

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**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**  
**Département de Biochimie et de Biologie Moléculaire et Cellulaire**

N° d'ordre.....

N° de série.....

## **Mémoire**

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biochimie  
Option : Biochimie appliquée

**Etude rétrospective et exploration du protéome salivaire  
des patients atteints du cancer colorectal par application  
de la technique d'électrophorèse monodimensionnelle**

**Présenté par :**

- AMIER Hakima
- MEZAACHE Assia

**Devant le jury :**

- Président : Prof. KHELIFI Douadi, UFMC1
- Examineur : Dr. BECHKRI Sakina, UFMC1
- Encadreur : Dr. BELLIL Inès, UFMC1

**Année universitaire 2017/2018**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سبحانك لا علم لنا إلا ما علمتنا

إنك أنت العليم الحكيم

سورة البقرة: الآية 31

صَدَقَ اللَّهُ الْعَظِيمَ

## *Remerciement*

*Tout d'abord, nous  
remercions le bon dieu de nous  
avoir donné santé et volonté pour  
terminer ce modeste travail*

*Nos remerciements les plus sincères s'adressent à notre encadreur **Mme BELLIL INES**, Maitre de conférences pour sa confiance, ses judicieux conseils, son soutien, sa patience et ses remarques avisées, nous tenons à lui exprimer toute nos gratitude.*

*Nous remercions les membres de jury d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail. Nous vous en sommes très reconnaissantes et en espérant être à la hauteur de votre confiance.*

*Que Prof. **KHELIFI DOUADI**, trouve ici l'expression de nos respectueuses gratitude et le témoignage de nos profonds remerciements pour avoir accepté de présider ce jury et avant tout pour avoir accepté de nous accueillir dans votre laboratoire pour effectuer ce travail.*

*Nous remercions également l'examinatrice de ce travail **Mme BECHEKRI SAKINA**. Nous vous adressons nos sincères remerciements et nos profonds respects pour l'intérêt que vous apportez à ce travail.*

*Nous tenons également à remercier les personnels de l'hôpital militaire régional universitaire de Constantine (HMRUC/5°RM) en particulier le chef service d'oncologie : **DR YOUNSI ZAIM** pour avoir accepté de nous recevoir pour la collecte des échantillons et consultation des dossiers.*

*Nous remercions chaleureusement les personnels médicaux :*

*Les médecins : **DR BERKANE, DR GOISSAME, DR NABET***

*Les paramédicaux : **B.SALAH, B.OUSSAMA, H.NORA, M.HAKIME, F.KHALIL, A.SOFIANE et B.HABIBE** pour toute l'aide qu'ils nous ont apportée tout au long de notre stage pratique.*

*Nos grands remerciements vont à l'infirmier **M.HAKIME** qui était le témoin sain.*

***Mme ALAIDOUNI**, nous avons été très touchées par sa disponibilité et son abord facile. Nous la remercions pour leur soutien et d'avoir ouvrir les portes du laboratoire pour nous afin de réaliser ce travail.*

*Nos remerciements vont également aux malades accueillis par le service d'oncologie pour nous apporter leurs salves. Qu'Allah vous guérisse.*

*Nous remercions toutes les personnes qui nous ont formé lors de notre parcours étudiant, et notamment tous les enseignants sans exception.*

*En fin nos remerciements à tous ceux qui ont aidé à l'élaboration de ce mémoire du pré ou du loin.*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail à tous ceux que j'aime et respecte, tous ceux qui ont contribué à la réalisation de cette recherche.*

*Tout d'abord, à mes chers parents (SMAIN et SAMIA) pour leurs sacrifices et leur éducation, Votre bonté et votre générosité sont sans limite. Vos prières m'ont été d'un grand soutien au cours de ce long parcours. J'espère de tout mon cœur qu'en ce jour vous soyez fière de moi, et que je réalise l'un de vos rêves.*

*Je vous le dédie tout particulièrement. Puisse Dieu vous procurer bonheur, santé, longue vie et vous garder à mes côtés, le plus longtemps possible.*

*A mes chers grands parents : Zohra et AMAR (Nous implorons tous le tout-puissant d'avoir son âme en sa sainte miséricorde)*

*TORKIA et AHMED*

*A mes très chères sœurs MOUNA, BOUCHRA et CHAIMA.*

*A mes très chers frères MOHAMED LAMINE et FARES.*

*Je vous souhaite du bonheur et du succès dans toute votre vie*

*A tous les membres de ma famille.*

*A mes très chères amies.*

*A toute ma promotion de 2ème année master Biochimie appliquée.*

*A tout patient atteint de cancer qu'Allah vous guéris.*

*Je tiens donc à remercier toutes les personnes qui m'ont permis de réaliser ce travail et Accompagner tout au long de ce chemin.*

*MEZAACHE ASSIA*

*Je dédie ce mémoire*

**A MES TRÈS CHÈRES PARENTS  
Mr AMIER FERHAT ET Mme TOULI FATIHA**

*Je vous remercie pour tous vos sacrifices, pour vôtres soutien continu...*

*Je suis chanceuse de vous avoir à mes cotés...*

*Que dieu vous protège et vous prête bonne santé et longue vie.*

**A MES SŒURS AICHA, NAIMA, SORAYA, RIMA, RATIBA, LEURS EPOUX  
CHAFFIK, RIAD, LAMINE, MAHDI, SAMI**

*Je vous remercie pour tous les moments de joie et de fêtes que nous avons partagés...*

*J'espère que dieu vous perpétuer entre vous l'affection et la miséricorde.*

**A MON FRÈRE TAYEB ET SA FEMME MERIEM**

*Ma chère MERIEM, tu es comme ma sœur...*

*J'apprécie votre soutien...*

*Je te souhaite à vous tout le meilleur...*

*Qu'Allah vous donner une bonne progéniture.*

**A MES NEVEUX KHALIL, NADJI, SAIF, FADI, WAIL, AMDJAD, YASSER**

*En fait vous êtes mes frères...*

*Je me rappelle très bien encore de jours de vôtres naissances...*

*C'étaient les plus beaux jours pour nous tous...*

*Que dieu vous garde pour vos parents...*

*Je vous aime de tout mon cœur. Je vous souhaite un avenir radieux inchaALLAH.*

**A MES PETITES NIECES ALAE, RANIME, ISSRAE**

*Vous êtes la fleur de notre famille...*

*Mes perles brillantes, mes princesses je vous adore.*

*Je vous souhaite une vie pleine de réussite, de santé et de bonheur.*

**A MON GRAND PERE MOHAMED**

***ET AUX DEFUNTS GRANDS PARENTS MOHAMED, FATMA SAHRA AICHA  
ET BARIZA***

*Puisse ALLAH te protéger et de te maintenir en bonne santé*

*Que vous reposiez dans le paradis du seigneur.*

***A TOUS MES ONCLES ET TANTES***

***A TOUS MES COUSINS ET COUSINES***

*Il me serait difficile de vous citer tous, vous êtes dans mon cœur...*

*Trouvez ici l'assurance de mon profond respect et de mon fidèle attachement...*

*Que dieu vous accorde santé et longue vie.*

***A MES AMIS DE CLASSE***

*Je suis toujours fier de tes connaissances...*

*Vous partagerez toujours une partie de ma vie et de mon cœur...*

*Nous avons partagé ensemble beaucoup de moments de joie et de tristesse aussi lorsque nous avons perdu notre chère amie HOSNA qui nous manque encore jusqu'ici...*

*Puisse ALLAH vous aidez dans vos études. J'espère pour vous que vous réalisez tous vos rêves.*

***A TOUS MES AMIS A LA FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA  
VIE ET SURTOUT ASSIA, SANA, SABRINA, LINDA, DONIA, ASEMA,  
SALSABILE, ZAHIA, FOUZIA, OUSSAMA***

*Qui font partie de ces personnes rares par leurs gentillesse, leurs tendresses et leurs grands cœurs...*

*À tous ceux ou celles qui me sont chers et que j'ai omis involontairement de citer.*

*Je vous souhaite tout le bien que je souhaite pour moi-même.*

***A TOUT LE PERSONNEL DE SERVICE D'ONCOLOGIE DE***

***L' HOPITAL MILITAIRE UNIVERSITAIRE REGIONALE DE CONSTANTINE***

*J'ai gardé un bon souvenir du stage, j'ai appris de vous un peu de vôtres noble profession...*

*J'étais heureuse de jouer l'infirmière...*

*Je remercie les médecins qui n'ont pas hésité à répondre à nos questions concernant notre mémoire.*

*Avec toute mon affection et estime, je vous souhaite beaucoup de réussite et de bonheur, autant dans vôtres vie professionnelle que privée.*

***HAKIMA***

## Sommaire

Liste des abréviations.....	i
Liste des tableaux.....	iii
Liste des figure .....	iv
Introduction.....	1

### Chapitre 01 : synthèse bibliographique

#### I. Cancer du colon

1. Le côlon .....	2
1.1. Anatomie .....	2
1.2. Fonctions physiologiques .....	2
1.2.1. La transformation du bol intestinal .....	2
1.2.2. Stockage et évacuation des matières fécales.....	2
1.2.3. Action microbienne intense.....	3
2. Le cancer colorectal.....	3
2.1. Définition du cancer .....	3
2.2. Définition du cancer colorectal .....	3
3. Epidémiologie.....	4
3.1. Dans le monde.....	4
3.2. En Algérie.....	5
4. Carcinogénèse.....	5
4.1. Voie de l'instabilité chromosomique (cancers LOH+) .....	6
4.2. Voie de l'instabilité des locus microsatellites (cancers RER+ ou MSI).....	6
5. Les facteurs protecteurs et les facteurs à risques.....	7



## II. la salive

1. La salive .....	8
2. Les glandes salivaires .....	8
2.1. Les glandes salivaires majeures.....	8
2.2. Les glandes salivaires mineures, ou accessoires .....	8
3. Caractéristiques physicochimiques de la salive.....	8
3.1. Débit salivaire.....	8
3.2. PH.....	9
4. Composition de la salive.....	9
4.1. Constituants inorganiques.....	9
4.2. Constituants organiques.....	9
4.2.1. Les protéines.....	9
4.2.1.1. Les protéines extrinsèques.....	9
4.2.1.2. Les protéines intrinsèques.....	9
• Les enzymes salivaires.....	9
➤ Alpha-amylase salivaire (ou ptyaline).....	9
➤ Lipase salivaire.....	10
➤ Lysozyme.....	10
➤ Autres enzymes.....	10
4.2.2. Les Immunoglobuline .....	10
4.2.3. LES mucines .....	10
4.2.4. Autres constituants organiques.....	10
5. Fonctions de la salive.....	11
5.1. Fonction digestive.....	11
5.2. Fonction protectrice.....	11
5.3. Fonction d'excrétion.....	11
5.4. Fonction hormonale.....	11
5.5. Pouvoir tampon.....	11

### III. Les biomarqueurs

1. Les biomarqueurs.....	12
2. Marqueur biologique tumoral.....	12
2.1. Critères de qualité.....	12
2.2. Situations d'intérêt.....	13
2.3. Rappels sur les vrais/faux négatifs et les vrais/faux positifs.....	13
2.4. Dosage.....	14
3. Les biomarqueurs des cancers colorectaux.....	14
3.1. L'ACE (ou CEA, antigène carcino-embryonnaire).....	14
3.1.1. Définition.....	14
3.1.2. Fonction.....	14
3.1.3. Caractéristique.....	15
3.1.3.1. Valeurs de référence et demi vie.....	15
3.1.4. Variation physiologique.....	15
3.1.5. Variation pathologique.....	15
3.2. Le CA 19-9 (Carbohydrate antigène19-9).....	15
3.2.1. Définition.....	15
3.2.2. Fonction.....	16
3.2.3. Caractéristique.....	16
3.2.3.1. Valeur de référence et demi-vie.....	16
3.2.4. Variation physiopathologique.....	16
4. Relation entre cancer du colon, salive et biomarqueurs.....	17

#### **Chapitre 02 : Matériel et Méthode.**

1. Matériel biologique.....	18
1.1. Recrutement des patients.....	18
1.2. Recueil de la salive.....	18
2. Méthodes.....	18

2.1. Extraction des protéines salivaires dans des conditions dénaturantes et réductrices.....	19
2.2. Électrophorèse monodimensionnelle en gel de polyacrylamide.....	19
2.3. Lecture des électrophorègrammes.....	19
2.4. Analyse statistique.....	19

## **Chapitre 03 : Résultats et discussion**

### **I. Données**

<b>épidémiologiques</b> .....	20
1. Le sexe.....	20
2. L'âge.....	20
3. La répartition géographique.....	21
4. Les circonstances de découverts.....	22
5. Le siège de la tumeur.....	22
6. L'extension.....	23
7. Le stade.....	23
8. Les pathologies associées.....	24

### **II. Fractionnement des protéines salivaires et recherche de biomarqueurs**.....25

1. Analyse des profils électrophorétique.....	25
2. Etablissement des diagrammes types.....	27
3. Etude de la variabilité des protéines salivaires dénaturées et réduites.....	28
4. Classification hiérarchique des protéines salivaires.....	29
4.1. Dendrogramme des protéines salivaires dénaturées et réduites.....	29
5. Indice de similarité des diagrammes protéiques des échantillons.....	31
5.1. Indice de similarité des protéines salivaires dénaturées et réduites.....	32

