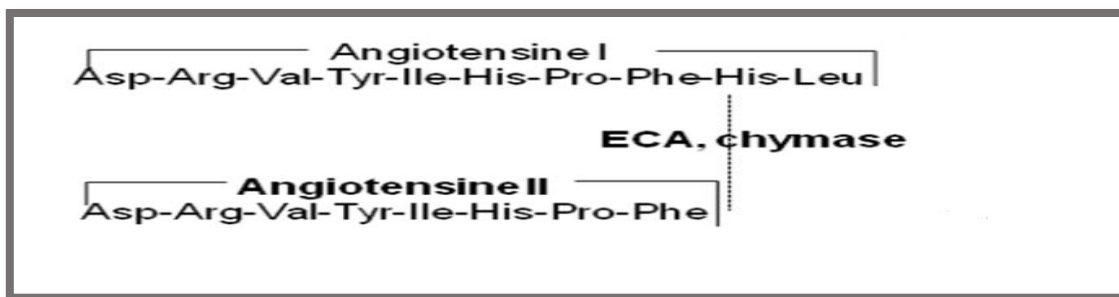


Figure 14 : Synthèse de L'Angiotensine II par l'ECA (Wright et Harding, 2008).

5. L' enzyme de conversion de l' Angiotensine (ECA)

5-1 La protéine de l'ECA

L'ECA est une enzyme ubiquitaire, à Zinc très répandue chez les Mammifères et très largement distribuée dans l'organisme puisqu'elle est présente dans presque tous les tissus (Laraqui, 2006 ; Gardier, 2004). Elle est connue sous différentes dénominations, comme la dipeptide carboxypeptidase ou la peptidyl peptide hydrolase ou Kininase II (EC 3.4.15.1) (Laraqui, 2006 ; Lefebvre, 2008). Elle a de nombreux substrats: angiotensine I, bradykinine, enképhaline. La séquence complète en acides aminés de l'ECA a été déterminée. Elle existe sous trois formes, **une forme membranaire** pourvue de peptide d'ancrage, de poids moléculaire 160 kDa, **une forme circulante** soluble légèrement plus petite, qui résulte d'un clivage protéolytique au niveau de la partie ancrée à la membrane cellulaire, de PM 140 kDa, et **une forme testiculaire** de PM 90 kDa.

L'ECA est une protéine hautement glycosylée (les sucres représentent selon les formes 20 à 30% du poids moléculaire de l'enzyme). Elle est synthétisée sous forme d'un précurseur avec un peptide signal qui est clivé pour donner la molécule mature (Laraqui, 2006).

5-2 Structure de l'ECA

L'étude de la séquence de l'ECA membranaire met en évidence une structure protéique comportant quatre domaines distincts: un court domaine intracellulaire carboxy-terminal de 24 acides aminés ; un domaine transmembranaire hydrophobe de 20 acides aminés servant d'ancrage de la protéine dans la membrane cellulaire ; deux domaines extracellulaires montés en séries, ayant entre eux une forte homologie (60%) et possédant chacun un site actif pouvant lier le zinc (figure 15) (Laraqui, 2006).

Enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA)

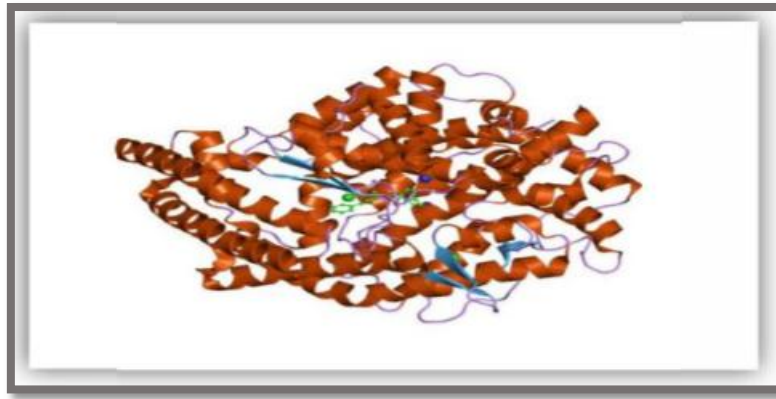


Figure 15 : Structure de l'ECA (Protein Data Bank).

Il est probable qu'un seul des deux sites de la molécule d'ECA est réellement actif *in vivo* en raison que seulement une molécule unique d'inhibiteur soit suffisante(Laraqui, 2006).

La forme somatique de l'ECA contient 1306 acides aminés, parmi lesquels 14 résidus de cystéines et 17 sites de N-glycosylation. La séquence primaire de l'ECA montre deux régions hydrophobes : Une séquence de 29 acides aminés se situant à la région N-terminale qui est absente dans la forme mature de l'enzyme et une deuxième séquence hydrophobe de 17 acides aminés localisée pré de la région C-terminal de l'enzyme(Nigel, 1996).

Borah en 2011, suggère que la forme circulante provient de la forme liée à la membrane des cellules épithéliales. La structure de la forme germinale de l'ECA, exprimée dans les testicules montre un seul domaine des deux domaines extracellulaires de la forme somatique(Borah *et al.*, 2011).

5-3 La Fonction et le rôle de l'ECA

L'ECA est un composant important du SRA, impliqué dans le maintien de la pression artérielle et l'équilibre hydrominéral par différents mécanismes telles que la vasoconstriction, la libération de l'aldostérone suite à une rétention du sodium et de l'eau, la régulation de l'équilibre sanguin intra-rénal, la stimulation de la soif et la libération de la vasopressine et des catécholamines (Laraqui, 2006).

La fonction majeure de l'ECA est d'hydrolyser les deux derniers acides aminés de l'extrémité carboxy-terminale des peptides. L'activité de cette métallo-enzyme à zinc nécessite la présence d'anions en particulier l'atome de zinc et du chlore, qui modifiant la conformation allostérique du site actif, on lui donnant une spécificité pour les substrats di-peptidiques(Laraqui, 2006).

Enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA)

L'ECA joue un double rôle : Elle transforme l'angiotensine I en angiotensine II, par ailleurs elle dégrade la bradykinine en kinines inactives et les peptides neuronaux : Substance P, enképhalines, la LH-RH(Baudin, 2005). Un taux élevé d'ECA dans le plasma ainsi que dans les parois des vaisseaux favoriserait la formation d'angiotensine II et la dégradation de la bradykinine(Leclerc *et al.*, 2013).

5-4 Gène de l'ECA

Le gène de l'ECA est localisé sur le bras long du chromosome 17q23, mesurant environ 21 Kb et constitué de 26 exons et 25 introns (figure 16)(Crisan and Carr, 2000). Deux promoteurs donnent lieu : A une ECA **somatique** largement distribuée dans l'organisme, en utilisant les exons 1 à 26 sauf l'exon 13, et par épissage alternatif à une ECA **testiculaire**, utilisant les exons 13 à 26, qui est requise pour la fertilité masculine(Sayed-Tabatabaei *et al.*, 2006).

La longueur des exons varie de 88 Pb (exon 16) à 481 Pb (exon 26). La taille des introns varie de 150 Pb (introns 17 et 25) à 2000 Pb (intron 20). Son transcrit mature, ayant une taille de 4.3 Kb, est traduit en un peptide de 1340 acides aminés (Laraqui, 2006).

L'analyse par Southern-Blot de l'ADN génomique indique qu'un seul gène de L'ECA existe aussi bien chez l'homme que chez la souris(Soubrier *et al.*, 1988).

Selon le National Center for Biotechnology Information (NCBI), il a été répertorié plus de 160 polymorphismes génétiques de ce gène, dont la plupart sont des polymorphismes nucléotidiques simples (SNPs : single nucléotide polymorphismes). Seulement 34 de ces polymorphismes sont situés dans les régions de codage ; 18 d'entre eux sont des mutations faux-sens (Sayed-Tabatabaei *et al.*, 2006).

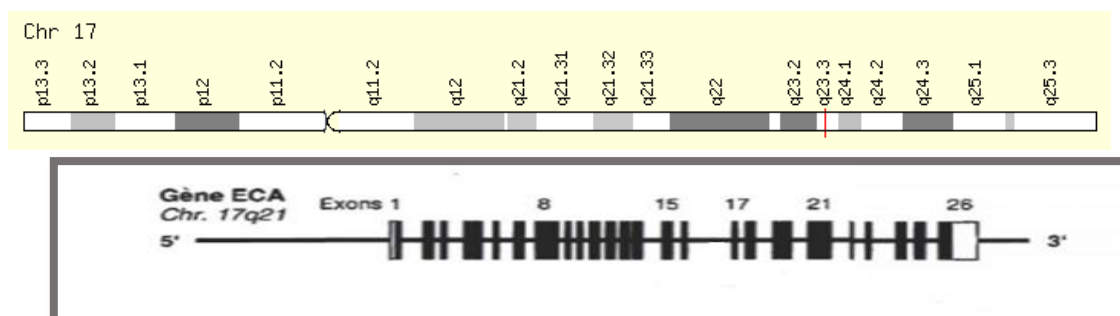


Figure 16 : Locus du gène de l'ECA (Lefebvre, 2008).

Polymorphisme du gène ECA dans le cancer Colorectal

Polymorphisme du gène ECA dans le cancer colorectal

Plusieurs polymorphismes ont été rapportés dans des gènes du SRA et représentent des facteurs génétiques qui affectent à la fois le SRA de circulation et de tissu. Ils comprennent des polymorphismes dans les gènes d'Angiotensinogène, ECA et AGTR1.

1. Polymorphisme génétique de l'ECA

Le polymorphisme du gène *ECA* a d'abord été rapporté par Rigat et ces collaborateurs en 1990 par analyse du polymorphisme de longueur de fragment de restriction (RFLP) et hybridation de Southern dans une étude qui a abordé le rôle du gène *ECA* dans le contrôle génétique des niveaux plasmatiques d'ECA (Rigat *et al.*, 1990).

Le clonage de l'ADNc de l'ECA a permis d'identifier un polymorphisme d'Insertion (I)/Délétion (D) d'un fragment intronique de 287 Pb, riche en séquence *Alu*, au sein de l'intron 16 (Soubrier *et al.*, 1988) (figure 17). La séquence *Alu* appartient à une famille d'ADN modérément répétitive possédant en général un site de restriction pour l'enzyme *Alu*. Elle comporte 300 000 copies de 300 Pb, retrouvées tout au long du génome, même dans les introns des gènes comme pour l'ECA. La fonction de ces séquences *Alu* est actuellement inconnue et un rôle éventuel dans la réplication n'est pas encore prouvé (Laraqui, 2006).

La présence singulière de formes délétées ou insérées pour une séquence de 190 Pb reflète l'existence de deux allèles: I (Insérée) de 490 Pb et D (Délété) de 190Pb et définit le polymorphisme du gène ECA I/D (Laraqui, 2006).

Trois génotypes sont possibles, deux homozygotes (II et DD) et un hétérozygote (ID) (Laraqui, 2006), ce polymorphisme I/D affecte fortement le taux plasmatique de l'ECA, mais son mécanisme d'action est probablement lié à un déséquilibre de liaison avec un autre polymorphisme plutôt qu'à un effet direct puisque le polymorphisme I/D est localisé dans un intron (Rigat *et al.*, 1990).

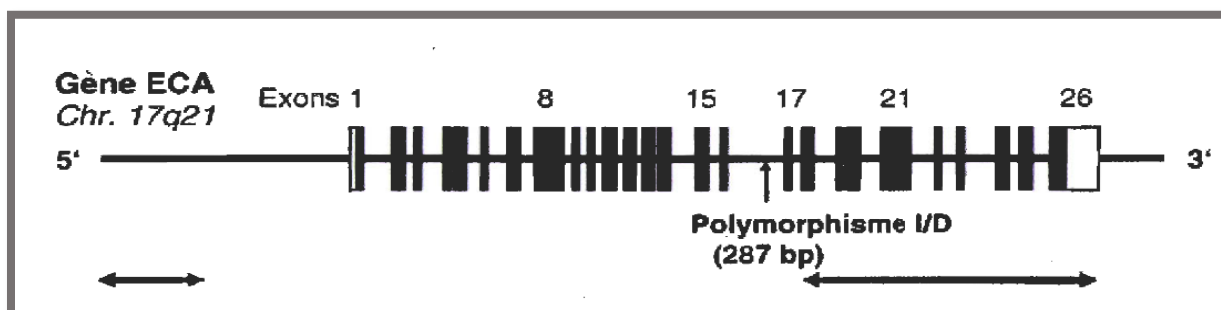


Figure 17 : Polymorphisme génétique de l'ECA (Lefebvre, 2008).

Polymorphisme du gène ECA dans le cancer colorectal

2. Corrélation phénotype- génotype

Il existe une relation directe entre le génotype de l'ECA et son phénotype. Cette relation génotype-phénotype est transmissible, en application des lois de Mendel (Laraqui, 2006).

En effet, la fréquence des allèles varie considérablement entre les populations. La corrélation entre génotype et le niveau d'ECA plasmatique a montré une relation significative entre la dose d'allèle D et la concentration d'ECA. Normalement, les niveaux d'ECA plasmatique présentent une variation interindividuelle marquée mais semblent remarquablement stables lorsqu'ils sont mesurés à plusieurs reprises dans le même sujet expliquant près de 40 % de la variance de ces taux et par conséquent à la concentration plasmatique de l'angiotensine II (Shafiee *et al.*, 2010). La gamme normale d'ECA plasmatique et les unités de mesures dépend de la méthode de détection utilisée. En 1990 Rigat et ses collaborateurs ont utilisé la mesure directe du dosage radio-immunologique de l'enzyme ECA (en g/l). Par la suite, des tests fonctionnels utilisant une mesure spectrophotométrie (en U / L) ont été utilisés (Rigat *et al.*, 1990).

En effet, le niveau plasmatique de l'ECA est environ deux fois plus élevés chez les sujets DD comparativement au sujet II, alors que les sujets ID possèdent un niveau intermédiaire. Cette contribution génétique des niveaux de l'ECA est également observée chez les lymphocytes T humain, dans cette étude le niveau d'expression de l'ECA des cellules synthétisant l'enzyme est déterminé génétiquement. De même, Danser et collaborateurs en 1995, démontrent que l'activité de l'ECA dans le tissu cardiaque est plus élevée chez les sujets DD comparativement aux autres sujets. Il est donc possible de conclure que la concentration plasmatique, le niveau d'expression de même que l'activité de l'ECA sont fortement influencés par le polymorphisme I/D (Danser *et al.*, 1995).

Cependant, Plus récemment, d'autres polymorphismes ont été mis en évidence sur le gène de l'ECA situé sur des régions variables de ce dernier: (T-5491C, T-93C, A-240T, T237C, 4656CT2/3). Ces polymorphismes ne sont pas encore identifiés comme fonctionnels et leur relation à une éventuelle pathologie est en cours d'étude (Laraqui, 2006).

Deux d'entre eux se situent en position -201 et -152 en amont de l'exon 8. Il s'agit d'une substitution nucléotidique d'une adénine en guanine et d'une Insertion/Délétion d'une adénine au niveau de la position -152. L'haplo type guanine en position -201 et délétion dans l'intron 16 a pu être associée au développement d'une néphropathie diabétique (Doria *et al.*, 1994).

Polymorphisme du gène ECA dans le cancer colorectal

Il existe donc une relation directe entre le génotype de l'ECA et son phénotype, cette relation génotype/phénotype est transmissible, en application des lois de Mendel (Laraqui, 2006).

3. L'association du polymorphisme I/D de l'ECA à la carcinogénèse

Ces dernières années, plusieurs auteurs ont indiqué que l'enzyme de l'ECA est associé à la pathogénie des cancers. Il peut influencer la prolifération des cellules cancéreuses, la migration et les phénomènes métastatiques. Étant donné les rôles importants d'ECA dans l'étiologie de cancer, il est possible que les variations génétiques du gène d'ECA puissent moduler le risque du cancer.

Un nombre croissant d'études a été publié pour examiner les associations entre ce polymorphisme avec le risque de cancer. Cependant, les résultats étaient contradictoires. D'après une méta-analyse de 25 études de contrôle de cas comprenant 3914 patients atteints de cancer et 11391 contrôles a été identifié. Aucune association significative n'a été trouvée entre le polymorphisme I/D sur le risque de cancer en comparaison des génotypes (DD+DI contre. II)(Zhang *et al.*, 2011).

Cependant le génotype DD de l'ECA a été corrélé à la survenue de plusieurs pathologies cardiaques incluant les maladies coronarienne, l'hypertrophie ventriculaire gauche, la cardiomyopathie, la sténose post-angioplastie ainsi qu'à l'épaississement des vaisseaux sanguins. Par contre, ces associations demeurent controversées. De plus, cette variation génétique a aussi été associée à la maladie d'Alzheimer, au diabète de type 2, à des problèmes rénaux, au lupus érythémateux, à la performance cognitive, et à bien d'autres conditions(Bossé, 2001).

Partie Pratique

Patients et Méthodes

1-Patients

1-1 Population étudiées

Notre volet pratique a été réalisé au sein du laboratoire de Biologie et Génétique Moléculaire au CHU Constantine et au laboratoire de biologie moléculaire (Université 1).

Il s'agit d'une étude transversale de type cas-témoins. Elle a duré deux mois et a porté sur deux populations. L'une des témoins et l'autre des malades CCR.

1-1-1 Population des patients

Ce groupe de patients comprend 32 malades des deux sexes atteints de cancer du côlon et/ou du rectum, âgés de 20 à 70 ans, ont été recrutés à partir du service d'oncologie médicale et de gastro entérologie au CHU de Constantine.

a-Critères d'inclusion

- Diagnostic confirmé histologiquement d'un cancer colique et/ou rectal.
- Âge supérieur à 20 ans.
- Tous les patients admis au service atteint d'un cancer colorectal en cours de traitement (chimiothérapie) ou venus pour une consultation ou contrôle.

b-Critères d'exclusion

- Sujets refusant le prélèvement.
- Sujets souffrants de déshydratation.
- Sujets aux veines fragilisées par la chimiothérapie.

1-1-2 Population des témoins

Population générale de référence composée de 37 sujets sains des deux sexes (présumés en bonne santé) habitants à Constantine durant la période de l'étude. Ces sujets sont âgés de 20 à plus de 60 ans.

2-Méthodes

2-1 Recueil des données

Un questionnaire (Annexe 6),comprenant toutes les données nécessaires est établi pour toute la population d'étude. Un interrogatoire minutieux est mené auprès des patients sélectionnés dans notre étude afin de définir les paramètres personnels et familiaux suivants : L'âge, le sexe, les antécédents personnels et familiaux du cancer colorectal, d'autres cancers, de consanguinité, d'agrégation familiale de cancer ainsi pour élaboration des arbres généalogiques à partir de l'histoire familiale.

2-2 Prélèvement sanguin

Le prélèvement sanguin préconisé pour l'extraction de l'ADN est recueilli stérilement dans un tube à EDTA en quantité de 5 à 10 ml, après consentement du patient. Les prélèvements du sang ont été réalisés au niveau du pli du coude après la pose d'un garrot. Les tubes portent des étiquettes avec les noms et prénoms des sujets ainsi que la date du prélèvement.

3-Etude Moléculaire

3-1 Extraction de l'ADN

Les études génétiques visent le génome humain pour avoir de l'ADN, origine de l'information génétique est contenue dans les leucocytes. Nous avons employé la méthode d'extraction utilisant du Na Cl.

➤ Principe

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

Un détergent Sodium dodécyle sulfate (SDS), qui possède une action lytique sur les membranes cellulaires, il inhibe les nucléases et dénature les protéines par destruction de leur structure tertiaire, ainsi qu'une protéinase K, qui dénature et dégrade les protéines.

L'ADN nucléaire sera libéré des différentes protéines ainsi digérées et éliminées par précipitation au Na Cl. Le surnageant récupéré est traité par de l'éthanol pur, une pelote d'ADN est formée. L'ADN est solubilisé en phase aqueuse, sa pureté ainsi que sa concentration sont estimés par spectrophotomètre à UV (Protocole en Annexe 7).

3-2 Génotypage de l'ECA

3-2-1 La PCR (Polymérase Chaîne Réaction)

La PCR (*Polymerase Chain Reaction* ou réaction de polymérase en chaîne) est une technique de biologie moléculaire, mise au point en 1985 par KarryMullis. Il s'agit d'une technique d'amplification d'ADN *in vitro*. Elle permet d'obtenir un très grand nombre de copies d'une séquence d'ADN choisie.

Chaque cycle de PCR est constitué de trois étapes : Une **dénaturation** de l'ADN suivie d'une **hybridation** des amorces aux extrémités de la séquence recherchée, puis une **élongation** grâce à l'action d'une ADN polymérase, *Taqpolymerase*. Ce cycle est répété de 30 à 40 fois pour obtenir une multiplication exponentielle de la séquence d'ADN cible.

Patients et Méthodes

➤ Préparation du milieu réactionnel (mix) de PCR :

Pour préparer le milieu réactionnel ou un mix de PCR, il faut multiplier la quantité de chaque composant par le nombre de tubes voulu + un. Un milieu réactionnel de PCR d'un volume final de 25 µl a été préparé.

Le mix comprend des désoxyribonucléotides triphosphates (dNTP 2mM), une enzyme d'amplification in vitro (*Taq polymérase*), un environnement réactionnel (Tampon, MgCl₂ et, H₂O) et deux amorces Oligonucléotidiques (tableau 6).

Tableau 6 : Amorces utilisées pour l'amplification du gène ECA.

Sens des amorces	Séquence nucléotidique
ECA 1R (Sens)	5'-CTG GAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT-3'
ECA 1F (anti sens)	5'-GAT GTG GCC ATC ACA TTC GTC AGAT-3'

Après avoir préparé le mix de la PCR (tableau 7), selon le nombre d'échantillon, nous avons pris 24 µl de ce mélange avec 1 µl d'ADN dans chaque tube de PCR pour chaque sujet.

Tableau 7 : Les quantités de chaque constituant du milieu réactionnel de la PCR.

Mix de PCR	Quantité en µl
Tampon de Taq 10X	2.5
MgCl ₂ (50mM)	2
dNTP (2mM)	2
Taq polymérase (5U/µl) Biomatik	0.4
ECA 1F (20 pmol/l)	0.5
ECA 1R (20 pmol/l)	0.5
Eau distillée	16.1
ADN	1

➤ **Déroulement des cycles de la PCR**

Le déroulement des cycles de la PCR a été assuré par un thermocycleur et les conditions d'amplification étaient comme suit :

Une dénaturation initiale à 94°C pendant 1 minute, suivie de 30 cycles de PCR, comprenant chacun une dénaturation à 94°C pendant 30 secondes, une hybridation à 65.8°C, une élongation à 72°C pendant 1 minute et enfin une élongation finale à 72°C pendant 8 minutes.

➤ **Préparation du gel d'agarose à 2%**

Le gel est préparé en mélangeant 2g d'agarose et 100 ml TBE (annexe 8) additionné de 10µl du bromure d'éthidium qui est un agent intercalant servant à émettre une fluorescence par révélation sur une table à UV. Le gel est déposé sur une plaque d'une cuve horizontale où on a déposé un peigne. On laisse le gel se polymériser à l'air libre.

➤ **Contrôle des produits de la PCR**

L'identification des génotypes DD, II, ID du gène ECA a été faite par migration électrophorétique des produits de PCR sur gel d'agarose à 2%, contenant de BET (Bromure d'éthidium). Donc pour cela, nous avons déposé dans chaque puits du gel le produit amplifié mélangé avec 2 µl du tampon de charge (DNA Loading Buffer), ce dernier permet de suivre le front de migration. Un échantillon sans ADN (blanc : témoin négatif), est inclus dans la série à amplifier et sert de contrôle négatif. La migration se fait en parallèle avec un marqueur de taille (100 Pb LADDER). Le dépôt se fait du côté cathode (-) soumis sous un courant de 100 volts pendant 30 à 45 minutes.

Après la migration, le gel est soumis au rayonnement UV dans un Transilluminateur. Les molécules de bromure d'éthidium fixées à l'ADN émettent une lumière visible (fluorescence) et photographiable et permettent de visualiser les fragments amplifiés sous forme de bandes fluorescentes. Ce contrôle permet aussi de confirmer l'amplification de notre ADN et d'exclure toute contamination d'ADN survenue au cours de la PCR grâce au puits contenant le témoin blanc le blanc.

➤ **Profil électrophorétique**

Le profil électrophorétique montrant 3 bandes, une bande de 490pb, représente le phénotype homozygote inséré I/I, une bande de 190pb correspond au type homozygote délété D/D caractérisé par la délétion sur les deux allèles, le génotype hétérozygote I/D est représenté par deux bandes de 190pb et 490pb (figure 18).

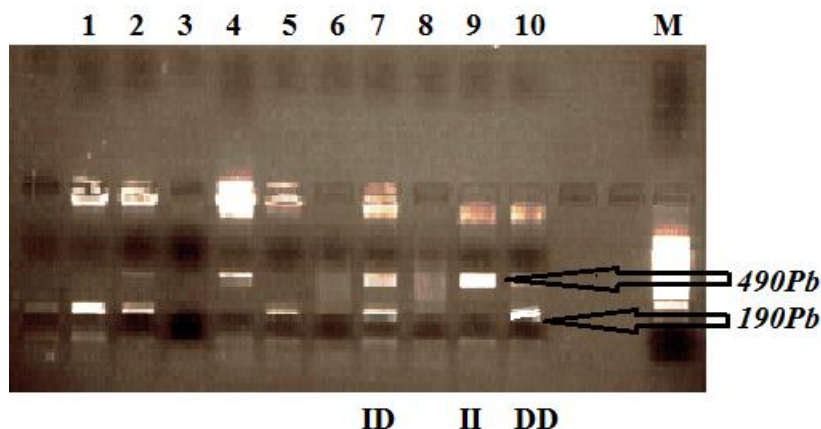


Figure 18 : Profil électrophorétique des fragments amplifiés par PCR du gène *ECA* sur gel d'agarose 2%.