Conclusion et perspectives.....34

Références bibliographiques.....36

### Annexes

Annexe 1.....I

Annexe 2.....II

Annexe 3.....	III
Glossaire.....	IV
Résumé	
Abstract	
ملخص	

## Liste des abréviations

<b>ACE</b>	Adénome Carcinome Embryonnaire
<b>APC</b>	<i>Adenomatous Polyposis Coli</i>
<b>APS</b>	Ammonium Per-Sulfate
<b>ARN</b>	Acides Ribonucléiques
<b>BBA</b>	Bordj Bou Arreridj
<b>CA 19-9</b>	Cancer Antigène 19-9
<b>CCR</b>	Cancer Colorectal
<b>DCC</b>	Deleted in Colorectal Cancer
<b>EGF</b>	l'Epithelial Growth Factor
<b>EGF</b>	Epidermal Growth Factor
<b>ELAM1</b>	Endothelial-Leucocyte-Adhesion-Molecule1
<b>FN</b>	Faux Négatifs
<b>FP</b>	Faux Positifs
<b>HMURC</b>	Hôpital Militaire Universitaire Régionale de Constantine
<b>HP</b>	Hypertrophie de la prostate
<b>HTA</b>	Hypertension Artérielle
<b>HVG</b>	Hypertrophie Ventriculaire Gauche
<b>IAS</b>	Indice Absolu de Similarité
<b>Ig</b>	Immunoglobulines
<b>IGF</b>	Insulin-like Growth Factor
<b>INC</b>	l'Institut National du Cancer
<b>IRC</b>	Insuffisance Rénale Chronique
<b>IRS</b>	Indice Relatif de Similarité
<b>KRAS</b>	Kirsten Rat Sarcom
<b>LNCC</b>	la Ligue Nationale Contre le Cancer
<b>LOH+</b>	Loss of Heterozygoty

<b>MMR</b>	Mismatch Repair
<b>MSI</b>	Microsatellite Instability
<b>NGF</b>	Nerve Growth Factor
<b>NIH</b>	National Institutes of Health
<b>OEB</b>	Oum El Bouaghi
<b>OMS</b>	Organisation Mondiale de la Santé
<b>P53</b>	Protein 53
<b>pH</b>	Potentiel Hydrogène
<b>P TNM</b>	Pathology Tumor Node Metastasis
<b>RER</b>	replication error
<b>SDS-PAGE</b>	Sodium Dodecyl Sulfate-PolyAcrylamideGel Electrophoresis
<b>SMAD</b>	SMA and MAD-related protein
<b>TCA</b>	Trichloracétic Acid
<b>TEMED</b>	N,N,N',N'-Tetra methyl ethylene diamide
<b>TNM</b>	Tumor Nodes Metastasis
<b>USA</b>	United States of America
<b>VN</b>	Vrais Négatifs
<b>VP</b>	Vrais Positifs
<b>WNT</b>	Wingless-type MMTV integration site family member

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b> : Les facteurs protecteurs et les facteurs à risques.....	6
<b>Tableau 02</b> : Les notions de vrais/faux négatifs et de vrais/faux positifs.....	13
<b>Tableau 03</b> : Matrice binaire des protéines salivaires dans des conditions dénaturantes et réductrices révélées par SDS-PAGE.....	27
<b>Tableau 04</b> : variabilité des protéines salivaires.....	28
<b>Tableau 05</b> : indices de similarité des protéines salivaires dénaturées et réduites révélées par SDS/PAGE.....	32
<b>Tableau 06</b> : les stades de cancer de colon selon la classification TNM.....	III

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : L'anatomie du colon.....	2
<b>Figure 02</b> : Formation du carcinome.....	3
<b>Figure 03</b> : séquence adénome-carcinome.....	4
<b>Figure 04</b> : Incidence du cancer chez les deux sexes en ALGERIE (OMS 2014).....	5
<b>Figure 05</b> : Les mécanismes de la carcinogénèse colorectale.....	5
<b>Figure06</b> : les glandes salivaires.....	8
<b>Figure 07</b> : les principaux marqueurs tumoraux et les organes qui les produisent.....	12
<b>Figure 08</b> : La répartition du cancer du colon selon le sexe du malade.....	20
<b>Figure 09</b> : Répartition des patients selon la tranche d'âge.....	20
<b>Figure 10</b> : Répartition des patients selon les wilayas.....	21
<b>Figure 11</b> : Répartition des patients selon les circonstances de découverte.....	22
<b>Figure 12</b> : Répartition des patients selon la localisation de la tumeur.....	22
<b>Figure 13</b> : Répartition des patients selon l'extension de la tumeur.....	23
<b>Figure 14</b> : Répartition des patients selon le stade anatomopathologique TNM.....	23
<b>Figure 15</b> : Répartition des patients selon les pathologies associées.....	24
<b>Figure 16</b> : Profils électrophorétiques des protéines salivaires dans les conditions dénaturantes et réductrices révélées par SDS/PAGE. T : témoin. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 : patients malades.....	26
<b>Figure 17</b> : Dendrogramme des 15 échantillons révélés dans les conditions dénaturantes et réductrices fractionnés par SDS/PAGE.....	31
<b>Figure 18</b> : Schéma illustrant la classification par stade en fonction de l'invasion de la muqueuse intestinale par la tumeur.....	III



# Introduction

Le cancer du côlon, est un problème de santé publique majeur dans le monde, dont la fréquence est en croissance progressive. Le cancer de colon est le troisième cancer dans le monde chez les deux sexes réunis. Le taux d'incidence et de mortalité varient considérablement selon les pays, il y a 10 fois plus de cancer colorectal aux USA qu'en Afrique. Ces différences sont la conséquence du rôle essentiel de l'alimentation dans la survenue de ce cancer. Le cancer colorectal est rare avant 45 ans et son incidence augmente très rapidement à partir de cet âge, et aussi bien chez l'homme que chez la femme (19).

En Algérie, le cancer colorectal se situe ; tous sexes confondus ; à la deuxième place des cancers les plus fréquents après le cancer du sein chez la femme et après le cancer des poumons chez l'homme(29).

Certaines protéines du sérum sont reconnues comme biomarqueurs potentiels de maladies et peuvent également être retrouvées dans la salive totale. Ces similitudes entre les protéines du sérum et les protéines salivaires ont encouragé les chercheurs à considérer la salive comme un fluide de diagnostic pour détecter des signes de pathologie (43,44).

Dans cette optique nous avons initié notre étude qui a pour objectif principal d'explorer le protéome salivaire des patients atteints de cancer du colon et de rechercher des biomarqueurs salivaires de cette pathologie, en comparant les profils protéiques des patients malades avec celui d'un sujet sain par application de la technique d'électrophorèse monodimensionnelle SDS-PAGE.

Le premier chapitre de ce mémoire comprend une synthèse bibliographique qui inclut une présentation générale sur le cancer du colon, tout en mettant l'accent sur la salive et ses composants ainsi que les biomarqueurs tumoraux. Le deuxième chapitre décrit le matériel et les méthodes utilisées. L'exploitation et la discussion des résultats sont présentées dans le troisième chapitre. Enfin, une conclusion résumant cette recherche et des perspectives clôturent cette étude.

# Chapitre 1 : synthèse bibliographique

## CANCER DU COLON

### 1. Le côlon

#### 1.1. Anatomie

Le système digestif est constitué du tube digestif et de l'ensemble des glandes qui y déversent leurs sécrétions par des canaux. Le tube digestif est constitué de structures anatomiques distinctes qui sont la bouche, le système oropharyngé, l'œsophage, l'estomac, l'intestin grêle (duodénum, jéjunum et iléon), du gros intestin (autrement appelé côlon), du rectum et de l'anus. À ce tube digestif sont connectés des organes glandulaires : les glandes salivaires, le foie, la vésicule biliaire et le pancréas.

Le côlon est un tube d'environ 1,2 m de long et d'environ 6 cm de diamètre(02). Il se divise en trois parties, La première est le côlon droit, qui débute avec le cæcum auquel est accolé l'appendice, continue par le côlon ascendant et se termine à l'angle droit, sous le foie. La seconde partie du côlon est le côlon transverse qui s'étend de l'angle droit à l'angle gauche ; il est voisin de l'estomac. La troisième partie est le côlon gauche, qui commence à l'angle gauche, continue par le côlon descendant et se termine par le côlon sigmoïde qui se situe autour et en arrière de la vessie. Le rectum fait suite au côlon sigmoïde et débute à la charnière rectosigmoïdienne pour se terminer par le canal anal. Il se divise en haut, moyen et bas rectum (figure 01) (15).

#### 1.2. Fonctions physiologiques

Le côlon contribue à trois fonctions importantes dans l'organisme :

##### 1.2.1. La transformation du bol intestinal

Au niveau du colon, les résidus liquides de l'intestin grêle sont transformés en matières solides non digestibles appelés fèces. Cette transformation fait intervenir la réabsorption d'eau et de sels solubles par des entérocytes dépourvus d'activités enzymatiques digestives.

##### 1.2.2. Stockage et évacuation des matières fécales

Mouvements peu propulsifs assurant donc un transit.

- Les mouvements du côlon droit assurent un péristaltisme rétrograde vers le cæcum qui est responsable du brassage et des phénomènes de réabsorption.

# Chapitre 1 : synthèse bibliographique

- Les mouvements du côlon gauche entraînent des contractions annulaires peu propulsives.
- Le côlon assure une activité irrégulière : des contractions non propagées entrecoupées de période de quiescence (ce qui permet le tassement des matières fécales).

La progression et l'évacuation du bol fécal grâce à une importante sécrétion de mucus (cellules caliciformes +++).

## 1.2.3. Action microbienne intense

Le colon est hébergé de nombreux germes saprophytes dont la présence est indispensable à certaines synthèses de vitamine B et acide folique, Cette flore permet la fermentation et la digestion de certains composés, en particulier la cellulose. Les germes anaérobies dégradent les protéines endogènes issues de la desquamation cellulaire grâce à des peptidases bactériennes. Les glucides non absorbés par l'intestin grêle sont dégradés par fermentation sous l'action de bactéries (gaz intestinaux).

Sur le plan fonctionnel le côlon peut être divisé en deux parties :

- Côlon droit : Rôle majeur dans l'absorption de l'eau et des électrolytes, ainsi que dans la fermentation des sucres non digérés.
- Côlon gauche : Stockage et évacuation des selles(04).

## 2. Le cancer colorectal

### 2.1. Définition du cancer

Le terme de « cancer » recouvre un large éventail de maladies différentes qui présentent néanmoins certaines caractéristiques communes :

- Des cellules normales au départ se multiplient de façon incontrôlée ; elles prolifèrent et se transforment en cellules cancéreuses.
- Les cellules cancéreuses envahissent le tissu sain ; elles le compriment et le détruisent.
- Certaines de ces cellules peuvent se détacher de l'endroit où elles se sont constituées et donner naissance à des foyers secondaires dans d'autres parties du corps : les métastases (figure 02) (32).

### 2.2. Définition du cancer colorectal

Le point commun entre le côlon et le rectum est la muqueuse intestinale, paroi tapissant l'intérieur de l'intestin, formée de villosités recouvertes de cellules superficielles

# Chapitre 1 : synthèse bibliographique

(l'épithélium). Cette muqueuse peut, sous l'influence de mutations, se transformer progressivement en tissu cancéreux. Il s'agit d'abord de polypes dits adénomateux (les adénomes étant des tumeurs bénignes résultant de la prolifération régulière d'un épithélium glandulaire normal) qui restent limités à la paroi du côlon ou du rectum, puis, dans un second temps, de cancers encore appelés adénocarcinomes lieberkühnien (le terme carcinome désignant un cancer se développant aux dépens de l'épithélium) (figure 03).

Les cellules cancéreuses (malignes) qui forment le cancer prolifèrent donc sans contrôle de l'organisme(15). Les cellules cancéreuses sont d'abord peu nombreuses et limitées à la première couche du côlon, la muqueuse. On parle de cancer in situ. Avec le temps et si aucun traitement n'est effectué, la tumeur s'étend plus profondément à l'intérieur de la paroi du côlon, à travers les autres couches. On parle alors de cancer invasif.

Des cellules cancéreuses peuvent ensuite se détacher de la tumeur et emprunter les vaisseaux sanguins ou lymphatiques pour aller envahir d'autres parties du corps :

- Les ganglions lymphatiques proches du côlon ;
- Le foie, les poumons ou le péritoine. Les nouvelles tumeurs qui se forment alors s'appellent des métastases(21).

## 3. Epidémiologie

### 3.1. Dans le monde

Le cancer colorectal est la troisième cause de mortalité dans le monde, après les cancers du poumon chez l'homme et du sein chez la femme, avec plus de 600000 cas de décès soit 8% de l'ensemble des décès.

Géographiquement, il a été constaté une grande variation de son incidence à travers le monde dont près de 55 des cas surviennent dans les pays les plus développés.