On observe chez les hétérozygotes (I/D), une troisième bande qui représente un produit hétéro duplexe d'ADN. L'apparition de l'allèle (D) chez les hétérozygotes est souvent préférentiellement à l'allèle I donc il peut y avoir une confusion entre le génotype DD (Délétion/Délétion) et DI (Délétion/Insertion) pour cela il est préférable d'effectuer une deuxième PCR de confirmation de la délétion avec les mêmes conditions du déroulement de la première PCR. Malheureusement on n'a pas pu le faire, cela est dû aux problèmes techniques rencontrés au niveau du laboratoire ainsi que le temps réservé à la réalisation de la partie pratique.

4-Analyses statistiques

Nos résultats sont traités par des statistiques descriptives : Calcul de la moyenne arithmétique, de l'écart type et les pourcentages.

- **Calcul de l'odds ratio**

Pour calculer l'odds ratio nous avons établi un tableau de contingence : Il est présenté sous forme de tableau croisé 2×2. Le statut malade/non malade des sujets de l'étude est présenté en colonne et le caractère exposé/non exposé en ligne (Tableau 8).

Patients et Méthodes

Tableau 8 : Tableau de contingence pour le calcul de l'odds ratio.

	Cas (malades)	Témoins (non-malades)	Total
Présence du facteur présumé de risque de maladie (exposés).	a	b	a+b
Absence du facteur présumé de risque de maladie (non-exposés).	c	d	c+d
Total	a+c	b+d	a+b+c+d

- Le calcul de l'odds ratio se fait par la formule suivante :

$$\text{OR} = \mathbf{a*d / b*c}$$

L'odds ratio représente une mesure d'association épidémiologique entre un facteur et une maladie, en particulier lorsque la maladie est rare parmi la population (Prévalence < 5%).

Dans ce cas l'odds ratio peut être une bonne approximation du risque relatif que donnerait une enquête de cohorte pour la population.

- **Les intervalles de confiance**

L'approche estimative de l'analyse statistique vise à quantifier l'effet étudié et le degré de certitude de cette estimation grâce à un intervalle de confiance, qui identifie généralement une fourchette de valeurs situées de part et d'autre de l'estimation. La fiabilité est de 95% par rapport à la valeur réelle.

La notion d'un intervalle de confiance repose sur l'idée suivante : Si la même étude était réalisée sur un échantillon différent de patients, les résultats ne seraient pas identiques, mais seraient proches du résultat véritable qui reste inconnu. L'intervalle de confiance estime cette variation due à l'échantillon.

Il a été calculé selon la méthode de Woolf (méthode des logits) pour la probabilité = 0.05 :

Intervalle de confiance Odds Ratio = $(e)^{\text{LN}(\text{OR}) \pm 1,96(1/A+1/B+1/C+1/D) \frac{1}{2}}$ (e) = 2.71828182845904.

Patients et Méthodes

- **P « value »**

Le seuil critique a priori est de 0.05 (risque α). Si la valeur de p calculée à posteriori est inférieure à ce seuil, la différence entre les paramètres est déclarée statistiquement significative pour apparemment arbitraire est nécessaire pour l'homogénéité de la présentation des résultats.

L'usage a retenu de manière consensuelle l'ensemble des seuils (0.05, 0.01, 0.001), qui représentent des risques raisonnables pour prendre une décision. Les résultats sont considérés comme significatifs à *P < 0.05 et hautement significatifs à **P < 0.01.

Dans notre étude, nous avons utilisé le logiciel « statistiques médicale et épidémiologiques » pour vérifier nos résultats (figure 19).

Statistiques médicales et épidémiologiques Outil de calcul médico-statistique permettant l'évaluation des indicateurs de risque et la liaison entre un facteur d'exposition et une maladie		
	Malades (Cas dans les enquêtes cas/témoins)	Non malades (Témoins dans les enquêtes cas/témoins)
Exposés	A <input type="text"/>	B <input type="text"/>
Non exposés	C <input type="text"/>	D <input type="text"/>
<p>X² (Khi carré ou chi carré) : test de liaison permettant de vérifier s'il existe une relation entre le risque d'exposition et la maladie</p> <p>Ecart-réduit (loi normale) : interprétation</p> <p>Coefficient Q de Yule : interprétation (il mesure l'intensité de la liaison entre les deux variables (maladie/risque dû à l'exposition))</p> <p>% Taux de la maladie chez les individus exposés = T(ex) = (A/A+B)</p> <p>% Taux de la maladie chez les individus non exposés = T(nex) = (C/C+D)</p> <p>% Taux de la maladie chez l'ensemble des individus étudiés = Tt = (A+C/A+B+C+D). Selon l'enquête ce taux peut la <u>prévalence</u> ou l'<u>incidence</u></p> <p>% - Intervalle de confiance à 95 % pour le taux de la maladie chez l'ensemble des individus étudiés : borne inférieure</p> <p>% - Intervalle de confiance à 95 % pour le taux de la maladie chez l'ensemble des individus étudiés : borne supérieure</p> <p>% Taux d'exposition au facteur de risque étudié chez les individus malades = (A/A+C)</p> <p>% Taux d'exposition au facteur de risque étudié chez les individus non malades = (B/B+D)</p> <p>% Risque attribuable (RA) ou (en excès) : c'est la différence entre les taux de la maladie chez les individus exposés et non exposés = T(ex) - T(nex)</p> <p>Risque relatif (RR) = Le rapport des taux de la maladie chez les individus exposés et non exposés = T(ex) / T(nex) = (A \ A+B) / (C / C+D)</p> <p>Odds Ratio (Rapport des cotes) = (A * D / B * C) : interprétation</p> <p>- Intervalle de confiance pour Odds Ratio (Méthode Woolf) : borne inférieure</p> <p>- Intervalle de confiance pour Odds Ratio (Méthode Woolf) : borne supérieure</p>		

Figure19 :Le logiciel « statistiques médicale et épidémiologiques ».

Résultats et discussion

Résultats et discussion

Notre étude est de type cas- témoins, elle concerne une population de patients atteints du CCR, corrélés à un groupe des témoins supposés sains. Plusieurs paramètres individuels et cliniques ont été pris en considération.

1. Répartition des sujets selon l'âge et le sexe

- Les sujets témoins

Les sujets témoins sont au nombre de 37 répartis entre :

- 14 du sexe masculin soit 37%.
- 23 du sexe féminin soit 63%.

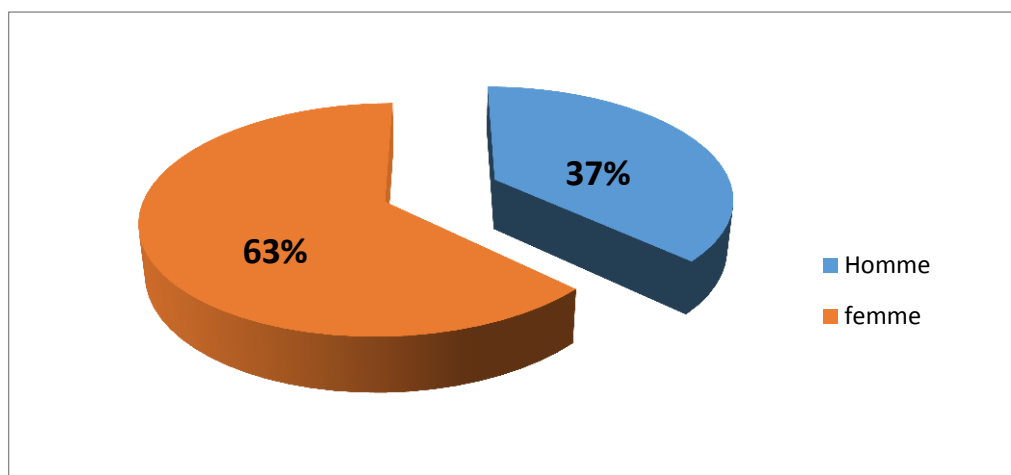


Figure 20 : Répartition des témoins selon le sexe.

Ces témoins sont classés en tranches d'âge de 10 ans sauf pour les plus de 60 ans qui sont classés en une seule tranche (Figure 21).

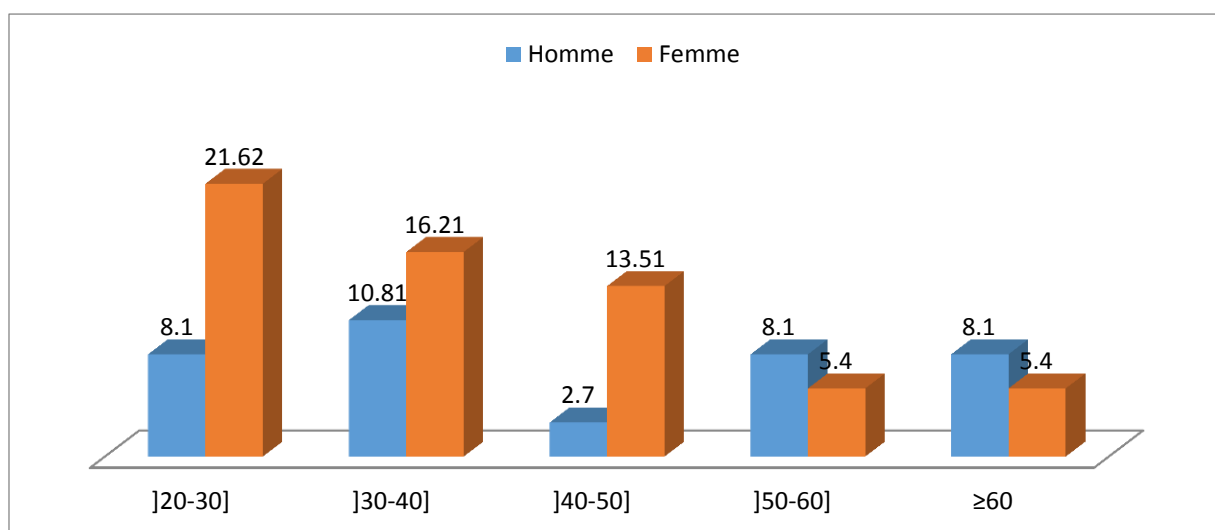


Figure 21: Répartition des témoins selon l'âge et le sexe.

- **Les sujets CCR**

Les sujets présentant un Cancer colorectal sont au nombre de 32 répartis entre :

-13 du sexe masculin soit 40%.

-19 du sexe féminin soit 60%.

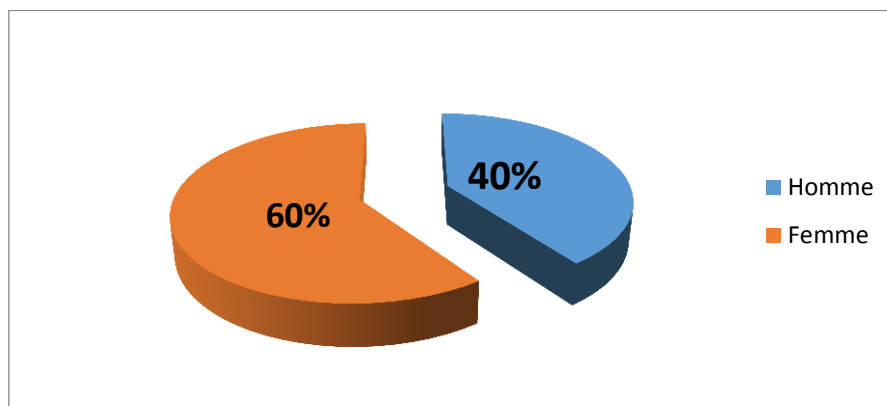


Figure 22 : La répartition des patients atteints du cancer colorectal selon le sexe.

On observe que les hommes et les femmes représentent 40% et 60% respectivement, notant une prédominance d'atteinte du cancer du côlon chez les femmes que chez les hommes avec un sexe ratio de 1,5. Ce résultat ne concorde pas avec la plupart des travaux qui ont observé une prédominance masculine pour ce cancer (Rougier, 2004 ; Hamdi Cherif *et al.*, 2014). Mais dans d'autres études algériennes similaires à la nôtre, cette prédominance n'est pas confirmée statistiquement (Meddah *et al.*, 2009). Allem en 2014, a observé que l'atteinte est voisine pour les deux sexes jusqu'à 60 ans (Allem, 2014).

La répartition des malades présentant un cancer colorectal est représenté dans la figure 23.

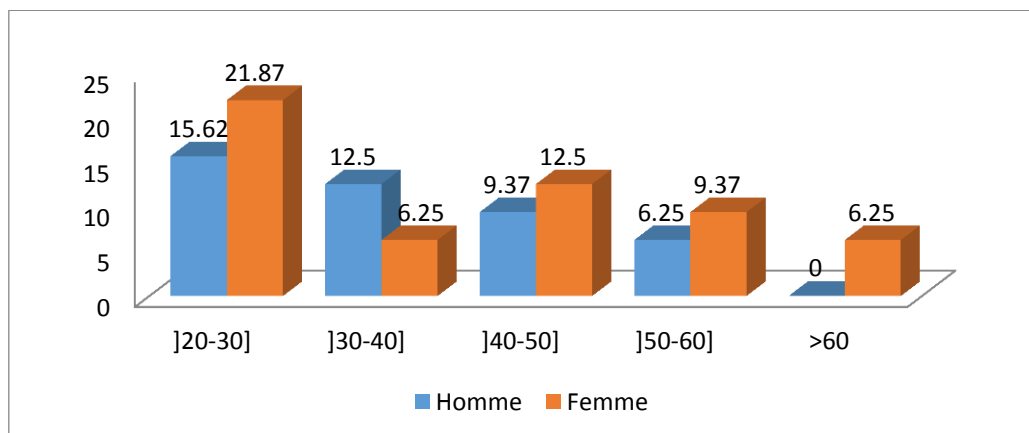


Figure 23 : Répartition des patients atteints CCR selon l'âge et le sexe.

Résultats et discussion

On observe dans notre population de patients que l'atteinte diminue avec l'âge pour les deux sexes à l'exception chez les femmes, une augmentation est plus marquée (21.87%) dans la première tranche d'âge [20-30], puis une diminution dans la deuxième tranche par rapport aux tranches d'âge suivantes.

Nos résultats s'opposent avec de nombreuses enquêtes de grandes effectifs montrant que le CCR augmente avec l'âge et notamment après l'âge de 50 ans (Metzger, 1995).

Le non concordance avec nos résultats s'explique par plusieurs facteurs :

- le nombre de notre échantillon est limité ne permet pas de tirer une conclusion définitive.
- Le recrutement des patients était sélectionné selon la disponibilité des moyens au laboratoire.
- la moitié de nos patients présentait la forme héréditaire du CCR (syndrome de Lynch) caractérisé par la survenue du cancer à un âge très jeune.

2. Répartition des sujets malades selon les caractéristiques cliniques

- Selon la localisation de la tumeur

Le graphique (21) représente les pourcentages de la localisation du cancer colorectal chez les femmes et les hommes confondus.

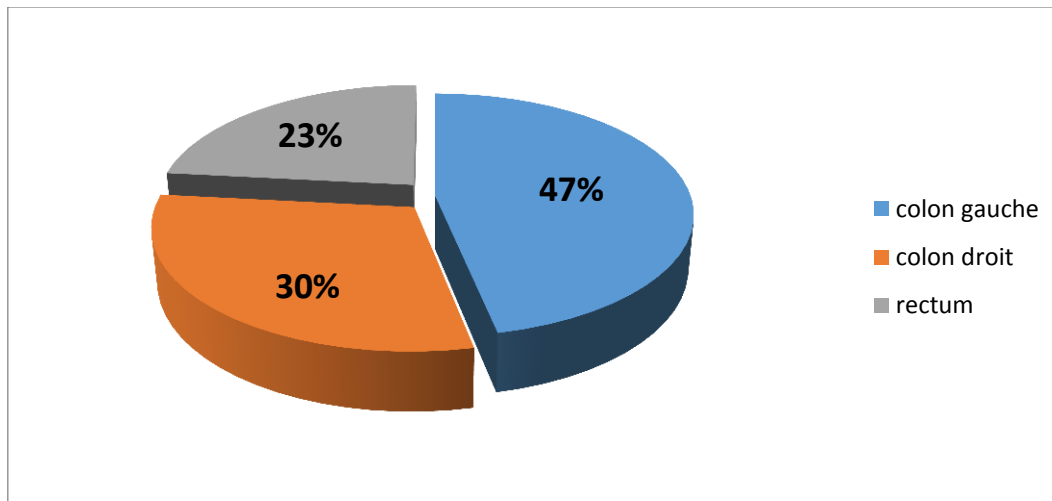


Figure 24 : Répartition des sujets malades selon la localisation des tumeurs.

Il est important de noter qu'un cancer du côlon droit était défini comme siégeant au niveau du caecum ; du côlon droit ou du côlon transverse ; un cancer du côlon gauche était défini comme siégeant sur le côlon gauche et le côlon sigmoïde. Le rectum était considéré à part nos résultats montrent que le côlon gauche est touché dans 47% des cas, et le colon droit représente 30% ce qui est en accord avec des études algériennes du CCR (Meddah *et al.*, 2009). En

Résultats et discussion

effet, certains registre occidentaux, qui ont montré que l'incidence du cancer du côlon gauche est supérieur à celle du cancer colique droit (Fabre *et al.*, 2000 ; Jandova *et al.*, 2016).

Le cancer du rectum n'est présent que dans 23% de nos patients comme pour la quasi-totalité. Des études qui ont montré que l'atteinte colique prédomine souvent sur celle du rectum dans les CCR, nous citons :

- L'institut National Du Cancer, le pourcentage des malades atteints d'un cancer colique est 73% alors que ceux qui avaient un cancer rectal est 27% (la ligue contre le cancer, 2009).
- L'Institut National de Santé publique du QUEBEC au Canada, montrant : 54% côlon, 39% rectum chez les hommes et 62% côlon, 29% rectum chez les femmes (Perron *et al.*, 2011).

- **Selon le stade TNM :**

La classification TNM a fait l'objet d'un consensus international, le stade doit donc être donné selon la classification pTNM, qui distingue quatre stades notés de I à IV (Edge and Compton, 2010 ; Scoazec and Sabourin, 2010). La distribution de nos patients selon ces stades est illustrée dans la figure 25.

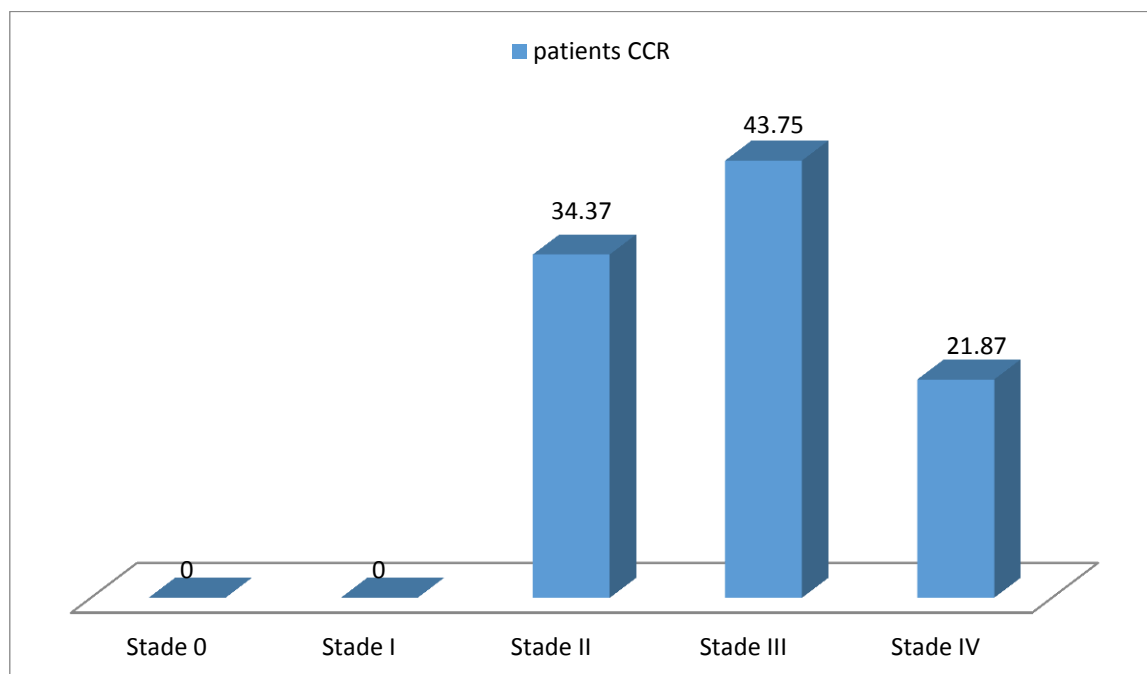


Figure 25 : Répartition des sujets malades selon le stade TNM.

Résultats et discussion

D'après cette classification, la population étudiée présente une prédominance du stade III avec une fréquence de 43.75% suivi du stade II à 34.37%, la fréquence du stade IV est de 21.87%, on note qu'aucun de nos patients étudiés n'appartient aux stades 0 et I.

Cette distribution est proche de celle obtenue par Oukel et Bouzid, dans le centre Alger (Oukkal and Bouzid, 2006), et celle retrouvée par l'étude épidémiologique effectuée sur l'Ouest algérien (Meddah *et al.*, 2009).

Cependant le statut clinique dans nos résultats ne concorde pas avec certaines études de la littérature qui montrent que la proportion des malades CCR présentant les stades III et IV est moins fréquente (44,6%) que celle des stades I et II (55,4%)(Chan *et al.*, 2010).

Ces résultats s'expliquent par plusieurs causes :

- ✓ Les patients arrivent aux centres cliniques à un stade tardif dû de l'absence de signes généraux de la maladie, par négligence, absence de douleur, manque de motivation, la peur du résultat, et une insuffisance d'informations.
- ✓ Les malades qui ne respectent pas une surveillance régulière, augmente pour eux le risque de récurrence.
- ✓ Il n'y a pas de compagnie médicale et sociale de dépistage et de prévention.

La survie des patients ayant un cancer colorectal dépend des différents facteurs pronostiques parmi lesquels, le stade du cancer, l'atteinte ganglionnaire et la présence de métastases (la classification *TNM*). Il est donc intéressant de connaître le stade d'évolution dans la mesure où le cancer colorectal est un cancer de bon pronostic lorsqu'il est diagnostiqué à un stade précoce. Le taux de survie relative à 5 ans varie en fonction de la classification *TNM* : 94% pour les cancers diagnostiqués au stade I ; 80% au stade II ; 47% au stade III et 5% au stade IV (Grosclaude *et al.*, 2013).

- **Selon les antécédents familiaux :**

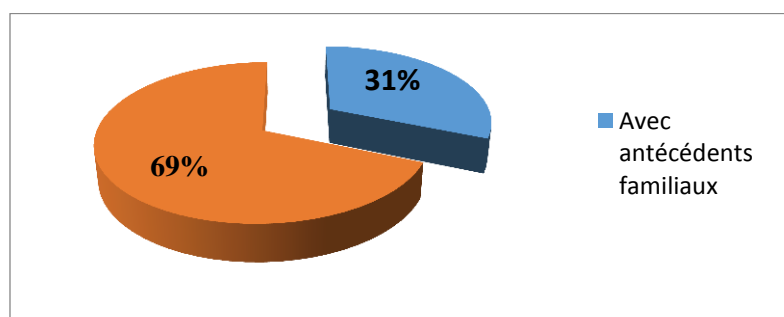


Figure 26 : La répartition des malades selon les antécédents familiaux.

Résultats et discussion

Les cancers colorectaux sont sporadiques dans 80 % des cas, et ils surviennent dans un contexte familial dans 15 % des cas et sont liés à une prédisposition génétique dans 5 % des cas (HAS, 2013).

Dans notre étude, les antécédents familiaux de cancer colorectaux chez nos patients sont retrouvés dans 31% des cas. Ce taux se montre supérieur à celui rapporté dans la littérature qui estime la proportion des patients aux antécédents familiaux de cancer colorectal à 15% - 20%(Viguiet et al., 2003). On ne peut pas se référer à cette fréquence de présence d'antécédents familiaux dans notre population car nous avons inclus volontairement dans notre série des patients qui ont une prédisposition héréditaire d'HNPCC.

Selon l'Institut National de Cancer, le risque d'être atteint de ce type de cancer est deux à deux fois et demie plus élevé lorsqu'un membre de la famille au premier degré (parent, frère, sœur ou enfant) a déjà eu un cancer colorectale (w11).

3-Étude moléculaire de la population d'étude

3-1Répartition des fréquences génotypiques du gène *ECA*

L'histogramme montre la comparaison des fréquences génotypiques entre les témoins et les malades atteints de CCR (figure 27).