Ainsi, les plus hauts taux sont observés en Australie / nouvelle- Zélande (44.8 et 32.2 par 100.000 habitants chez les hommes et les femmes, respectivement), et les plus faibles en Afrique de l'Ouest (4,5 et 3,8 pour 100000 habitants) (33).

# Chapitre 1 : synthèse bibliographique

## 3.2. En Algérie

En Algérie, le cancer colorectal est au deuxième rang, pour les deux sexes. Le cancer le plus fréquent chez la femme est le cancer du sein avec 8177 cas et viennent par la suite le cancer colorectal 1690, le cancer de col de l'utérus 1288, le cancer de la thyroïde 1250 et le cancer de l'ovaire 821. Par contre chez l'homme, le cancer le plus fréquent est le cancer des poumons avec 2201 cas et viennent ensuite le cancer colorectal 1690, le cancer de la vessie 1391, le cancer de l'estomac 1044 et le cancer de prostate 1037(29).

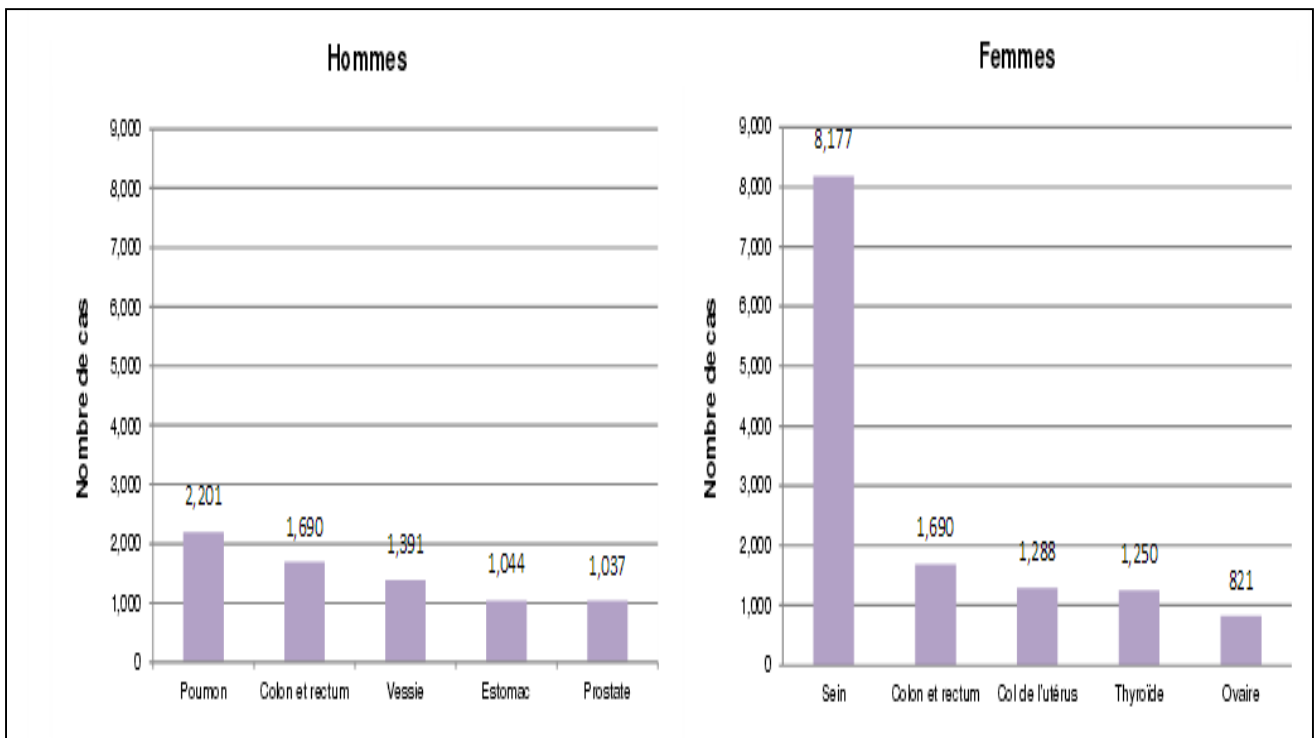


Figure 04 : Incidence du cancer chez les deux sexes en ALGERIE selon l'OMS 2014 (29).

## 4. Carcinogénèse

Il existe deux principales voies de cancérogenèse colorectale : toutes deux résultent d'une instabilité génétique, l'une, la plus fréquente, à l'échelon chromosomique (instabilité chromosomique), l'autre à l'échelon des nucléotides (instabilité des locus microsatellites). Ces deux voies différentes à l'échelle moléculaire donnent des lésions semblables au plan morphologique (les adénomes) mais dont le génie évolutif vers le cancer est différent, plus important dans la voie de l'instabilité des microsatellites (figure 05).

# Chapitre 1 : synthèse bibliographique

## 4.1. Voie de l'instabilité chromosomique (cancers LOH+)

Ces cancers sont appelés LOH+ (Loss of Heterozygoty). Les cellules cancéreuses ont un contenu anormalement élevé en ADN (hyperploïdie), des pertes chromosomiques fréquentes (17 p, 18 q et 5 q) et des mutations fréquentes des gènes APC, p 53 et K-RAS2(46).

Le principal gène impliqué dans l'initiation des cancers colorectaux est le gène APC (Adenomatous Polyposis Coli). La perte d'APC (un gène suppresseur de tumeurs) conduit à une activation constitutionnelle de la voie de signalisation WNT/ $\beta$ -caténine et à une prolifération anarchique et continue des cellules coliques. Le polype qui résulte de cette mutation est susceptible d'acquérir d'autres mutations. Une mutation activatrice dans le gène KRAS (un oncogène) conduit à une augmentation de la prolifération cellulaire (KRAS est une enzyme impliquée dans les voies de signalisation en réponse à divers facteurs de croissance dont l'EGF). D'autres mutations s'en suivent, créant ainsi plusieurs sous-populations clonales. Il s'agit en particulier de gènes suppresseurs de tumeurs localisés sur le chromosome 18q (entre autres DCC, deleted in colorectal cancer, SMAD 2 et 4, impliqués dans la voie de signalisation TGF- $\beta$ , ...) et le suppresseur de tumeur p53 dont le rôle est celui de « gardien du génome ». Elle bloque le cycle cellulaire, permettant la réparation des lésions de l'ADN, et induisant la mort cellulaire si les lésions n'ont pu être réparées. Sa mutation inactivatrice conduit finalement à la formation d'un adénocarcinome(09).

## 4.2. Voie de l'instabilité des locus microsatellites (cancers RER+ ou MSI)

Ces cancers sont appelés RER+ (replication error) ou MSI (microsatellite instability). Les cellules cancéreuses ont un contenu en ADN normal (diploïdie), n'ont pas de pertes chromosomiques et ont des anomalies des gènes MMR (mismatch repair). Ces gènes codent pour des protéines dont le rôle est de détecter et de réparer les erreurs de réplication de l'ADN survenues au cours de la mitose. La mutation ou la méthylation de la région promotrice des gènes MMR induit une déficience de ce système de réparation et les mutations vont s'accumuler, préférentiellement au niveau des microsatellites, régions du génome particulièrement sujettes aux erreurs de réplication. La chronologie des mutations des cancers RER+ est mal connue : la mutation du récepteur de type II du TGF  $\beta$  apparaît la plus précoce(46).

# Chapitre 1 : synthèse bibliographique

## 5. Les facteurs protecteurs et les facteurs à risques

Il existe certains facteurs qui peuvent être à l'origine du cancer de colon comme il existe d'autres facteurs protecteurs :

**Tableau 01** : Les facteurs protecteurs et les facteurs à risques(15).

Les facteurs protecteurs	Les facteurs à risques
alimentation : fibres alimentaires (légumes tels que les choux, vitamines A, C, D, E)	alimentation : régimes riches en protéines (viandes rouges, brûlées), graisses saturées, graisses animales (charcuterie, viandes grasses), sucres.
<ul style="list-style-type: none"><li>• poids normal</li><li>• activité physique</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• âge</li><li>• obésité</li><li>• sédentarité</li><li>• excès calorique</li></ul>
	<ul style="list-style-type: none"><li>• Tabac</li><li>• alcool</li></ul>
participer à une campagne de dépistage se faire dépister en cas d'antécédents familiaux	<ul style="list-style-type: none"><li>• facteurs héréditaires</li><li>• présence de polypes adénomateux</li><li>• maladies inflammatoires du tube digestif (maladie de Crohn, rectocolite hémorragique)</li><li>• Diabète et insulino-résistance (22)</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• aspirine</li><li>• médicaments anti-inflammatoires</li></ul>	

# Chapitre 1 : synthèse bibliographique

## II. LA SALIVE

### 1. La salive

La salive est un liquide biologique indispensable à l'intégrité de la cavité buccale et de ses composants. C'est un liquide aqueux, incolore, translucide et dont la viscosité dépend de sa sécrétion (glandes salivaires, conditions de sécrétion) (07).

### 2. Les glandes salivaires

Les glandes salivaires sont des glandes exocrines. Elles sécrètent la salive en la déversant directement dans la cavité buccale. La sécrétion salivaire résulte de processus complexes soumis à de nombreuses régulations nerveuses et hormonales.

La salive représente la somme des différentes sécrétions salivaires des diverses glandes salivaires (28, 05).

En effet, elle est élaborée par 2 types de glandes (figure 05):

#### 2.1. Les glandes salivaires dites «majeures»

Elles sont au nombre de six ,il y en a 3 paires: les glandes parotides, submandibulaires (ou sous maxillaires) et sublinguales(08).

#### 2.2. les glandes salivaires « mineures » ou « accessoires »

Sont Très nombreuses de taille plus petite et sont les seules annexes de la muqueuse buccale, on trouve les glandes labiales, jugales, linguales, etc. Grâce à leur sécrétion salivaire continue, elles assurent l'humidification permanente de la cavité buccale (36, 8).

### 3. Caractéristiques physicochimiques de la salive

#### 3.1. Débit salivaire

Chaque jour, l'ensemble des glandes salivaires sécrète en moyenne 750mL de salive. Ce volume varie selon la stimulation, l'état de vigilance du sujet, et son rythme circadien(39).

Quelques exemples de sécrétions:

- période de repos: 0,5ml /min
- stimulation: 1 à 2ml/min
- sommeil profond: 0,05ml/min(30).

La production de salive :



# Chapitre 1 : synthèse bibliographique

- est augmentée (via l'activation du système nerveux parasympathique) par la présence d'aliments dans la bouche, les odeurs, les réflexes conditionnés et la nausée.
- est diminuée (via l'inhibition du système nerveux parasympathique) par le sommeil, la déshydratation, la peur et les médicaments anticholinergiques(06).

## 3.2. PH

Le pH salivaire varie à l'état physiologique et en l'absence de toute stimulation entre 5,75 et 6,15.

## 4. Composition de la salive

La salive est un liquide composé de plus de 99% d'eau. Le reste est constitué d'une partie organique et d'une partie minérale (inorganique) (30).

### 4.1. Constituants inorganiques

Ce sont les ions sodium, potassium, calcium, hydrogène (responsables du pH salivaire et tamponnés par les bicarbonates), chlorure, phosphates, bicarbonates, thiocyanates; on retrouve également de l'iode, du fluor, et des métaux (cuivre, fer) à l'état de traces(39).

### 4.2. Constituants organiques

#### 4.2.1. Les protéines

L'essentiel des composants organiques de la salive est représenté par des protéines. Plus de 1 300 protéines ont été identifiées à ce jour par diverses approches protéomiques. La nature et le rôle précis de nombre d'entre elles sont encore inconnus. La concentration en protéines augmente en général avec le débit salivaire. Ces protéines sont classées, en fonction de leur origine, en :

##### 4.2.1.1. protéines extrinsèques

Issues du sérum, elles sont représentées par des albumines d'origine sérique (5 à 10 % des protéines totales), des IgA, IgG, IgM, des a-et b-globulines, des calprotectines ou d'autres protéines du système immunitaire.

##### 4.2.1.2. protéines intrinsèques

Synthétisées par les glandes salivaires elles-mêmes. Elles sont nombreuses (08):

- **Les enzymes salivaires**

- **Alpha-amylase salivaire (ou ptyaline):** Cette protéine représente 30 % du total des protéines salivaires, elle est surtout sécrétée par les glandes parotides. Elle agit à pH neutre et hydrolyse les liaisons  $\alpha$  1-4 de l'amidon, produisant entre autres du

# Chapitre 1 : synthèse bibliographique

glucose et du maltose. Elle participe ainsi à la digestion des glucides, Son action est de courte durée, car inhibée par le pH acide de l'estomac après déglutition.

- **Lipase salivaire** : produite au niveau des glandes sublinguales. Cette enzyme peut hydrolyser les triglycérides, mais aussi les phospholipides, les esters de cholestérol, ainsi que de nombreux autres esters.
- **Lysozyme**: il a une action antiseptique en lysant les parois bactériennes. Elle est capable également de lyser la paroi des germes fongiques.
- **Autres enzymes** : Il existe un très grand nombre d'autres enzymes comme les kallitréines, les collagénases d'origine tissulaire, peroxydase, lactoferrine, les gélatinases, les élastases, les protéases, Lactoperoxydases, les cholinestérases et les ribonucléases. Elles jouent principalement un rôle antimicrobien et de digestion des substrats (08, 36).

## 4.2.2. Immunoglobuline

La salive contient à la fois des Ig plasmatiques de type IgA, IgG et IgM (passées par diffusion depuis le plasma), et des Ig A sécrétoires synthétisées au niveau des glandes salivaires.

## 4.2.3. Mucine

Ce sont des glycoprotéines, c'est-à-dire qu'elles sont formées par l'association d'une chaîne glucidique qui s'associe à une chaîne polypeptidique. Elles confèrent à la salive sa viscosité et son pouvoir lubrifiant(36).

## 4.2.4. Autres constituants organiques

On retrouve en faible concentration de l'urée (environ 2 mmol/l), l'acide urique, du glucose (0,056 mmol/l), de la créatinine, du cholestérol. Plus de 3 000 acides ribonucléiques (ARN) messagers ont été identifiés ; leur dosage pourrait être un futur marqueur diagnostique des cancers de la sphère buccale.

La salive contient aussi des facteurs de croissance, principalement le nerve growth factor (NGF) et l'epithelial growth factor (EGF), dont la sécrétion augmenterait au cours de certaines maladies parodontales. Des insulin-like growth factor (IGF) sont également

# Chapitre 1 : synthèse bibliographique

retrouvés, les cytokines, les Hormones (stéroïdes, insuline), Substances excrétées (iode, graisses, certains médicaments, ...) (08, 36).

## 5. Fonctions de la salive

### 5.1. Fonction digestive

La salive a un rôle au cours de la mastication, de la déglutition et de la gustation.

### 5.2. Fonction protectrice

La protection des muqueuses et des dents contre la dessiccation, les lésions et les agressions bactériennes est assurée par la barrière visqueuse formée à la surface des muqueuses par les mucines.

### 5.3. Fonction d'excrétion

Comme la sueur ou les urines, la salive est une voie d'élimination naturelle. Ainsi, des substances variées telles que les hormones stéroïdes, les anticorps, l'iode, ou encore certains médicaments (antibiotiques par exemple) peuvent y être excrétés.

### 5.4. Fonction hormonale

La salive contient des hormones, et des composés hormone-like qui proviendraient de la circulation sanguine, mais il se pourrait qu'il y ait une synthèse au niveau des glandes salivaires. La parotine, initialement isolée à partir des glandes parotides, et qui joue un rôle dans le métabolisme ostéocalcique, glucidique et lipidique, en est un exemple(36).

### 5.5. Pouvoir tampon

Le pouvoir tampon de la salive augmente avec la stimulation, il est presque inefficace pendant les périodes de faible débit, avec un pH qui peut descendre à un niveau de 5,5. Ce pouvoir repose sur la présence de bicarbonates, de phosphates, d'urée, de certaines protéines et enzymes. Les bicarbonates ont un rôle prépondérant dans la neutralisation des acides de par leurs propriétés intrinsèques(13).

# Chapitre 1 : synthèse bibliographique

## III. LES BIOMARQUEURS

### 1. Les biomarqueurs

Biomarqueur : molécule biologique trouvée dans le sang ou dans tout autre fluide biologique ou tissu, qui est le reflet d'un processus normal ou pathologique, ou d'une condition, ou d'une maladie. Un biomarqueur peut être utilisé pour suivre l'évolution de la réponse à un traitement pour une pathologie donnée ou un état. Ils sont également nommés marqueurs moléculaires ou molécules signatures (02).

### 2. Marqueur biologique tumoral

Substance sécrétée par certains types de cellule et présente dans le sang. En cas de croissance anormale de ces cellules, la production du marqueur est anormalement élevée. Le marqueur constitue un bon indice de l'activité de ces cellules (25).

Les marqueurs tumoraux correspondent généralement à des molécules formées en petites quantités par des cellules normales mais qui se retrouvent produites en excès par les cellules tumorales, hyperactives. Ainsi, la concentration de ces marqueurs est généralement corrélée au nombre de cellules cancéreuses. Selon la nature du cancer, il existe un ou plusieurs marqueurs tumoraux. Certains sont communs à plusieurs types de tumeurs, d'autres sont très spécifiques à un cancer en particulier (figure 06).

En biochimie clinique, le terme de marqueur tumoral correspond à des substances sécrétées par la tumeur dans les fluides biologiques (urine, sérum) et donc à des concentrations détectables et dosables par les méthodes analytiques de biochimie (42).

#### 2.1. Critères de qualité

Un marqueur tumoral doit répondre à certains critères :

- il est produit uniquement par les cellules tumorales (spécificité);
- il doit être augmenté chez tous les patients présentant un même type de cancer (sensibilité);
- il est libéré dans un liquide biologique facilement accessible;
- il est produit au stade initial de la tumeur afin de permettre sa détection précoce dans la population générale et la population à risque (dépistage);
- il permet de donner une orientation sur le type histologique et/ou la localisation tumorale (diagnostic);

# Chapitre 1 : synthèse bibliographique

- son taux prédit l'extension tumorale et son pronostic;
- sa cinétique permet d'évaluer l'efficacité des traitements (réponse thérapeutique) et de détecter des récurrences (surveillance);
- la procédure de dosage doit être standardisée, simple, fiable, sensible, rapide et peu onéreuse.

## 2.1. Situations d'intérêt

Un marqueur tumoral peut être utilisé en cancérologie pour le dépistage, le diagnostic, sa valeur pronostique, l'évaluation de la réponse thérapeutique et la surveillance. Aucun marqueur tumoral n'est utilisé dans toutes ces situations cliniques dans les cancers du tractus gastro-intestinal, car leurs performances sont insuffisantes et variables en fonction de la situation clinique(37).

## 2.2. Rappels sur les vrais/faux négatifs et les vrais/faux positifs

Un biomarqueur peut donner deux types de réponses :

- Le patient présente un risque d'être malade.
- Le patient ne présente pas de risque d'être malade.

Ensuite, la réalité nous amène à considérer deux conditions également :

- Le patient est malade.
- Le patient n'est pas malade.

Et toutes les combinaisons sont possibles. Cela nous amène à définir les quatre notions suivantes :

- les vrais négatifs (VN) ;      – les vrais positifs (VP) ;
- les faux négatifs (FN) ;      – les faux positifs (FP).

**Tableau 02** : Les notions de vrais/faux négatifs et de vrais/faux positifs (02).

Statut du biomarqueur	Réalité	
	Positif	Négatif
Positif	Vrai positif (VP)	Faux positif (FP)
Négatif	Faux négatif (FN)	Vrai négatif (VN)

# Chapitre 1 : synthèse bibliographique

## 2.3. Dosage

Le dosage des marqueurs tumoraux fait appel aux techniques d'immuno-analyse, qui mettent en jeu des réactions antigènes-anticorps Associées à un traceur (radioactif, chimioluminescent, fluorescent ou enzymatique). Les techniques rapides utilisent maintenant des anticorps monoclonaux dirigés contre un déterminant antigénique unique, et sont donc très sensibles et spécifiques (37).

## 3. Les biomarqueurs des cancers colorectaux

Concernant les marqueurs tumoraux, seul le dosage de l'antigène carcino-embryonnaire (ACE) doit être réalisé dans le bilan initial et le suivi du cancer colorectal (20).

Le marqueur de référence est l'ACE qui a fait l'objet de nombreuses recommandations nationales et internationales. Le CA19-9 a été également évalué dans les CCR, mais il existe moins de données disponibles. D'autres marqueurs tumoraux ont été étudiés dans les CCR mais n'apportent pas d'intérêt supplémentaire par rapport à l'ACE et au CA19-9 (1, 26).

### 3.1. L'ACE (ou CEA, antigène carcino-embryonnaire)

#### 3.1.1. Définition

Gold et Freedman sont les premiers à observer une surexpression de l'ACE dans les cellules cancéreuses colorectales et cette observation publiée en 1965 a été la base de l'utilisation de l'ACE comme marqueurs sérique de ces cancers (16).

L'ACE est une glycoprotéine monocaténaire de haut poids moléculaire (180 kDa) fortement glycosylée. Elle fait partie de la superfamille des immunoglobulines (17). L'ACE est exprimé normalement uniquement au pôle apical des cellules épithéliales glandulaires (tube digestif, utérus et voies urinaires) en très faible quantité.

#### 3.1.2. FONCTION

L'ACE intervient dans l'adhésion cellulaire et la différenciation cellulaire durant l'embryogenèse (14,03).

Le rôle de l'ACE dans la carcinogenèse serait d'inhiber la différenciation cellulaire, mais aussi de favoriser les propriétés adhésives des cellules tumorales et donc la dissémination métastatique.

# Chapitre 1 : synthèse bibliographique

L'ACE joue également un rôle dans les interactions intercellulaires et la régulation de la croissance cellulaire.

## 3.1.3. Caractéristique

### 3.1.3.1. Valeurs de référence et demi-vie

L'ACE se dose par techniques immunométriques avec des valeurs de référence entre 2,5 et 5 ng/ml. Sa demi-vie est de 2 à 8 jours et son élimination est hépatique (38).

### 3.1.4. variation physiologique

Il existe également des variations physiologiques du taux d'ACE avec l'âge et la grossesse. Chez les fumeurs, l'ACE est 1.6 à 1.7 fois plus élevé que chez les non-fumeurs (10,38).

### 3.1.5. Variation pathologique

C'est le marqueur essentiel des CCR, mais l'ACE est élevé dans tous les adénocarcinomes digestifs et certains adénocarcinomes extradiigestifs (poumon, sein, ovaire, utérus, prostate) et dans d'autres tumeurs malignes (cancer médullaire de la thyroïde, mélanome, lymphome, tumeur endocrine) ce qui en fait un marqueur non spécifique (38). De plus, des variations pathologiques de son taux peuvent être observées en cas de cirrhose alcoolique, de maladie hépatobiliaire, d'ulcère gastrique, de maladie inflammatoire de l'intestin, de maladie chronique pulmonaire, de diabète, de maladie du collagène ou d'insuffisance rénale (10). En pratique courante en oncologie digestive, l'ACE est principalement dosé dans la prise en charge des adénocarcinomes colorectaux, pancréatiques et gastriques lors du suivi thérapeutique et la surveillance. Il est également utile à l'évaluation de la réponse thérapeutique dans les CCR (23).

## 3.2. Le CA 19-9 (Carbohydre antigène19-9)

### 3.2.1. Définition

L'antigène Carbohydre CA 19.9 ou GICA (Gastro Intestinal Carbohydre) a été décrit en 1979 par Kaprowski à partir d'une tumeur maligne du côlon. Le CA19.9 est une glycoprotéine de haut poids moléculaire 10 k da, appartenant à la famille des mucines, Il est synthétisé par le pancréas humain normal ainsi que par les épithéliales biliaire, gastrique, colique, œsophagien et salivaire(12,11).

# Chapitre 1 : synthèse bibliographique

## 3.2.2. FONCTION

Parmi ses fonctions cellulaires, il est un ligand pour la molécule endothéliale d'adhésion leucocytaire (ELAM-1, E-sélectine molécule présente sur les cellules endothéliales activées par les cytokines).

Le CA 19-9 permet également l'adhésion des cellules malignes à l'endothélium vasculaire et la dissémination hématogène des cancers exprimant cet antigène. Il a été montré une corrélation entre l'intensité de son expression en immunohistochimie et la gravité du pronostic des cancers colorectaux(16).

## 3.2.3. Caractéristique

### 3.2.3.1. Valeur de référence et demi-vie

La valeur de référence est de 37 UI/ml et la demi-vie de CA 19-9 est de 1 à 9 jours (11).

## 3.2.4. Variation physiopathologique

Son dosage peut aussi être effectué sur un liquide de ponction (kyste, ascite, etc.). Son taux est augmenté dans la plupart des cancers gastro-intestinaux et dans certains cancers extradigestifs (sein, ovaires, utérus et bronches), ce qui en fait un marqueur non spécifique d'un organe en particulier, comme l'ACE. Son taux n'est pas influencé par le tabagisme(35).

Le CA 19-9 peut aussi être augmenté lors de maladies non cancéreuses pancréatiques, hépatobiliaires (cirrhose, cholestase, lithiase biliaire, cholangite, hépatite aiguë ou chronique), pulmonaires ou en cas de diabète mal équilibré(31).

Dans les pathologies bénignes, il est en général peu augmenté (<120 UI/ml), sauf en cas de cholestase ictérique(18).

En pratique courante, en oncologie digestive, le CA 19-9 est principalement dosé dans le cadre de la prise en charge des cancers colorectaux, du pancréas, de l'estomac et des voies biliaires, essentiellement dans le cadre du suivi thérapeutique et de la surveillance(37).



# Chapitre 1 : synthèse bibliographique

## 4. Relation entre cancer du colon, salive et biomarqueurs

La salive, qui contient plus d'un millier de protéines différentes, pourrait supplanter l'analyse sanguine comme outil diagnostique pour traquer cancers, maladies cardio-vasculaires et autres affections chroniques.

Comme le génome qui répertorie l'ensemble des gènes d'un organisme, le protéome est une carte complète des protéines. Alors que les gènes codent des instructions, les protéines les exécutent pour assurer le fonctionnement cellulaire. L'élaboration du protéome salivaire pourrait bientôt conduire à de nouveaux tests plus simples, plus pratiques et moins onéreux que les analyses de sang(43).