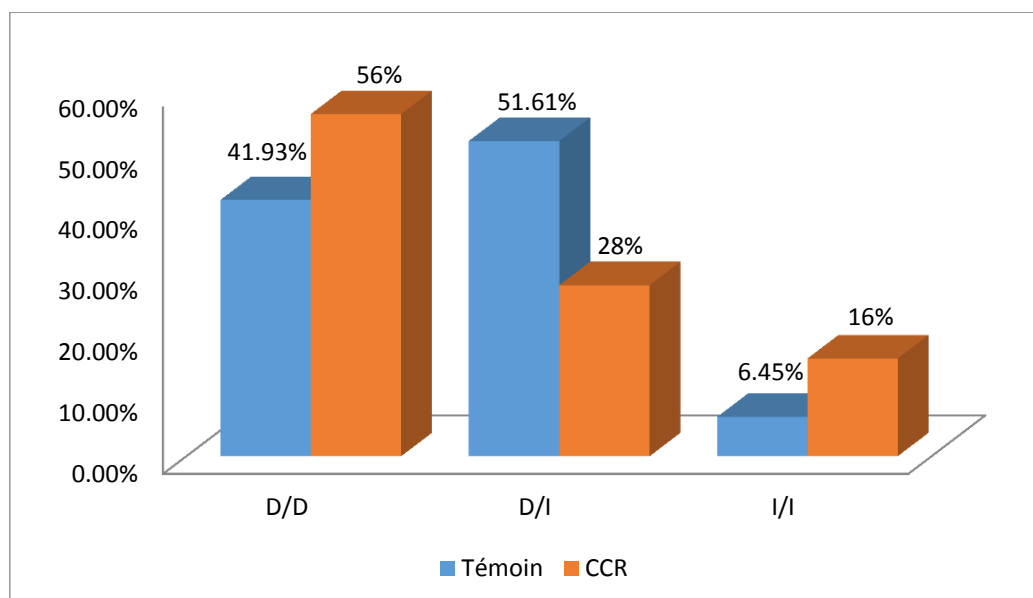


Figure 27: Répartition des fréquences génotypiques.

Résultats et discussion

La présence de formes délétères ou insérées pour une séquence de 190 Pb reflète l'existence de deux allèles : I (Insérée) de 490 Pb et D (Délété) de 190 Pb et définit le polymorphisme du gène ACE I/D. Trois génotypes sont possibles, deux homozygotes (II et DD) et un hétérozygote (ID) (Bossé, 2001).

Nos résultats montrent une fréquence élevée du génotype I/D considéré comme le génotype normal chez les témoins (51.61 %), alors que le génotype D/D est présent par 56% chez les cas CCR par rapport à 41.93% chez les témoins. Dans une étude cachemirienne qui a été réalisée sur 86 patients atteints du CCR contre 150 sujets de contrôle pris de la population générale dans laquelle il a été observé que la fréquence du génotype DD était 41.86 % (36/86) ; II 13.95 % (12/86) et DI 44.2 % (38/86) chez les patients avec CCR qui ont été en accord avec les fréquences rapportées par d'autres auteurs (Sameer, 2010). Cependant statistiquement il n'y avait aucune association significative entre le polymorphisme I/D et le CCR (Sameer, 2010).

Tableau 9 : Fréquences alléliques de l'ECA chez les deux groupes.

	I		D		Total
	Nombre	%	Nombre	%	
Témoins	10	32.26	21	67.74	31
CCR	7.5	30	17.5	70	25

Au même titre que le génotype DD, l'allèle D prédominait dans les deux groupes des témoins et des patients CCR ; dans le groupe 1, la fréquence de l'allèle D était de 67.74 % versus 32.26% de l'allèle I ($P < 0,05$). Dans le groupe 2, la fréquence de l'allèle D était de 70 % versus 30% de l'allèle I ($P < 0,05$) (tableau 9).

La prévalence de l'allèle D était de 37.2% chez les japonais et de 56.2% chez les caucasiennes. Ce marqueur génétique, transmise de façon Co dominant, serait responsable d'environ 50% de la variabilité interindividuel de la concentration plasmatique de l'ECA (Bossé, 2001).

3-2 Polymorphisme du gène ECA et risque de CCR

Le tableau (10) montre la corrélation entre le polymorphisme I/D de l'ECA et le risque de CCR.

Résultats et discussion

Tableau 10 : Corrélation entre le polymorphisme I/D de l'ECA et le risque de CCR

	Témoins		CCR		OR (IC95%)	P value
	n	%	n	%		
I/I	2	6.45	4	16	4.57 (0.67- 31.04)	0.10
I/D	16	51.61	7	28	-	-
D/D	13	41.93	14	56	2.46 (0.77- 7.89)	0.12
Total	31	100	25	100		
I	20	32.26	15	30	-	-
D	42	67.74	35	70	1.11 (0.5-20.48)	0.79
Total	62	100	50	100		

P=0.05*, =0.01**, =0.001***, degrés de significativité : *

D'après nos résultats traités statistiquement par le calcul de l'odds ratio à un intervalle de confiance de 95% (Tableau 10) ne montre aucune différence significative (p=0.10, p=0.12) des génotypes mutés (II et DD) par rapport au génotype normal ID chez les témoins et les cas CCR ce qui suggère une absence d'association entre ce polymorphisme I/D de l'ECA et le risque de la survenue du CCR. Ces constatations concordent avec celles d'autres chercheurs qui ont rapporté qu'aucune preuve d'association n'a été observée entre le polymorphisme I/D de l'ECA et le risque de CCR dans la population roumaine (Toma *et al.*, 2009) ; la population de Rotterdam (van der Knaap *et al.*, 2008) ; la population de la Grèce (Nikiteas *et al.*, 2007) ; et la population Cachemirienne (Sameer, 2010). Ces résultats étaient semblables à une étude où aucune relation n'a été trouvée entre le polymorphisme I/D et le risque du développement CCR (Toma *et al.*, 2009 ; Nikiteas *et al.*, 2007).

Cependant, selon une étude qui a été réalisée sur l'ADN génomique de 241 patients souffrant de CCR et 299 sujets de contrôle qui ont précédemment inscrit entre Avril 2008 et octobre 2010 dans la population chinoise et étudiés par l'application de l'analyse de réaction en chaîne de polymérase PCR : Les résultats obtenus indiquent que le polymorphisme I/D est susceptible de jouer un rôle dans la progression du CCR et les sujets portant l'allèles D ont été

Résultats et discussion

associés à un risque accru de développer des cancers et des métastases mal différenciés par rapport à ceux qui portent l'allèle I(Liu *et al.*, 2011).

Conclusion

Conclusion

Le Cancer colorectal se situe parmi les cancers digestifs les plus fréquents par sa mortalité et morbidité. Les cancers du côlon et du rectum étant assez semblables, ils sont regroupés sous le terme de cancer colorectal. En dépit des progrès thérapeutiques réalisés ces dernières années et des études visant à la compréhension des mécanismes responsables de la transformation maligne, la mortalité due à ce cancer reste toujours importante.

L'étude des facteurs de risque et les marqueurs génétiques impliqués dans l'étiologie du cancer colorectal a fait l'objet de plusieurs études et travaux de recherches dans le monde. Notre travail avait pour objectif de déterminer l'association de CCR avec le polymorphisme de l'ECA. Pour cela, nous avons réalisé une étude cas-témoin comprenant 32 cas CCR et 37 témoins, les résultats obtenus montrent une diminution de l'atteinte du CCR avec l'âge chez les deux sexes avec une prédominance féminine (60%).

L'exploration génotypique du polymorphisme I/D de l'ECA nous a permis d'obtenir les répartitions des fréquences génotypiques respectives chez les témoins et les patients CCR : (ID 51.61%, II 6.45% et DD 41.93%) et (ID 28%, II 16%, DD 56%) ainsi que les fréquences alléliques (I 32.26%, D 67.74) et (I 30%, D 70%) chez les témoins et les cas CCR respectivement. Nous pouvons observer une nette prédominance du génotype DD (56%) chez les sujets CCR par rapport aux témoins (41.93%) mais les tests statistiques effectués n'ont montré aucune différence significative ce qui indique qu'il n'existe pas d'association entre le polymorphisme de l'ECA et la survenue du CCR dans notre population étudiée.

Ainsi, pour continuer notre travail dans le futur, nous envisageons les perspectives suivantes :

- élargissement de notre cohorte de patients et de témoins afin pouvoir avoir de corrélations peut être significative entre ce polymorphisme et le CCR.
- étudier d'autres polymorphismes dans d'autres gènes impliqués dans la carcinogénèse.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

-A-

Abid, M. (2011). Cancer des colons.

Abdull, G. (2010). REGULATION DE L'ENZYME DE CONVERSION DE L'ANGIOTENSINE ET CARACTÉRISATION DU RÉCEPTEUR B1 DES KININES AU NIVEAU DES CELLULES VASCULAIRES. UNIVERSITÉ LAVAL QUÉBEC.

Abid, L., and Berkane, S. (2009). EPIDEMIOLOGIE DES CANCERS DIGESTIF.

Allem, R. (2014). Épidémiologie des cancers digestifs dans la région de Chlef (Algérie). *J. Afr. Cancer Afr. J. Cancer* 6, 22–26.

Al-Tassan, N., Chmiel, N.H., Maynard, J., Fleming, N., Livingston, A.L., Williams, G.T., Hodges, A.K., Davies, D.R., David, S.S., Sampson, J.R., et al. (2002). Inherited variants of MYH associated with somatic G:C→T:A mutations in colorectal tumors. *Nat. Genet.* 30, 227–232.

-B-

Baudin, B. (2005). [*Angiotensin I-converting enzyme (ACE) for sarcoidosis diagnosis*]. *Pathol. Biol.* (Paris) 53, 183–188.

Bigard, M.-A. (2001). Guide pratique des maladies du tube digestif (*MMI).

Boland, C.R., and Goel, A. (2010). Microsatellite instability in colorectal cancer. *Gastroenterology* 138, 2073–2087.e3.

Borah, P.K., Shankarishan, P., Ahmed, G., and Mahanta, J. (2011). Polymorphism of angiotensin converting enzyme (insertion/deletion) and endothelial nitric oxide synthase (intron 4ab) genes in a population from northeast India. *J. Genet.* 90, e105-109.

Bossé, Y. (2001). INFLUENCE DU POLYMORPHISME INSERTION I DÉLÉTION DE L'ENZYME DE CONVERSION DE L'ANGIOTENSINE SUR LES EFFETS METABOLIQUES D'UN TRAITEMENT AU FIBRATE ET D'UN EXERCICE EN ENDURANCE. Laval.

Botteri, E., Iodice, S., Bagnardi, V., Raimondi, S., Lowenfels, A.B., and Maisonneuve, P. (2008). Smoking and colorectal cancer: a meta-analysis. *JAMA* 300, 2765–2778.

Gingras D et Béliveau R. Prévention du cancer colorectal grâce à des modifications alimentaires et mode de vie. *Micro environ cancer* 2011 ; 4: 133-139

Bridou, M. (2012). ETUDE DES PRINCIPAUX FREINS ET LEVIERS PSYCHOLOGIQUES ENVERS L'EXAMEN DE DEPISTAGE DU CANCER COLORECTAL Le rôle particulier de l'anxiété envers la santé dans l'adoption de cette démarche. FRANÇOIS - RABELAIS DE TOURS.

Brooker, C. (2000). Le corps humain - Étude, structure et fonction.

-C-

CADI, M. (2010). La coloscopie virtuelle (Lavoisier).

Center, M.M., Jemal, A., Smith, R.A., and Ward, E. (2009). Worldwide variations in colorectal cancer. *CA. Cancer J. Clin.* 59, 366–378.

Références bibliographiques

Chan, K.K., Dassanayake, B., Deen, R., Wickramarachchi, R.E., Kumarage, S.K., Samita, S., and Deen, K.I. (2010). Young patients with colorectal cancer have poor survival in the first twenty months after operation and predictable survival in the medium and long-term: analysis of survival and prognostic markers. *World J. Surg. Oncol.* 8, 82.

Cheng, Y.-W., Pincas, H., Bacolod, M.D., Schemmann, G., Giardina, S.F., Huang, J., Barral, S., Idrees, K., Khan, S.A., Zeng, Z., et al. (2008). CpG island methylator phenotype associates with low-degree chromosomal abnormalities in colorectal cancer. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 14, 6005–6013.

Compton, C.C., Fielding, L.P., Burgart, L.J., Conley, B., Cooper, H.S., Hamilton, S.R., Hammond, M.E., Henson, D.E., Hutter, R.V., Nagle, R.B., et al. (2000). Prognostic factors in colorectal cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 124, 979–994.

Crisan, D., and Carr, J. (2000). Angiotensin I-Converting Enzyme. *J. Mol. Diagn. JMD* 2, 105–115.