Un nombre important des protéines salivaires sont similaires à celles qui se trouvent dans le sang et dont le rôle a déjà été établi notamment dans les maladies d'Alzheimer, d'Huntington, de Parkinson, les cancers du sein, colorectal et du pancréas ainsi que dans les deux types de diabète.

Des études précédentes ont déjà prouvé qu'elles constituaient un bon indicateur pour diagnostiquer les cancers buccaux ainsi que l'infection par le virus du SIDA. Dans un article, publié dans le *Journal of ProteomeResearch*, les auteurs estiment que cette liste sera bientôt élargie pour inclure des principales causes de décès comme le cancer et les maladies du cœur. Si cette hypothèse se confirme, les médecins disposeront ainsi d'un nouvel outil de diagnostic plus aisé à mettre en œuvre et également moins coûteux, adapté, par exemple, pour des campagnes de dépistage ou la pratique de la médecine humanitaire(44).

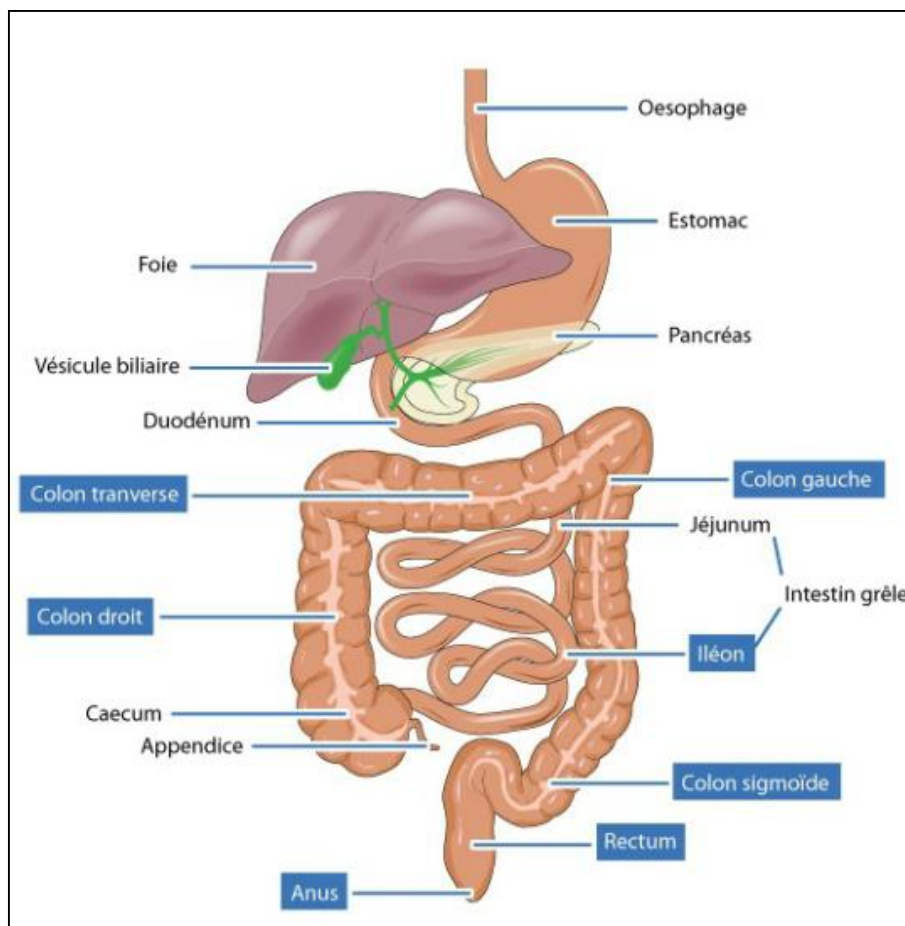
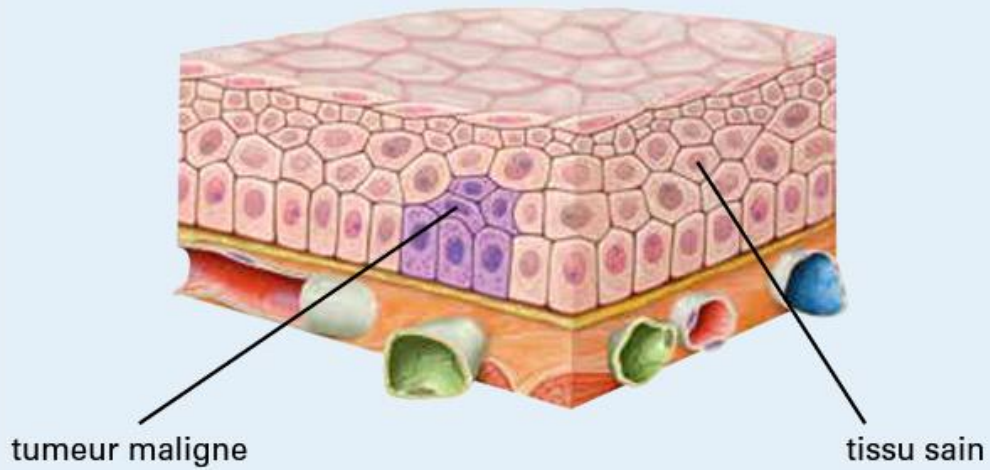


Figure 01 : L'anatomie du colon (40).

La tumeur commence à infiltrer le tissu sain.



Elle envahit le tissu voisin. Les cellules cancéreuses pénètrent dans les vaisseaux sanguins (en rouge/bleu) et lymphatiques (en vert) et parviennent ainsi dans d'autres organes, où elles forment des métastases.

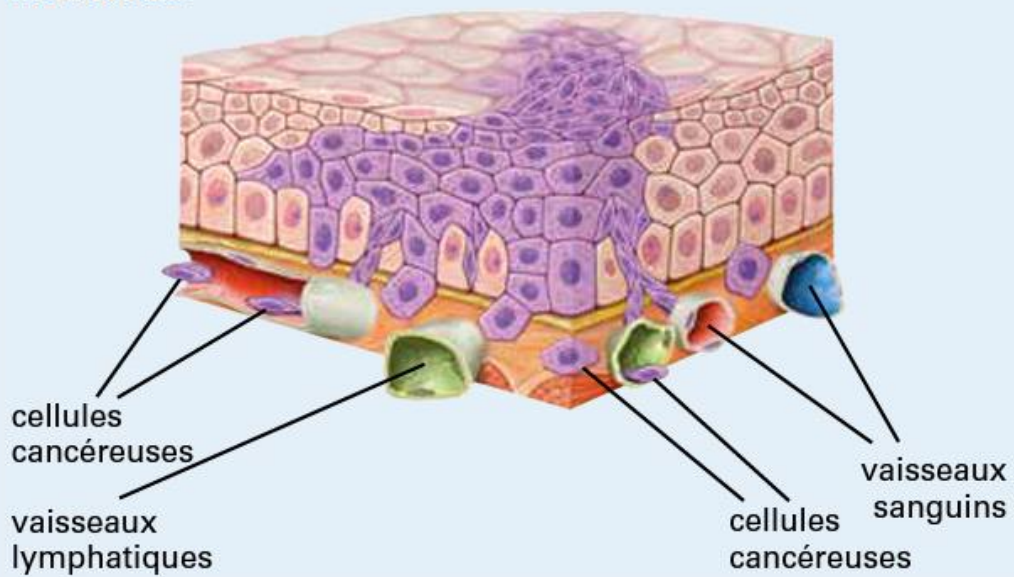


Figure 02 : Formation du carcinome (32).



Figure 03: séquence adénome-carcinome (47).

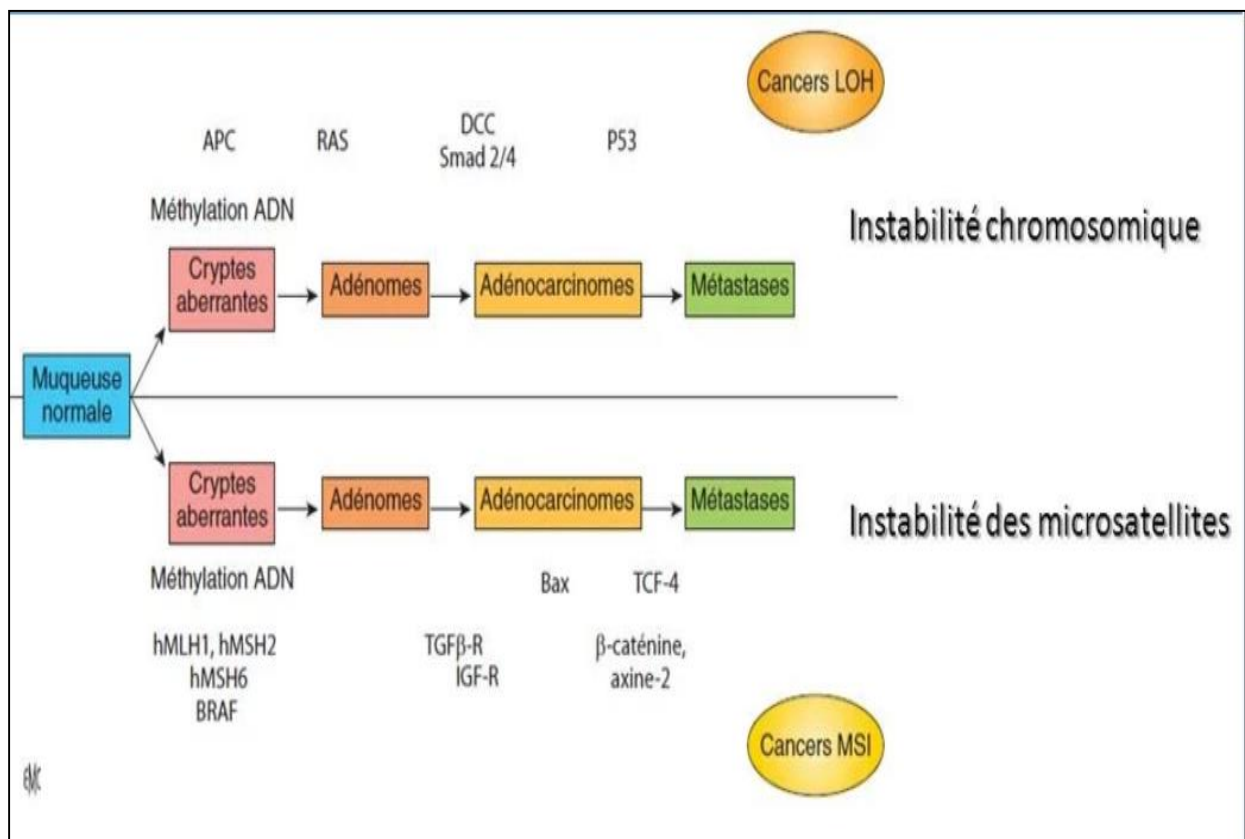


Figure 05 : Les mécanismes de la carcinogénèse colorectale (47).

## Glandes salivaires

Glandes salivaires mineures présentes partout dans la bouche

Glande sublinguale

Glande sous-mandibulaire

Glande parotide



Figure 05: Les glandes salivaires (41).



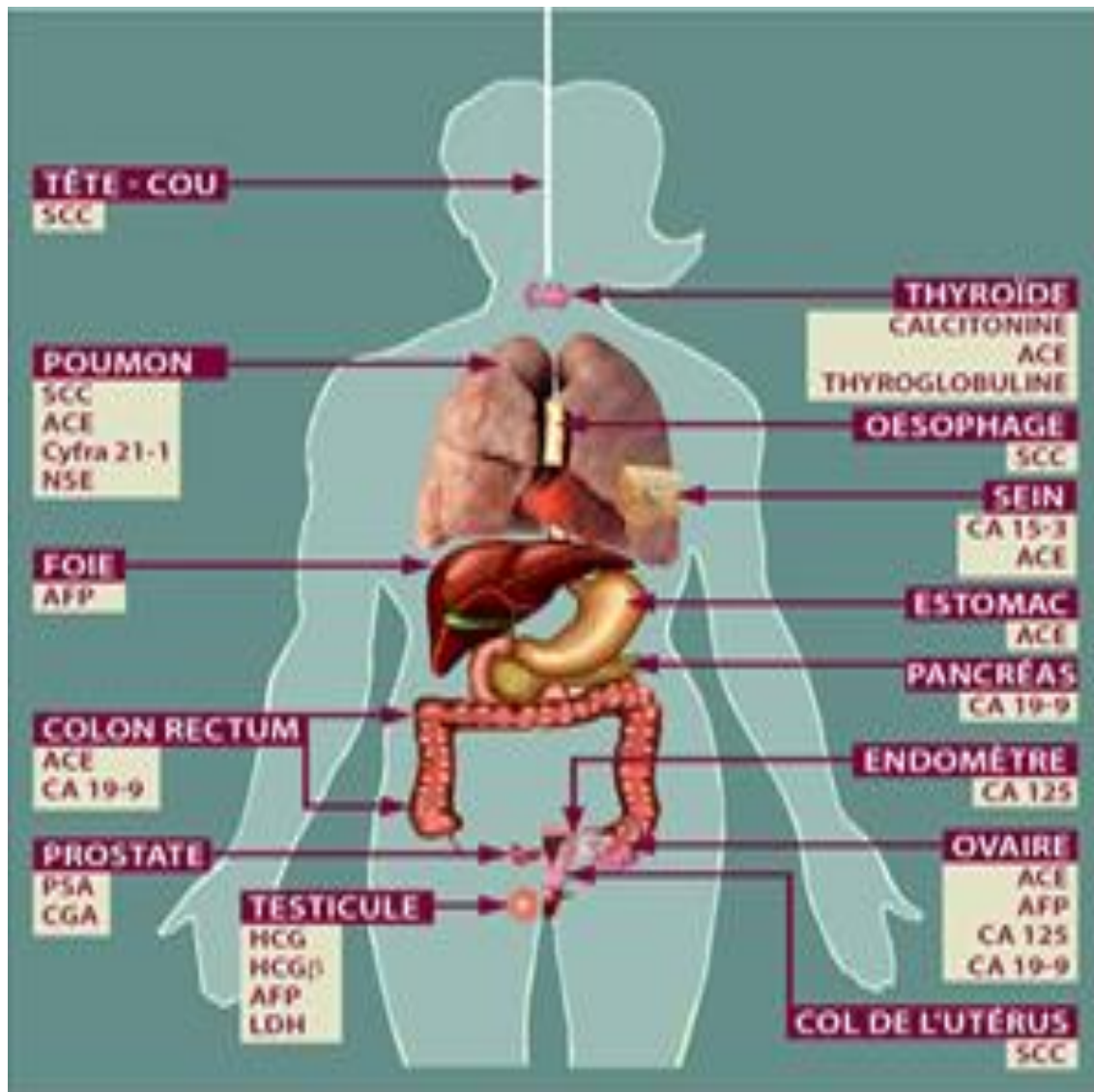


Figure 06 : Les principaux marqueurs tumoraux et les organes qui les produisent (42).

## 1. Matériel biologique

### 1.1. Recrutement des patients

Notre étude a porté sur 14 patients ayant un cancer colorectal provenant du service d'Oncologie Médicale de l'hôpital militaire régional universitaire de Constantine (HMRUC/5°RM). Les patients recrutés sont âgés entre 32 et 76 ans dont la pathologie est au stade initial ou avancé. Cette population a été comparée à un sujet sain, sans pathologie connues et possédant une bonne hygiène buccale.

### 1.2. Recueil de la salive

Pour le recueil de la salive nous avons adopté la méthode décrite par HIRTZ et al(2005). La salive totale est prélevée le matin, 2 heures après le petit déjeuner (environ 10 heures du matin) après que le patient se soit brossé les dents avec une brosse à dent dépourvue de dentifrice. Afin de favoriser la salivation, le patient doit boire un verre d'eau 15 minutes avant le prélèvement, et mâcher un petit bout de para film (environ 3 cm<sup>2</sup>), pendant quelques minutes. Trois ml de salive totale sont ainsi prélevés dans des tubes stériles. Les échantillons salivaires sont ensuite centrifugés à 10000 t/mn pendant 15 minutes afin de supprimer les mucines et les débris cellulaires et alimentaires encore présents dans la salive. Une fois prélevé, le surnageant est immédiatement congelé (-20°C).

## 2. Méthodes

### 2.1. Extraction des protéines salivaires dans des conditions dénaturantes et réductrices

L'extraction des protéines a été réalisée à partir de la salive des patients malades et un sujet sain obtenue après centrifugation de la salive totale.

100µl de salive des patients malades et de sujet sain sont mélangés avec 75µl de solution d'extraction contenant 35 % (v/v) de glycérol, 22 % (v/v) de Tris/HCl 1M pH 6.8, 43 % (v/v) d'eau distillée, 7% (p/v) de SDS et quelques grains de bleu de bromophénol. 2.5% (v/v) de β-mercaptoethanol sont rajoutés au mélange pour réduire les protéines salivaires.

Après agitation pendant 1 heure à température ambiante, les mélanges sont incubés à 65°C pendant 30 minutes puis centrifugés à 10000 t/min pendant 2 minutes. Les surnageants contenant les protéines salivaires dissociées et réduites sont récupérés.



## 2.2. Électrophorèse monodimensionnelle en gel de polyacrylamide

Aux différentes étapes d'extraction, la composition protéique est caractérisée par migration électrophorétique en gel de polyacrylamide de 1,5 mm d'épaisseur en conditions dénaturantes (présence de SDS), avec un système vertical. L'électrophorèse est réalisée suivant la méthode de LAEMMLI (1971) modifiée par SINGH (1991). Le gel de séparation contient 12,56% de polyacrylamide et le gel d'alignement 2,88%. Les marqueurs de masse moléculaire utilisés couvrent une gamme variant de 10 KDa à 250 KDa. Les échantillons (la salive) sont déposés à raison de 25 µl par puits. La migration est effectuée à 40 mA par gel dans un tampon Tris 25 mM pH 8,3 contenant 1,4 % (p/v) de glycine et 0,1% (p/v) de SDS. Une fois la migration électrophorétique achevée, le gel est révélé au moyen d'une coloration au Bleu de Coomassie à 12% (p/v) de TCA et 5 % (v/v) de solution mère de Bleu de Coomassie R250 à 1 % dans l'éthanol. Les gels sont colorés toute la nuit avec la solution de coloration. Ils sont enfin décolorés dans de l'eau de robinet.

## 2.3. Lecture des électrophorègrammes

La lecture des diagrammes consiste à relever la mobilité de chacune des bandes présentes en mesurant la distance parcourue par chaque bande dans le gel de séparation et de déterminer le poids moléculaire de chaque protéine, un marqueur de taille a été utilisé.

## 2.4. Analyse statistique

Le traitement des données d'électrophorèse a fait appel à des méthodes statistiques, les fréquences et les indices de similarités ont été effectués à l'aide d'Excel 2007. L'établissement des dendrogrammes est réalisé à l'aide du logiciel statistica version 6.0.

# Résultats et discussion

## I. Données épidémiologiques

Notre étude rétrospective comprend 37 patients dont 16 femmes et 21 hommes, répartis selon plusieurs critères.

### 1. Le sexe

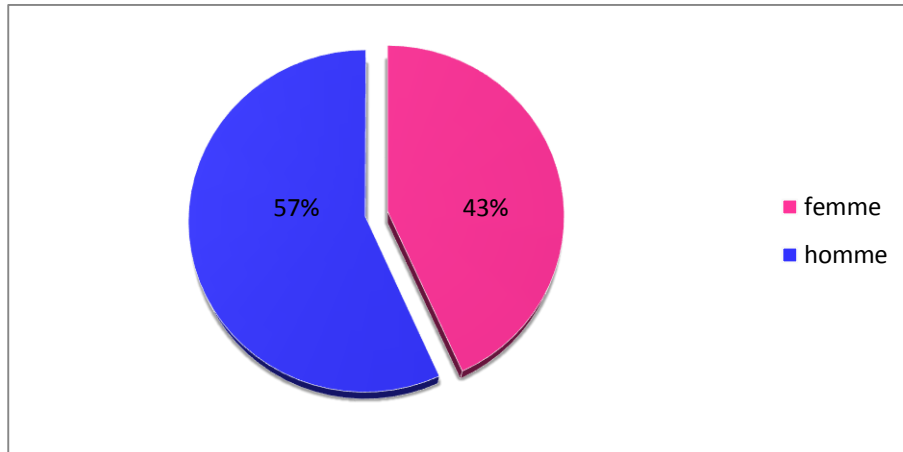


Figure 08 : La répartition du cancer du colon selon le sexe du malade.

Nous observons que les hommes et les femmes représentent 57% et 43 % respectivement (figure 08), notant une prédominance d'atteinte du cancer du côlon chez les hommes que chez les femmes avec un sexe ratio de 1,31. Ce résultat peut être expliqué par la consommation d'alcool et de tabac chez les hommes qui multiplie le risque par deux ou trois.

### 2. L'âge

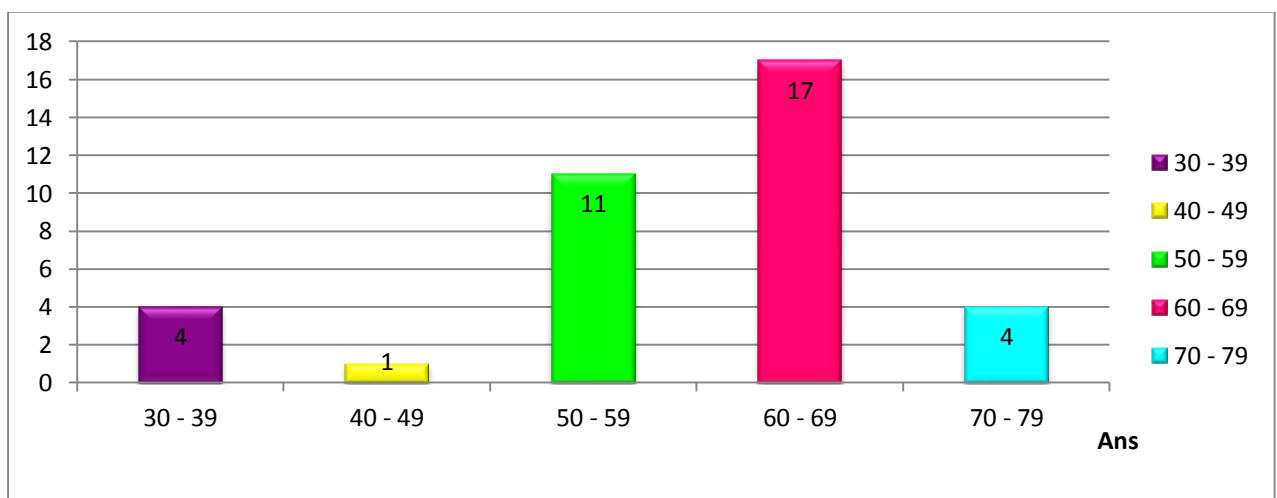


Figure 09: Répartition des patients selon la tranche d'âge.

## Résultats et discussion

L'âge moyen des patients est 58 ans avec des extrêmes allant de 30 ans à 78 ans pour les deux sexes (figure 09). La répartition des patients par tranche d'âge, indique une prédominance de cette pathologie dans la tranche d'âge [60-69] ans.

L'augmentation de l'incidence du cancer colique pourrait être liée au vieillissement de la population.

### 3. La répartition géographique

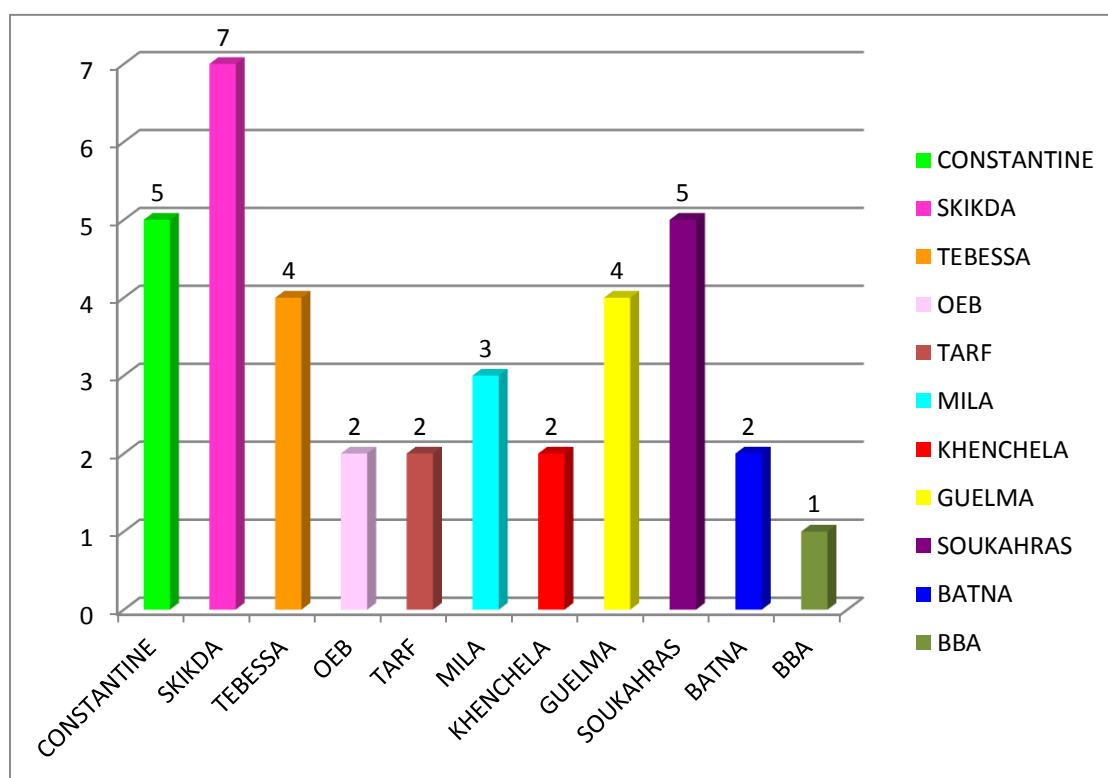


Figure 10: Répartition des patients selon les wilayas.