-D-

Danser, A.H., Schalekamp, M.A., Bax, W.A., van den Brink, A.M., Saxena, P.R., Riegger, G.A., and Schunkert, H. (1995). Angiotensin-converting enzyme in the human heart. Effect of the deletion/insertion polymorphism. *Circulation* 92, 1387–1388.

Doolittle, R.F. (1983). Angiotensinogen is related to the antitrypsin-antithrombin-ovalbumin family. *Science* 222, 417–419.

Doria, A., Warram, J.H., and Krolewski, A.S. (1994). Molecular characterization of a DDEI melting polymorphism at the angiotensin I-converting enzyme (ACE) locus. *Hum. Mutat.* 4, 155–157.

-E-

Edge, S.B., and Compton, C.C. (2010). The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. *Ann. Surg. Oncol.* 17, 1471–1474.

-F-

Fabre, null, Spano, null, Atlan, null, Braud, null, Mitry, null, Panis, null, and Faivre, null (2000). [Cancer of the colon: an update]. *Bull. Cancer (Paris) FMC N*, 5–20.

Faivre, J. (2001). *épidémiologie et prévention du cancer colorectal* (Springer).

Fearon, E.R. (2011). Molecular genetics of colorectal cancer. *Annu. Rev. Pathol.* 6, 479–507.

Fearon, E.R., and Vogelstein, B. (1990). A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 61, 759–767.

Ferlay, J., Steliarova-Foucher, E., Lortet-Tieulent, J., Rosso, S., Coebergh, J.W.W., Comber, H., Forman, D., and Bray, F. (2013). Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *Eur. J. Cancer Oxf. Engl.* 1990 49, 1374–1403.

Ferlay, J., Soerjomataram, I., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M., Parkin, D.M., Forman, D., and Bray, F. (2015). Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int. J. Cancer* 136, E359–386.

Références bibliographiques

Fodde, R., Smits, R., and Clevers, H. (2001). APC, signal transduction and genetic instability in colorectal cancer. *Nat. Rev. Cancer* 1, 55–67.

-G-

Gardier, S. (2004). Gènes codant pour le Récepteur de Type 1 à l'Angiotensine II (AGTR1) et pour l'Aldostérone Synthase (CYP11B2) : Hypertension Artérielle et Variables de Retentissement Cardiovasculaire chez l'Homme. l'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1.

Gingras D et Béliveau R. Prévention du cancer colorectal grâce à des modifications alimentaires et mode de vie. *Micro environ cancer* 2011 ; 4: 133-139

Goldman, L., Schafer, A., and Masson, P. (2013). *Cecil Medicine Cancérologie* (Elsevier Masson).

Gould, A.B., and Green, D. (1971). Kinetics of the human renin and human substrate reaction. *Cardiovasc. Res.* 5, 86–89.

Grady, W.M. (2004). Genomic instability and colon cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 23, 11–27.

Grosclaude, P., Remontet, L., Belot, A., Danzon, A., Rasamimanana Cerf, N., and Bossard, N. (2013). *Survie des personnes atteintes de cancer en France 1989-2007*.

Guarinos, C., Castillejo, A., Barberá, V.-M., Pérez-Carbonell, L., Sánchez-Heras, A.-B., Segura, Á., Guillén-Ponce, C., Martínez-Cantó, A., Castillejo, M.-I., Egoavil, C.-M., et al. (2010). EPCAM Germ Line Deletions as Causes of Lynch Syndrome in Spanish Patients. *J. Mol. Diagn. JMD* 12, 765–770.

Guillaume, C. (2008). Etude de la voie de signalisation Hedgehog dans les cancers du colon. Université de Liège.

GUILLEMOT, E. (2013). Étude des couples Chimiokines/Récepteurs comme nouvelles cibles thérapeutiques des cancers colorectaux métastasés : études précliniques. UNIVERSITÉ de NICE SOPHIA-ANTIPOLIS, UFR SCIENCES.

-H-

Haffen C. Surface luminale d'un polype vilieux au niveau du côlon. *Inserm, Janvier 2012*.

Hamdi, C.M., Bilodi, E., Birri, S., Mahnanae, A., Zaidi, Z., Boukharouba, H., Moussaoui, H., Kara, L., Ayat, A., Makhloufi, K., et al. (2015). Cancer estimation of incidence and survival in Algeria 2014. 100–104.

Hamdi Cherif, M., Serraino, D., Mahnane, A., Laouamri, S., Zaidi, Z., Boukharouba, H., Cherka, D., Rakeb, M., Kara, L., Ayat, A., et al. (2014). Time trends of cancer incidence in Setif, Algeria, 1986-2010: an observational study. *BMC Cancer* 14, 637.

Hari, D.M., Leung, A.M., Lee, J.-H., Sim, M.-S., Vuong, B., Chiu, C.G., and Bilchik, A.J. (2013). AJCC-7TH Edition Staging Criteria for Colon Cancer: Do the Complex Modifications Improve Prognostic Assessment? *J. Am. Coll. Surg.* 217, 181–190.

Hes, F.J., Nielsen, M., Bik, E.C., Konvalinka, D., Wijnen, J.T., Bakker, E., Vasen, H.F.A., Breuning, M.H., and Tops, C.M.J. (2008). Somatic APC mosaicism: an underestimated cause of polyposis coli. *Gut* 57, 71–76.

Références bibliographiques

-I-

IARC (2012). Dernières statistiques mondiales sur le cancer.

Ibosquet (2012). La polypose associée aux mutations bi-alléliques du gène MUTYH. *Inst. Natl. Cancer* 146.

-J-

Jandova, J., Ohlson, E., Torres B S, M.R., DiGiovanni, R., Pandit, V., Elquza, E., and Nfonsam, V. (2016). Racial disparities and socioeconomic status in the incidence of colorectal cancer in Arizona. *Am. J. Surg.* 212, 485–492.

Jasperson, K.W., Tuohy, T.M., Neklason, D.W., and Burt, R.W. (2010). Hereditary and familial colon cancer. *Gastroenterology* 138, 2044–2058.

Jones, E.S., Vinh, A., McCarthy, C.A., Gaspari, T.A., and Widdop, R.E. (2008). AT2 receptors: functional relevance in cardiovascular disease. *Pharmacol. Ther.* 120, 292–316.

-K-

Kim, S., Ohta, K., Hamaguchi, A., Omura, T., Yukimura, T., Miura, K., Inada, Y., Ishimura, Y., Chatani, F., and Iwao, H. (1995). Angiotensin II type I receptor antagonist inhibits the gene expression of transforming growth factor-beta 1 and extracellular matrix in cardiac and vascular tissues of hypertensive rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 273, 509–515.

van der Knaap, R., Siemes, C., Coebergh, J.-W.W., van Duijn, C.M., Hofman, A., and Stricker, B.H.C. (2008). Renin-angiotensin system inhibitors, angiotensin I-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism, and cancer: the Rotterdam Study. *Cancer* 112, 748–757.

Knudson, A.G. (1971). Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 68, 820–823.

KOHLER, C. (2010). Les épithéliums.

-L-

La ligue contre le cancer (2009). la ligue contre le cancer. *Cancer Colon*.

LAMBER, R. (2009). Épidémiologie du cancer colorectal (CCR). *Cancero Diges* 1.

Lanz, S., and Schlump, E. (2015). Le cancer du côlon et du rectum.

Laragh, J.H., and Sealey, J.E. (2010). Renin–Angiotensin–Aldosterone System and the Renal Regulation of Sodium, Potassium, and Blood Pressure Homeostasis. In *Comprehensive Physiology*, (John Wiley & Sons, Inc.), p.

Laraqui, A. (2006). Etude des Facteurs Métaboliques et Polymorphismes Génétiques Prédisposant à la Survenue de l’Athérosclérose Coronaire. MOHAMMED V-AGDAL.

Laurent-Puig, P., Landi, B., and Lièvre, A. (2005). Intérêt clinique de la détermination de l’instabilité microsatellitaire des cancers colorectaux. In *Gastroentérologie Clinique et Biologique*, pp. 657–658.

Références bibliographiques

Laurent-Puig, P., Agostini, J., and Maley, K. (2010). [Colorectal oncogenesis]. *Bull. Cancer (Paris)* 97, 1311–1321.

Leclerc, A.-M., Cloutie, L., Longpré, S., and Michaud, S.G. (2013). Traitement pharmacologique de l'HTA partie 2.

Lefebvre, J. (2008). POLYMORPHISMES GÉNÉTIQUES ET VARIATIONS INTERINDIVIDUELLES DE LA RÉPONSE AUX AGENTS ANTIHYPERTENSEURS. UNIVERSITÉ LAVAL.

LEFEVRE, J. (2012). GENETIQUE DU CANCER COLORECTAL : Polyposes adénomateuses non liées à APC et cancers de survenue précoce. 'UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE PARIS VI.

Lefèvre, J.. (2013). Génétique et expression phénotypique des polyposes liées à APC et MUTYH. In *La Lettre de l'Hépatogastroentérologue*, pp. 206–212.

Leggett, B., and Whitehall, V. (2010). Role of the serrated pathway in colorectal cancer pathogenesis. *Gastroenterology* 138, 2088–2100.

Lengauer, C., Kinzler, K.W., and Vogelstein, B. (1998). Genetic instabilities in human cancers. *Nature* 396, 643–649.

Liu, S.-Y., Sima, X., Wang, C.-H., and Gao, M. (2011). The association between ACE polymorphism and risk of colorectal cancer in a Chinese population. *Clin. Biochem.* 44, 1223–1226.

Lopez, A., Manfredi, S., and Faivre, J. (2014). Le dépistage du cancer colorectal. *Oncologie* 16, 491–498.

-M-

Macrae, F., du Sart, D., and Nasioulas, S. (2009). Familial adenomatous polyposis. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 23, 197–207.

MALLEM, D. (2010). LES CANCERS COLORECTAUX DANS LES WILAYAS DE BATNA ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE CLINIQUE ET THERAPEUTIQUE. UNIVERSITE DE BATNA EL HADJ LAKHDAR FACULTE DE MEDECINE DEPARTEMENT DE MEDECINE.

Meddah, D., Meddah, B., Touil, A.T., Ghalek, M., and Sahraoui, T. (2009). Étude épidémiologique du cancer du côlon chez des patients de l'Ouest algérien. *J. Afr. Cancer Afr. J. Cancer* 1, 31–35.

Medeiros, R., Vasconcelos, A., Costa, S., Pinto, D., Lobo, F., Morais, A., Oliveira, J., and Lopes, C. (2004). Linkage of angiotensin I-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism to the progression of human prostate cancer. *J. Pathol.* 202, 330–335.

Metzger, U. (1995). Le cancer du colon et du rectum Causes., symptômes, diagnostic; traitement; pronostic.

-N-

Nagase, H., Miyoshi, Y., Horii, A., Aoki, T., Ogawa, M., Utsunomiya, J., Baba, S., Sasazuki, T., and Nakamura, Y. (1992). Correlation between the location of germ-line mutations in the APC gene and the number of colorectal polyps in familial adenomatous polyposis patients. *Cancer Res.* 52, 4055–4057.

Références bibliographiques

Niessen, R.C., Hofstra, R.M.W., Westers, H., Ligtenberg, M.J.L., Kooi, K., Jager, P.O.J., de Groote, M.L., Dijkhuizen, T., Olderode-Berends, M.J.W., Hollema, H., et al. (2009). Germline hypermethylation of MLH1 and EPCAM deletions are a frequent cause of Lynch syndrome. *Genes. Chromosomes Cancer* 48, 737–744.

Nigel, M. (1996). *Protease in Biology and Disease*.

Nikiteas, N., Tsigris, C., Chatzitheofylaktou, A., and Yannopoulos, A. (2007). No association with risk for colorectal cancer of the insertion/deletion polymorphism which affects levels of angiotensin-converting enzyme. *Vivo Athens Greece* 21, 1065–1068.

-O-

Oukkal, M., and Bouzid, K. (2006). études épidémiologiques des cancers colorectaux.

-P-

Peltomäki, P., and Vasen, H. (2004). Mutations associated with HNPCC predisposition -- Update of ICG-HNPCC/INSIGHT mutation database. *Dis. Markers* 20, 269–276.

Perron, L., D, M., and D, P. (2011). L'incidence du cancer colorectal selon le sexe et le site anatomique.

Pino, M.S., and Chung, D.C. (2010). The chromosomal instability pathway in colon cancer. *Gastroenterology* 138, 2059–2072.

-R-

Rigat, B., Hubert, C., Alhenc-Gelas, F., Cambien, F., Corvol, P., and Soubrier, F. (1990). An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J. Clin. Invest.* 86, 1343–1346.

Röcken, C., Lendeckel, U., Dierkes, J., Westphal, S., Carl-McGrath, S., Peters, B., Krüger, S., Malfertheiner, P., Roessner, A., and Ebert, M.P.A. (2005). The number of lymph node metastases in gastric cancer correlates with the angiotensin I-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 11, 2526–2530.