Suivant cette étude, nous avons remarqué que les wilayas les plus touchées par le cancer de colon sont : Skikda, Souk Ahras et Constantine (figure 10).

Il est à préciser aussi que la cinquième région militaire comprend que les wilayas de l'Est: Constantine, Annaba, Jijel, Skikda, Batna, Guelma, Sétif, Tébessa, Béjaïa, Oum El Bouaghi, Bordj Bou Arreridj, Tarf, Khenchela, Mila, Souk Ahras.

# Résultats et discussion

## 4. Les circonstances de découverts

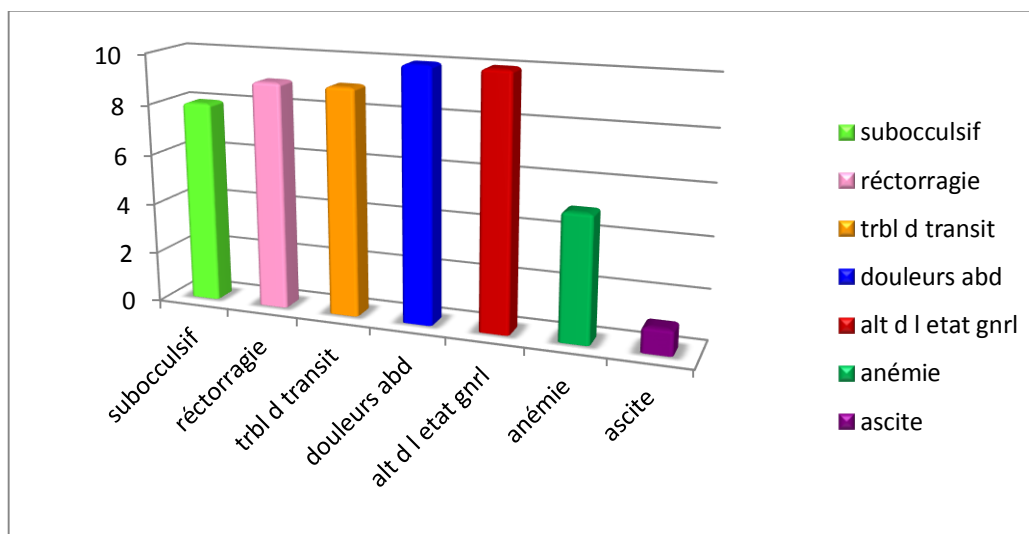


Figure 11 : Répartition des patients selon les circonstances de découverte.

D'après la figure 11, nous constatons que l'altération de l'état général et les douleurs abdominales représentent le motif de consultation le plus fréquent dans notre série des patients atteints du cancer du colon.

## 5. Le siège de la tumeur

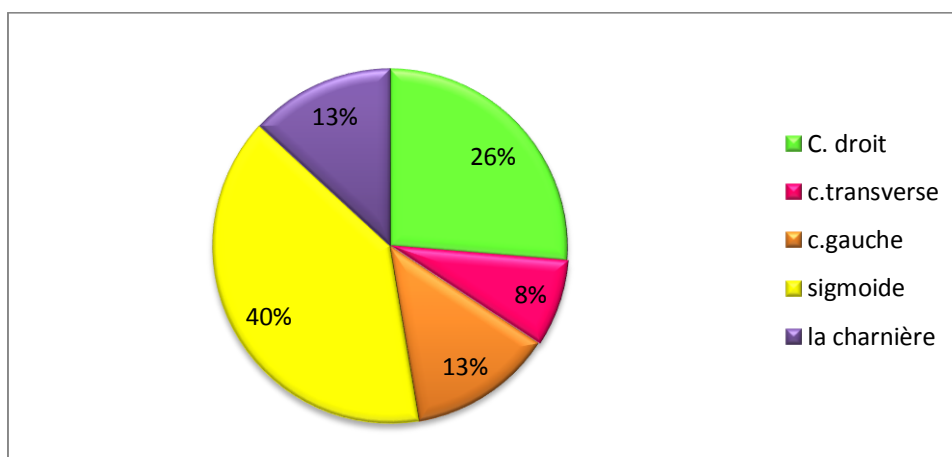
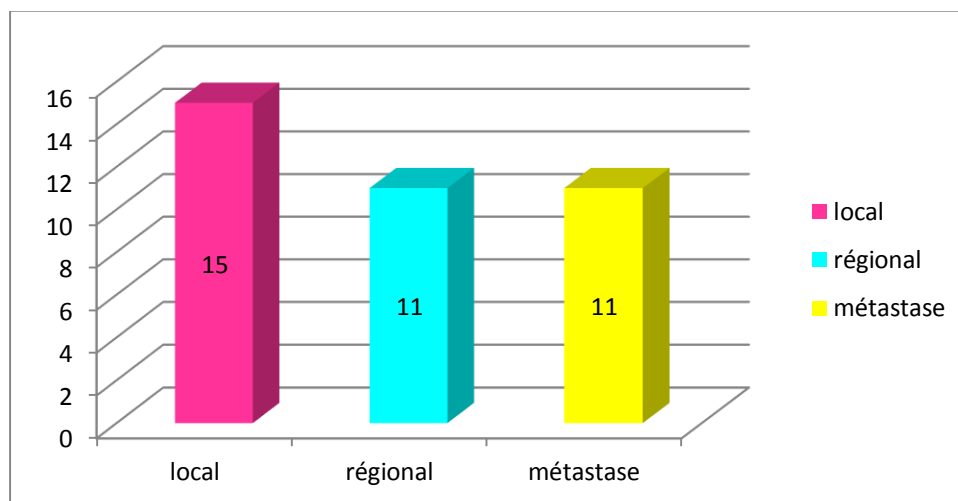


Figure 12: Répartition des patients selon la localisation de la tumeur.

Concernant la localisation de la tumeur (figure 12), nos résultats montrent que le colon sigmoïde est le site tumoral le plus fréquent dans 40% des cas, suivi par le colon droit (26 %), le colon gauche et la charnière recto sigmoïdienne avec 13% chacun et enfin le colon transverse (8%).

# Résultats et discussion

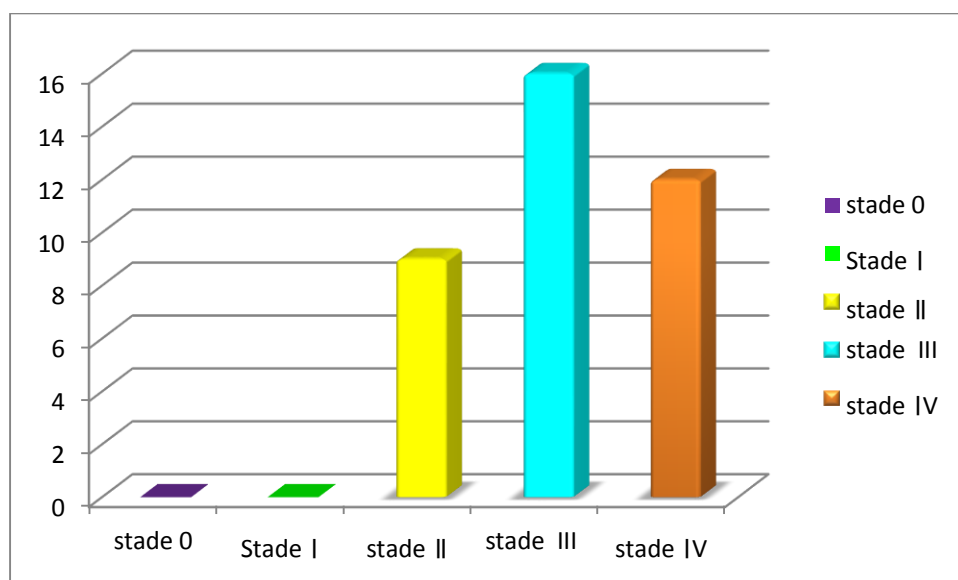
## 6. L'extension



**Figure 13: Répartition des patients selon l'extension de la tumeur.**

Les résultats représentés dans la figure 13 montrent que chez la plupart des cas (40 %), la tumeur est limitée au colon. Par contre, 30 % des cas présentent un envahissement locorégional et des métastases.

## 7. Le stade



**Figure 14 : Répartition des patients selon le stade anatomopathologique TNM.**

## Résultats et discussion

Selon la classification anatomopathologique (pTNM), les résultats montrent une prédominance du stade III par rapport aux stades IV et II (figure 14). Nous notons qu'aucun de nos patients étudiés n'appartient aux stades 0 et I.

Ces résultats pourraient être dus à plusieurs raisons :

- Les patients arrivent au service de santé à un stade tardif à défaut de la négligence, le manque de motivation, la peur du résultat, une information insuffisante et le manque de temps.
- Les malades qui ne font pas une surveillance régulière, ceci augmente le risque des récidivés.
- Manque de compagnie médicale et sociale de dépistage et de prévention.

### 8. Les pathologies associées

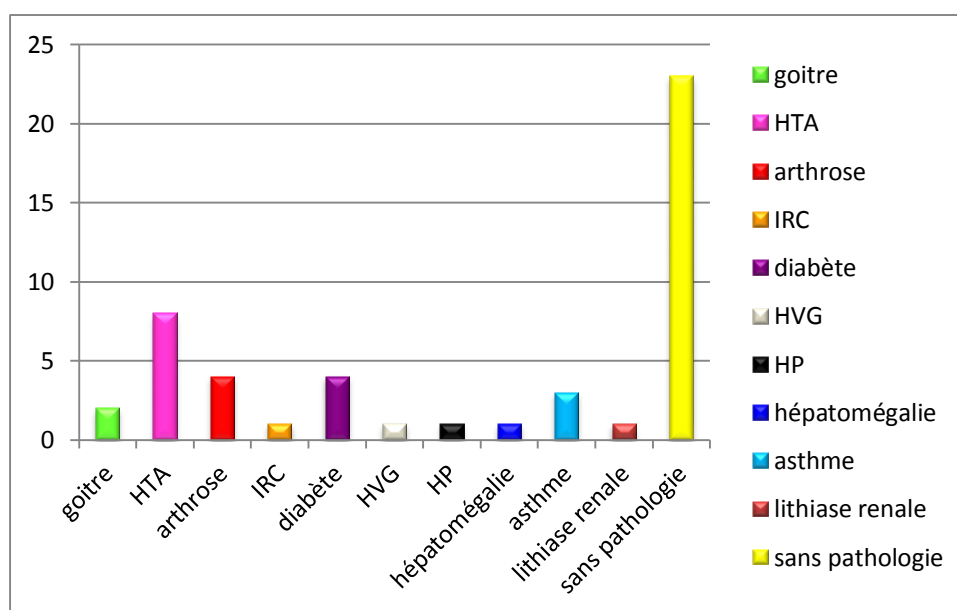


Figure 15: Répartition des patients selon les pathologies associées.

D'après les résultats représentés dans la figure 15, nous avons noté que 47 % des patients sont sans pathologies associées, 17 % sont hypertendus et 8 % sont des diabétiques et aussi souffrent d'arthrose. Ces pathologies associées sont en fait des maladies qui augmentent avec l'âge, mais elles sont surtout liées au mode de vie et plus particulièrement au surpoids et à la sédentarité.

## II. Fractionnement des protéines salivaires et recherche de biomarqueurs

### 1. Analyse des profils électrophorétiques

Pour le fractionnement des protéines salivaires, la technique d'électrophorèse utilisée est celle décrite par (24) et modifiée par (34). C'est une technique qui permet d'obtenir l'ensemble des protéines. La lecture des diagrammes nous permet de révéler la mobilité de chacune de ces bandes protéiques, en mesurant la distance parcourue par chaque protéine dans le gel de séparation.

L'analyse des profils électrophorétiques, du protéome salivaire de témoin et celui des patients, révèle des variations dans la composition protéique.

Cette analyse permet de distinguer 18 bandes protéiques avec des mobilités variantes entre 35 et 118 mm.

D'abord, la comparaison entre les profils électrophorétiques de témoin et des sujets malades montre que certaines bandes protéiques présentent des variations quantitatives et/ou qualitatives.

A titre d'exemple la bande protéique B10 est fortement concentrée chez le patient 9, elle est moins concentrée chez les patients 8, 13 et le témoin ainsi elle est faiblement concentrée chez les patients 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 11, 12, 14 mais elle est absente chez le patient 1.

Cette bande varie quantitativement et qualitativement, ce qui lui confère la propriété de biomarqueur quantitatif et qualitatif à la fois.

Nous constatons des différences entre le sujet sain et les sujets malades dans la composition protéique ou la bande B3 est présente chez la majorité des malades 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 mais absente chez le témoin et chez deux patients 13 et 14.

Cette dernière peut être considérée comme étant un biomarqueur qualitatif.