Rougier, P. (2004). [Colorectal cancer. A better screening, a better treatment]. *Rev. Prat.* 54, 133–134.

-S-

Sameer, A.S. (2013). Colorectal cancer: molecular mutations and polymorphisms. *Front. Oncol.* 3, 114.

Sameer, S. (2010). ACE I/D Polymorphism in Hypertensive Patients of Kashmiri Population (PDF Download Available).

Sayed-Tabatabaei, F.A., Oostra, B.A., Isaacs, A., van Duijn, C.M., and Witteman, J.C.M. (2006). ACE polymorphisms. *Circ. Res.* 98, 1123–1133.

Schäffler A, Menche N. Système digestif, nutrition et métabolisme. *AnatomiePhysiologie*. Ed Maloine 2004; 18:322-361.

Références bibliographiques

Schrader, J., Kulschewski, A., and Dendorfer, A. (2007). Inhibition of the renin-angiotensin system and the prevention of stroke. *Am. J. Cardiovasc. Drugs Drugs Devices Interv.* 7, 25–37.

Scoazec, J.-Y., and Sabourin, J.-C. (2010). [2010: The seventh edition of the TNM classification]. *Ann. Pathol.* 30, 2–6.

SEDKAOUI, Ch. (2015). MOULOUDE MAMMERI DE TIZI-OUZOU.

Slupska, M.M., Baikalov, C., Luther, W.M., Chiang, J.H., Wei, Y.F., and Miller, J.H. (1996). Cloning and sequencing a human homolog (hMYH) of the *Escherichia coli* mutY gene whose function is required for the repair of oxidative DNA damage. *J. Bacteriol.* 178, 3885–3892.

Soubrier, F., Alhenc-Gelas, F., Hubert, C., Allegrini, J., John, M., Tregear, G., and Corvol, P. (1988). Two putative active centers in human angiotensin I-converting enzyme revealed by molecular cloning. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 85, 9386–9390.

-T-

T Lecomte, T André, Y Panis, P Laurent-Puig, F Bibeau, J Taieb. «Cancer du côlon ».Thésaurus National de Cancérologie Digestive, 11-2016.

Toma, M., Cimponeriu, D., Apostol, P., Stavarachi, M., Cojocaru, M., Belusică, L., Crăciun, A.M., Radu, I., and Gavrilă, L. (2009). Lack of association between ACE ID polymorphism and colorectal cancer in Romanian patients. *Chir. Buchar. Rom.* 1990 104, 553–556.

-U-

Umar, A., Boland, C.R., Terdiman, J.P., Syngal, S., de la Chapelle, A., Rüschoff, J., Fishel, R., Lindor, N.M., Burgart, L.J., Hamelin, R., et al. (2004). Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J. Natl. Cancer Inst.* 96, 261–268.

-V-

van Roon, E.H.J., van Puijenbroek, M., Middeldorp, A., van Eijk, R., de Meijer, E.J., Erasmus, D., Wouters, K.A.D., van Engeland, M., Oosting, J., Hes, F.J., et al. (2010). Early onset MSI-H colon cancer with MLH1 promoter methylation, is there a genetic predisposition? *BMC Cancer* 10, 180.

Vasen, H.F., Mecklin, J.P., Khan, P.M., and Lynch, H.T. (1991). The International Collaborative Group on Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer (ICG-HNPCC). *Dis. Colon Rectum* 34, 424–425.

Vasen, H.F., Watson, P., Mecklin, J.P., and Lynch, H.T. (1999). New clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the International Collaborative group on HNPCC. *Gastroenterology* 116, 1453–1456.

Viguié, J., Bourlier, P., Karsenti, D., Calan, L., and Danquechin Dorval, E. (2003). Cancer du côlon.

-W-

Weisenberger, D.J., Siegmund, K.D., Campan, M., Young, J., Long, T.I., Faasse, M.A., Kang, G.H., Widschwendter, M., Weener, D., Buchanan, D., et al. (2006). CpG island methylator phenotype

Références bibliographiques

underlies sporadic microsatellite instability and is tightly associated with BRAF mutation in colorectal cancer. *Nat. Genet.* *38*, 787–793.

Weitz, J., Koch, M., Debus, J., Höhler, T., Galle, P.R., and Büchler, M.W. (2005). Colorectal cancer. *Lancet Lond. Engl.* *365*, 153–165.

Wright, J.W., and Harding, J.W. (2008). The angiotensin AT4 receptor subtype as a target for the treatment of memory dysfunction associated with Alzheimer's disease. *J. Renin-Angiotensin-Aldosterone Syst. JRAAS* *9*, 226–237.

-Z-

Zhang, Y., He, J., Deng, Y., Zhang, J., Li, X., Xiang, Z., Huang, H., Tian, C., Huang, J., and Fan, H. (2011). The insertion/deletion (I/D) polymorphism in the Angiotensin-converting enzyme gene and cancer risk: a meta-analysis. *BMC Med. Genet.* *12*, 159.

Webographie

Conclusion

(w1)ANATOMIE ET PHYSIOLOGIE. Disponible sur : <http://www.reflexopf.fr/anatomie-physiologie.html>. Consulté le (28/03/2017).

(w2)Cancer du gros intestin. Disponible sur : http://santeweb.ch/santeweb/Maladies/khb.php?Cancer_du_gros_intestin_cancer_du_colon_et_cancer_du_rectum_carcinome_colorectal&khb_lng_id=2&khb_content_id=14266. Consulté le (12/04/2017).

(w3) Journal des femmes. Cancer du côlon disponible sur : <http://sante-medecine.journaldesfemmes.com/contents/127-cancer-du-colon-symptomes-traitement-et-esperance-de-vie>. Consulté le (20/04/2017).

(w4) Organisation du dépistage à Paris. Pourquoi, pour qui et comment dépister le cancer colorectal. Disponible sur : <http://www.adeca75.org/pourquoi-pour-qui-et-comment-d%C3%A9pister-le-cancer-colorectal>. Consulté le (08/05/2017).

(w5)Creapharma. Site sur la santé de qualité. Disponible sur : <https://www.creapharma.ch/cancer-colorectal.htm>. Consulté le (15/05/2017).

(w6)Cancer: MolecularBiology. Disponible sur : <http://www.cancer2000.net/molecular%20biology/page2.htm>. Consulté le (28/05/2017).

(w7)Nutrition et prévention des cancers. Disponible sur : http://www.cancer-environnement.fr/Portals/0/Documents%20PDF/Rapport/INCa/2009_Nutrition%20et%20pr%C3%A9vention%20des%20cancers.pdf. Consulté le (03/06/2017).

(w8)Institut National du cancer. Cancer du côlon. Disponible sur : <http://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-colon/Diagnostic>. Consulté le (03/06/2017).

(w9)HUGO Gene Nomenclature Committee Angiotensinogen; symbole: AGT.Disponible sur: http://www.qenenames.org/data/hgnc_data.php?hgnc_id=333. Consulté le (05/06/2017).

(w10)Futura-sciences. Rectum [en ligne]. Disponible sur : <http://www.futura-sciences.com/magazines/sante/infos/dico/d/biologie-rectum-2835/>. (Consulté le 5/06/2017).

Annexe

Annexe 1- Tableau 1 : La classification TNM.

Tumeur primitive (T)	
TX	La tumeur primitive ne peut pas être évaluée.
T0	Absence d'évidence de tumeur primitive.
Tis	Carcinome <i>in situ</i> : tumeur intra-épithéliale ou envahissant la lamina propria sans extension à la sous-muqueuse.
T1	Tumeur envahissant la sous-muqueuse.
T2	Tumeur envahissant la musculature.
T3	Tumeur envahissant la séreuse sans atteinte du revêtement mésothélial et le tissu péricolique non péritonéaux.
T4a	Tumeur perforant le péritoine viscéral.
T4b	Tumeur envahissant ou adhérent à d'autres organes ou structures.
Ganglions régionaux (N)	
NX	Les ganglions ne peuvent pas être évalués.
N0	Absence de métastases ganglionnaires régionales.
N1a	Métastases dans les 1 des ganglions lymphatiques régionaux.
N1b	Métastases dans les 2-3 des ganglions lymphatiques régionaux.
N1c	La tumeur s'étend à la séreuse, au mésentère, au tissu péricolique non péritonéaux ou aux tissus péri-rectaux sans métastases ganglionnaires régionales.
N2a	Métastases dans 4 à 6 des ganglions lymphatiques régionaux.
N2b	Métastases dans 7 ou plus des ganglions lymphatiques régionaux.
Métastases à distance (M)	
M0	Absence de métastase à distance.
M1	Métastases à distance.
M1a	Métastases confinées à un organe ou structure.
M1b	Métastases dans plusieurs organes ou structure.

Annexe 2 – Tableau 2 : Les stades TNM.

Stades	T	N	M
Stade 0	Tis	N0	M0
Stade I	T1	N0	M0
	T2	N0	M0
Stade IIA	T3	N0	M0
Stade IIB	T4a	N0	M0
Stade IIC	T4b	N0	M0
	Tous T	N1, N2	M0
Stade IIIA	T1, T2	N1	M0
	T1	N2a	M0
Stade IIIB	T3, T4a	N1	M0
	T2, T3	N2a	M0
	T1, T2	N2b	M0
Stade IIIC	T4a	N2a	M0
	T3, T4a	N2b	M0
	T4b	N1, N2	M0
Stade IVA	Tous T	Tous N	M1a
Stade IVB	Tous T	Tous N	M1b

Annexe 3 - Tableau 3 : les gènes impliqués dans le syndrome de Lynch (Mathieu, 2012).

Gènes	Localisation chromosomique	Nombre d'exons	Nombre des mutations (%)
MLH1	3p21-23	19	39%
MSH2	2p21	16	38%
MSH6	2p16	10	9%
MLH3	14q24.3	12	2%
PMS2	7q22	15	2%
PMS1	2q31-33	13	1%

Annexe 4 – Tableau 4 : Les critères d'Amsterdam établis par l'International Collaborative Group on HNPCC.

Critères d'Amsterdam I (classique)(Vasenet al., 1991).
Famille comportant aux moins trois parentes atteints du cancer colorectal histologiquement prouvé (critère de nombre) et présentant tous les critères suivantes : -L'un des parentes atteintes est apparenté au premier degré avec les deux autres atteints. -Au moins deux générations successives sont atteintes. -Au moins un des diagnostics de cancer colorectal est porté avant l'âge de 50 ans (critère d'âge). -Une polypose adénomateuse familiale doit être exclue.
Critères d'AmsterdamII (révisés)(Vasenet al., 1991).
Famille comportant aux moins trois parentes atteints du cancer colorectal histologiquement prouvé appartenant au spectre du syndrome HPNCC (cancer colorectal, cancer de l'endomètre, cancer de l'intestin grêle, cancer de l'uretère ou des cavités excrétrices) et présentant tous les critères suivants : - L'un des parentes atteintes est apparenté au premier degré avec les deux autres atteints. - Au moins un des diagnostics de cancer colorectal est porté avant l'âge de 50 ans u moins deux générations successives sont atteintes. -Une polypose adénomateuse familiale doit être exclue.

Annexe 5 - Tableau 5 : Les critères de Bethesda impliquant dans le syndrome de Lynch.

Critères originaux de Bethesda(Rodriguez-Bigaset *al.*, 1997).

1. Individus avec cancers dans leurs familles qui répondent aux critères d'Amsterdam.
2. Individus avec deux tumeurs en relation avec HNPCC, incluant les CCR synchrones, métachrones ou les cancers extra-coliques associés (ovaire, endomètre, gastrique, intestin grêle, rein, uretère ...).
3. Individus avec un CCR et un parent au premier degré avec un CCR et/ou un Cancer extra-colique associés à HNPCC et/ou un adénome colorectal ; un des cancers diagnostiqué avant 50 ans et les adénomes avant 40 ans.
4. Individus avec un CCR ou de l'endomètre diagnostiqué avant 50 ans.
5. Individus avec un CCR du côté droit avec une structure histopathologiquement indifférenciée diagnostiqué avant 50 ans.
6. Individus avec un CCR avec un type cellulaire en bague à chaton diagnostiqué avant 50 ans.

Critères originaux de Bethesda(Umar *et al.*, 2004).

1. Cancer colorectal diagnostiqué chez des patients de moins de 50 ans.
2. Présences des tumeurs colorectal synchrones, métachrones ou d'autre tumeurs associés au HNPCC (ovaire, endomètre, gastrique, intestin grêle, rein, uretère, cerveau, pancréas ...).
3. CCR avec une histologie MSI-Higt (présence de lymphocytes infiltrant la tumeur réaction immunitaire identique à la maladie du Crohn croissancemédullaire diagnostiqué chez les patients de moins de 60 ans.
4. CCR diagnostiqué chez des patients un ou plusieurs parents du premier degré avec des tumeur en relation avec un HNPCC, avec un des cancers diagnostiqué avant 50 ans.
5. CCR diagnostiqué chez deux parents ou plus, du premier ou deuxième degré avec des tumeurs en relation avec HNPCC indifféremment de l'âge.

Annexe 6 -Fiche de renseignement du patient.

AnnéeN°de Dossier.....
Nom Prénom:.....
Date et lieu de naissanceAge :.....
Etat civil.....Nbr d'Enfants:.....
Adresse :..... Tel.....
Origine ethnique:..... Fonction :.....

Caractéristiques cliniques au diagnostic:

Diagnostic de la maladie :

Age au moment du diagnostic:

Année de diagnostic.....

Diabète : oui non Dyslipidémies : oui non

Maladies cardiovasculaires : oui non Type de maladie.....

Autres ATCD personnels.....

Analyses biologiques

CA19:9..... ACE..... Autres

Examens cliniques:

Endoscopie:

Echo/ Scanner :

Thérapie et traitements:

Chirurgie seule

Chirurgie + CT

CT seule :

Chirurgie +CT+ RT:.....

RT seule :

Durée du traitement.....

Nombre de cures:.....

Caractéristiques tumorales

A- Données macroscopique :

- Localisation tumorale : rectum colon sigmoïde colon sigmoïde

colon transverse colon droit

- Aspect : bourgeonnant infiltrant plan

- Polypes synchrones : Absents présents

- Métastases synchrones : Absentes présentes

-Localisations :

B- Données histologiques :

- Type d'adénocarcinomes : bien moyennement peu différencié

- Envahissement en profondeur : Intramuqueux (Tis) Limité à la sous muqueuse (T1)

Limité à la musculuse (T2)

Envahissement à la sous séreuse (T3)

Envahissement de séreuse ou à des organes de voisinage(T4)

- Extension ganglionnaire :

Nombre de ganglions prélevés Nombre de ganglions envahis

- Stades pTNM :

Habitudes de vie personnelle :

Prise du tabac :

Non-fumeur Fumeur actuel Ancien fumeur date d'arrêt

Pratique d'une activité physique (sports, marche, vélo)

Moins d'une heure/ semaine 1 à 3 heures /semaine plus de 3 heures/semaine

Consommation d'alcool

Jamais occasionnellement 2 à 3 fois /semaines et ou les jours

Régime alimentaire :

Consommation de viande rouge (bœuf, agneaux.....)

1 fois /semaine 2 à 4 fois /semaine plus de 5 fois /semaine

Consommation de volailles et/ou de viande blanche (poulet, dinde, lapin)

1 fois /semaine 2 à 4 fois /semaine plus de 5 fois /semaine

Consommation de poisson :

1 fois /semaine 2 à 4 fois /semaine plus de 5 fois /semaine

Mode de cuisson privilégié

Au four avec matière grasse Au four sans matière grasse grillades vapeur

Consommation de légume :

Moins de 1 fois /jour 2 fois /jour 2 fois ou plus /jour

Consommation de fruits :

Moins de 1 fois /jour 2 fois /jour 2 fois ou plus /jour

Consommation de produits laitiers (lait, fromage, yaourt, crème.....) :

1 fois /jour ou moins 2 fois /jour 3 fois /jour

Consommation de l'huile d'olive :

Oui non

Consommation de thé vert :

Oui non

Antécédents tumoraux personnels:

-
-

Antécédents familiaux :

Type de cancer du Père :	Type de C de la mère :
Age de diagnostic.....	Age de diagnostic.....
Type de C du frère :	Type de C de la sœur :
Age de diagnostic.....	Age de diagnostic.....

Collatéraux:

Parent 1:.....	Parent 2 :
Lien de parenté:.....	Lien de parenté:.....
Age de diagnostic.....	Age de diagnostic.....
Type de cancer	Type de cancer.....

Arbre généalogique :

Nom de l'investigateurLieu d'investigation :.....

Date :.....

Annexe 7 - : Extraction de l'ADN

1- Préparation des leucocytes

-Dans un tube Flacon de 50 ml ; mettre le sang total (7-10ml) et compléter à 45 ml avec du TE (TRIS + EDTA) 20 :5.

- Laisser le mélange 10min dans la glace.

- Centrifuger 15min à 3900g (3900 rpm).

- Déverser le surnageant prudemment afin de garder le culot leucocytaire précipité au fond de tube.

- Rajouter le TE 20:5 au culot jusqu'à 20-30 ml, agiter pour le remettre en suspension.

- Laisser 10 min dans la glace
- Centrifuger 15 min à 3900 g (3900 rpm)
- Centrifuger dans les mêmes conditions précédentes.
- Déverser le surnageant : obtention d'un culot de leucocytes.

(Si on s'arrête à ce niveau, les mettre dans un tube nunc de 1.5ml avec du TE 10 :1 et les conserver à -20°C dans un congélateur).

2- Extraction de l'ADN

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

3- Solubilisation de l'ADN

-L'ADN est réhydraté en ajoutant entre 300 et 1000 µl de TE 10 :1 selon la grosseur de la pelote et la concentration souhaitée.

-Laisser une nuit sur agitateur rotateur à 37°C, puis à température ambiante jusqu'à dissolution complète (de 1 jusqu'à 3 jour).

4- Détermination de la pureté de l'ADN

L'ADN est solubilisé en phase aqueuse par le rapport de la DO à 260nm (longueur d'onde de l'absorption de l'ADN), sur la DO à 280nm (longueur d'onde de l'absorption des protéines).

- L'ADN est suffisamment pur lorsque le rapport $R = DO_{260} / DO_{280}$ est compris entre 1.6 et 2 ($1.6 < R \leq 2$).
- L'ADN est contaminé par les protéines si : $DO_{260} / DO_{280} < 1.6$.
- L'ADN est contaminé par les ARN si : $DO_{260} / DO_{280} > 2$.

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

Annexe 8 - préparation du TBE 1X

On prépare le TBE 10X : Tris 108g + acide Borique 55g + EDTA 9.3g + H₂O distillée 1L, puis on fait une dilution pour obtenir un TBE 1X, on prend 100 ml TBE et on complète le volume avec de l'H₂O distillée jusqu'à 1000 ml.

Résumé

En Algérie, le cancer colorectal présente un réel problème de santé publique. C'est une tumeur maligne qui prend naissance dans les cellules du côlon ou du rectum, conduisant à la transformation de cellules épithéliales coliques en un adénocarcinome.

L'ECA est une enzyme clé dans le système rénine-angiotensine, qui convertit l'angiotensine I en angiotensine II. Elle peut influencer la prolifération des cellules tumorales, la migration, l'angiogenèse et les facteurs métastatiques. Compte tenu de l'important rôle de l'ECA dans l'étiologie du cancer, il est possible que les variations génétiques de ce gène puissent moduler le risque de cancer.

Notre étude repose sur l'étude moléculaire d'association cas/témoin de 32 sujets atteints de CCR et 37 témoins. Le génotypage du polymorphisme de l'ECA a été réalisé par PCR. La comparaison des fréquences alléliques et génotypiques entre les deux groupes a été établie par le calcul de l'odds ratio avec un intervalle de confiance à 95%.

Des statistiques ont montré une nette prédominance du génotype DD (56%) chez les sujets CCR par rapport aux témoins (41.93%) mais il n'existe aucune différence significative de distribution des fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme exploré entre les témoins et les cas CCR. Pour cela, il serait intéressant d'étudier une cohorte de plus grand effectif de sujets pour pouvoir retirer de conclusions concernant la corrélation de ce polymorphisme et le risque de CCR.

Mots clé : Cancer colorectal, polymorphisme I/D, ECA, risque de CCR.

ملخص

يعتبر سرطان القولون والمستقيم في الجزائر مشكلة رئيسية عامة.

هو عبارة عنور مخبيثينشأفيخلايا القولونأو المستقيم، ممايؤديإلىتحولالخلاياالظهاريةللقولونالسرتان.

الإنزيمالمحولللأنجيوتنسينهو انزيم رئيسيفينظامالرينينالأنجيوتنسينالذييحولالأنجيوتنسين1 الالأنجيوتنسين2

ويمكنأنيؤثر علانتشارالخلاياالسرتانيةوهجرةالخلايا

والأوعيةالدمويةوالعوامللمسببةفيانتشارالمرض.وبالنظرإلىالدورالهامللأنزيمفيمسبباتالسرتان، فمنالممكنأنالاختلافاتالجينيةلهذاالجينقدتعدلمنخطرالإصابةبالسرتان.

وتستنددراسةالجزئيةل32

شخصمصايبسرتانالقولون37 عيان.تمإجراءالتميطالجينيللأنزيمباستعمالنفاعلالبوليميرازالمتسلسل.مقارنةالتردداتأليلوراثيبيدالمجموعتينتمتحديدهامنقبلاحتسابنسبةالأرجحيةمعفاصلزمنيثقة95%.

أظهرالتحليلالإحصائيأن

غلبةالنمطالجينيDللمرضمقارنةمععيانولكنليسهنأكااختلافكبيرفيتوزيعتواترالأليلونمطالجينيعلىالرممنعددأشكالاستكشافهايدبالضوابطوالحالات.

لهذايكونمالمثيرللأهتمامدراسةلغيرالمواضيعالأكثرفعاليةمنأجلالوصولإلىالاستنتاجاتبشأنعلاقةهذا

التعددالجينيوخطرالإصابةبسرتانالقولون

الكلمات الدالة: التغير الجيني . سرطان القولون عامل خطر انزيم تحول الأنجيوتنسين .

Abstrat

In Algeria, colorectal cancer presents a real public health problem. It is a malignant tumor that originates in the cells of the colon or rectum, leading to the transformation of colonic epithelial cells into an adenocarcinoma.

ACE is a key enzyme in the renin angiotensin system, which converts angiotensin I to angiotensin II. It can influence tumor cell proliferation, migration, angiogenesis and metastatic factors. Given the important role of ACE in the etiology of cancer, it is possible that the genetic variations of this gene may modulate cancer risk.

Our study is based on the molecular study of case / control association of 32 subjects with CCR and 37 controls. The genotyping of the ACE polymorphism was performed by PCR. The comparison of allelic and genotypic frequencies between the two groups was established by calculating the odds ratio with a confidence interval of 95%.

The statistical analysis showed a clear predominance of the DD genotype (56%) in the CCR subjects compared with the controls (41.93%) but there was no significant difference in the distribution of the allelic and genotypic frequencies of the polymorphism explored between the controls and The CCR cases.

To do this, it would be interesting to study a larger cohort of subjects in order to draw conclusions about the correlation of this polymorphism and the risk of CRC.

Key words : colorectal cancer, polymorphism I / D, ACE, risk of CRC

Association du polymorphisme I/D de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) et cancer colorectal

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Génétique Moléculaire.

En Algérie, le cancer colorectal présente un réel problème de santé publique. C'est une tumeur maligne qui prend naissance dans les cellules du côlon ou du rectum, conduisant à la transformation de cellules épithéliales coliques en un adénocarcinome.

L'ECA est une enzyme clé dans le système rénine-angiotensine, qui convertit l'angiotensine I en angiotensine II. Elle peut influencer la prolifération des cellules tumorales, la migration, l'angiogenèse et les facteurs métastatiques. Compte tenu de l'important rôle de l'ECA dans l'étiologie du cancer, il est possible que les variations génétiques de ce gène puissent moduler le risque de cancer.

Notre étude repose sur l'étude moléculaire d'association cas/témoin de 32 sujets atteints de CCR et 37 témoins. Le génotypage du polymorphisme de l'ECA a été réalisé par PCR. La comparaison des fréquences alléliques et génotypiques entre les deux groupes a été établie par le calcul de l'odds ratio avec un intervalle de confiance à 95%.

Des statistiques ont montré une nette prédominance du génotype DD (56%) chez les sujets CCR par rapport aux témoins (41.93%) mais il n'existe aucune différence significative de distribution des fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme exploré entre les témoins et les cas CCR.

Pour cela, il serait intéressant d'étudier une cohorte de plus grand effectif de sujets pour pouvoir retirer de conclusions concernant la corrélation de ce polymorphisme et le risque de CCR.

Mots clefs : Cancer colorectal, polymorphisme I/D, ECA, risque de CCR

Laboratoire de recherche : Biologie moléculaire et cellulaire

Jury d'évaluation :

Président du jury : *Mme SEDRATI Khadidja* (MCB - UFM Constantine 1).

Rapporteur : *Mme ZIADA-BOUCHAAR Hadia* (MCB - UFM Constantine 1).

Examineur : *Mme BOUDOUKHAN Ibtissem* (MAA - UFM Constantine 1).

Date de soutenance : 04 /07/2017