Nous avons observé également des différences au niveau des bandes B4 et B11 qui sont omniprésentes mais leur intensité varie d'un échantillon à un autre. A titre d'exemple:

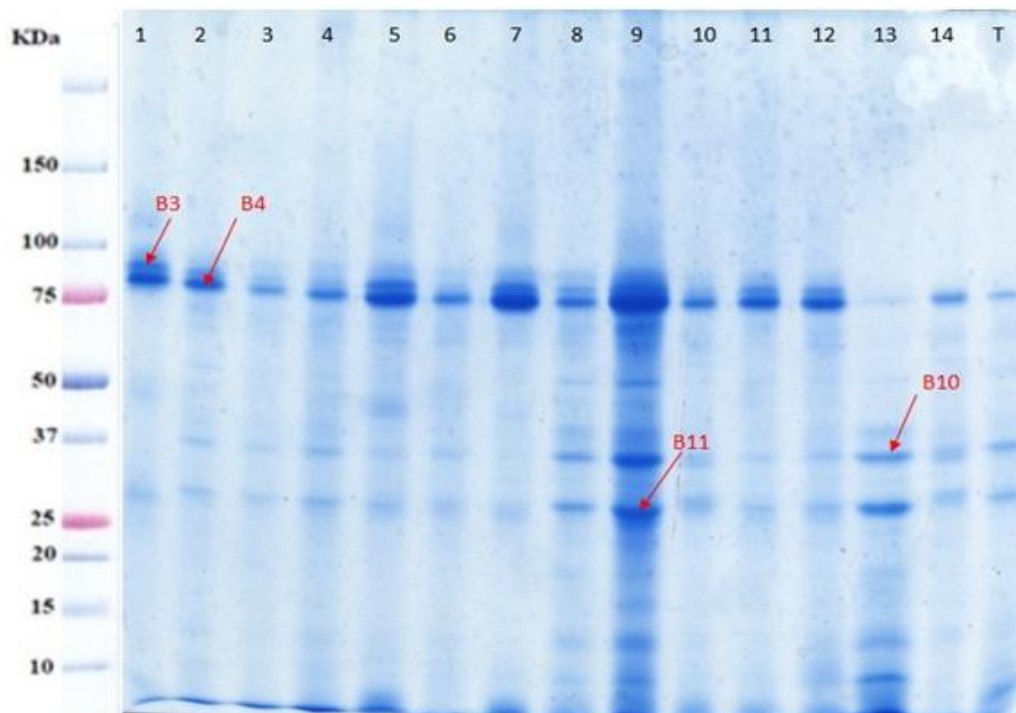
L'intensité de la bande B4 est forte chez les patients 5, 7 et 9 tandis que chez les patients : 1, 2, 11 et 12 l'intensité est moyenne, par contre chez les patients 3, 4, 6, 8, 10, 14 et 15 il y a une faible intensité. Elle est à l'état de trace chez le patient 13.

## Résultats et discussion

Quant à la bande B11, elle est fortement présente chez les patients 9 et 13 et moyennement présente chez le patient 8, cependant son intensité est faible chez les patientes 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 11, 12, 14 et 15 (figure 16).

Donc les bandes B4 et B11 varient quantitativement ce qui leur confère la propriété de biomarqueurs quantitatifs. Ainsi, ces fluctuations observées entre les malades sont probablement dues à des facteurs tels que : les antécédents familiaux, l'obésité, des pathologies associées et le stade du cancer.

En outre, il faut signaler la présence d'un cas particulier, celui de la patiente 9 qui présente un profil électrophorétique complètement différent (figure 16). En effet, ce profil est marqué par la présence des bandes protéiques B2, B3, B4, B5, B6, B7, B8, B10, B11, B12, B13, B14, B15, B16, B17 et B18 qu'on ne retrouve pas dans les autres échantillons. Sur le plan clinique, cette patiente diabétique et hypertendue, elle a mené une thyroïdectomie totale parce qu'elle souffrait d'un goitre multinodulaire.



**Figure 16** : Profils électrophorétiques des protéines salivaires dans les conditions dénaturantes et réductrices révélées par SDS/PAGE. T : témoin. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 : patients malades.



# Résultats et discussion

## 2. Etablissement des diagrammes types

L'analyse des diagrammes électrophorétiques montre que ces derniers présentent de nettes différences en composition protéique à la fois qualitatives et quantitatives pour les différents patients.

Un tel ensemble de résultats peut être alors exploité en estimant le degré de différence (ou d'analogie) entre les diagrammes des individus considérés deux à deux.

Cette représentation nous permet donc de conserver une image réelle des gels pouvant servir comme base de données pour l'identification.

Nous rapportons dans le tableau ci-dessous le diagramme type des protéines salivaires des patients malades et de sujet sain dans des conditions dénaturantes et réductrices révélées par SDS-PAGE (1: Présence de la bande, 0: Absence de la bande, T : témoin).

**Tableau 03** : Matrice binaire des protéines salivaires dans des conditions dénaturantes et réductrices révélées par SDS-PAGE.

bandes	mobilité	Les échantillons														T	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
1	35	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	43	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
3	46	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
4	48	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
5	52	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0
6	56	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0
7	63	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1	0	1	0
8	67	0	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
9	71	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0
10	75	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
11	84	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
12	86	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
13	91	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
14	95	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0
15	100	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
16	107	0	1	0	1	0	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0
17	113	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0
18	118	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

## Résultats et discussion

### 3. Etude de la variabilité des protéines salivaires dénaturées et réduites

L'analyse électrophorétique des 15 échantillons a permis de distinguer 18 bandes de mobilités différentes dans les conditions dénaturantes et réductrices (tableau 04).

**Tableau 04** : Variabilité des protéines salivaires.

Bandes	Mobilité (mm)	Echantillons (E)	Fréquence (%)
1	35	E1	6,66
2	43	E1, E2, E3, E4, E5, E6, E7, E8, E9, E10, E11, E12	80
3	46	E1, E2, E3, E4, E5, E6, E7, E8, E9, E10, E11, E12	80
4	49	E1, E2, E3, E4, E5, E6, E7, E8, E9, E10, E11, E12, E13, E14, T	100
5	52	E2, E3, E4, E5, E6, E7, E8, E9, E10, E11, E12, E14	80
6	56	E2, E3, E4, E5, E6, E7, E8, E9, E10, E11, E12, E14	80
7	63	E2, E4, E8, E9, E11, E12, E13, T	53,33
8	67	E2, E4, E5, E8, E9	33,33
9	71	E2, E4, E6, E7, E12	33,33
10	75	E2, E3, E4, E5, E6, E7, E8, E9, E10, E11, E12, E13, E14, T	93,33
11	84	E1, E2, E3, E4, E5, E6, E7, E8, E9, E10, E11, E12, E13 E14, T	100
12	86	E9	6,66
13	91	E9, E13	13,33
14	95	E8, E9, E13	20
15	100	E9	6,66
16	107	E2, E4, E6, E8, E9, E12, E13	46,66
17	113	E2, E4, E8, E9, E12, E13	40
18	118	E1, E2, E3, E4, E5, E6, E7, E8, E9, E10, E11, E12, E13, E14, T	100

## Résultats et discussion

D'après le tableau ci dessus, nous constatons une grande variabilité des protéines salivaires. L'observation de ces dernières dans l'ordre décroissant des fréquences montre que les bandes 4,11 et 18 de mobilité 49, 84 et 118 mm, respectivement ont une fréquence maximale de 100 %. Elles constituent les protéines salivaires dominantes suivi par la bande 10 avec une fréquence importante de 93,33 % et de mobilité 75mm et est présente chez 14 échantillons. Ensuite viennent les bandes 2, 3, 5, 6 de mobilité 43, 46, 52, 56 mm respectivement avec une fréquence similaire de 80 %. Concernant les bandes 7, 8 et 9, 13, 14, 16, 17 qui ont des mobilités différentes entre 63 et 113 mm et des fréquences moyennes de 53.33, 33.33, 13.33, 20, 46.66, 40 % respectivement. Enfin, nous retrouvons les bandes protéiques 1, 12 et 15 dont les mobilités sont respectivement 35, 86 et 100 mm avec une fréquence minime de 6,66%.

### 4. Classification hiérarchique des protéines salivaires

Les relations entre les différents patients sont établies à partir de leurs ressemblances génétiques exprimées par les protéines salivaires. Pour cela, nous avons fait appel à une représentation sous forme d'arbre hiérarchique ou dendrogramme. Le dendrogramme est réalisé à partir des comparaisons de la composition protéique des différents échantillons.

Les regroupements effectués à chaque pas de l'algorithme de classification hiérarchique rassemble des éléments qui sont plus ou moins proche entre eux, plus nous avançons dans le regroupement plus nous nous rapprochons du sommet de l'arbre. Cette représentation matérialise bien le fait que les classes formées au cours du processus de classification constituent une hiérarchie indiquée de classe partiellement emboîtées les unes dans les autres.

#### 4.1. Dendrogramme des protéines salivaires dénaturées et réduites

Le dendrogramme obtenu à partir des distances d'agrégations révèle de nombreux groupes permettant d'estimer la ressemblance dans la composition protéique des échantillons (figure 17). A la distance d'agrégation 2, l'ensemble des échantillons est divisé en quatre groupes. Le premier groupe contient uniquement le patient 13, le second groupe contient uniquement le patient 9, et le quatrième groupe contient seulement le patient 1.

## Résultats et discussion

Donc chacun de ces patients constitue un groupe à part. Le patient 13 est un homme âgé de 62 ans, diabétique, hypertendue et présente aussi une nécrose hépatique. La patiente 9 présente un profil protéique typique différent de toute la population d'étude, il s'agit d'une femme obèse âgée de 69ans, diabétique, hypertendue, elle est souvent atteinte de déshydratation, et elle a subi une thyroïdectomie totale parce qu'elle souffrait d'un goitre multinodulaire. Le patient 1 est un homme âgé de 61 ans, diagnostiqué depuis 5 ans, hypertendue et cardiopathe.

Le troisième groupe est divisé à son tour en trois sous-groupes à la distance d'agrégation 1,75. Le premier sous groupe incluant le témoin 15 qui constitue un groupe à part, le deuxième sous groupe comprend les échantillons 14, 11, 7, 6, 5, 10, 3 et le troisième sous groupe renferme le reste des échantillons (12, 8, 4, 2).

La valeur moyenne des distances d'agrégations est de 1 (figure 17), dans cet intervalle, le dendrogramme révèle un degré élevé de similitude de la composition en protéines salivaires de presque tous les échantillons.

Cliniquement, tous les patients ont subi une intervention chirurgicale et une chimiothérapie. En outre, les patients recrutés appartiennent à la tranche d'âge (30 - 78 ans), avec des pathologies associées (diabète pour les patients 3, 8, 9, 13 ; HTA pour les patients 1, 3, 4, 7, 9, 11, 13 ; cardiopathie pour les patients 1 et 6) et les patients 2, 5, 6, 10, 12, 14 sont sans pathologie associée.

Nous devons signaler deux cas particuliers, celui des patients 2 et 4, 3 et 10 qui présentent des profils entièrement similaires malgré la différence d'âge (72 et 62, 62 et 42 ans respectivement), de sexe (homme et femme, femme et homme respectivement) et aussi au niveau des pathologies associées.

L'état physiologique et pathologique des patients et les résultats des analyses en cluster de la composition en protéines salivaires (figure 17) ne sont pas corrélés malgré les différences qui existent entre les patients recrutés entre eux d'une part et les différences qui existent entre les patients et le témoin d'autre part. C'est-à-dire la classification des patients en fonction des profils protéiques n'a pas suivi l'état pathologique et physiologique des patients.



# Résultats et discussion

## 5.1. Indice de similarité des protéines salivaires dénaturées et réduites

Les indices de similarité ont été calculés pour 15 échantillons ayant un cancer du colon. Ils sont représentés sous forme d'une matrice dans le tableau 05. Cette matrice fournit les valeurs d'IRS trouvées entre les diagrammes protéiques comparés deux à deux. Il en ressort que l'indice de similarité se situe entre 25 % et 100 %.

**Tableau 05 :** Indices de similarité des protéines salivaires dénaturées et réduites révélées par SDS/PAGE.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	T	
100%	35.7%	55.5%	38.4%	50%	50%	50%	33.3%	29.4%	55.5%	50%	38.4%	25%	33.3%	37.5%	1
	100%	61.5%	100%	69.2%	69.2%	69.2%	92.8%	70.5%	61.5%	69.2%	92.3%	46.6%	46.1%	38.4%	2
		100%	61.5%	88.8%	88.8%	61.5%	57.1%	50%	100%	88.8%	66.6%	30.7%	75%	44.4%	3
			100%	69.2%	69.2%	69.2%	92.8%	70.5%	61.5%	69.2%	92.3%	46.6%	46.1%	38.4%	4
				100%	80%	80%	64.2%	56.2%	88.8%	80%	61.5%	28.5%	66.6%	40%	5
					100%	80%	64.2%	56.2%	88.8%	80%	75%	38.4%	66.6%	40%	6
						100%	64.2%	47%	88.8%	80%	75%	28.5%	66.6%	40%	7
							100%	76.4%	57.1%	64.2%	85.7%	53.3%	42.8%	35.7%	8
								100%	50%	56.2%	64.7%	56.2%	37.5%	31.2%	9
									100%	88.8%	66.6%	30.7%	75%	44.4%	10
										100%	75%	38.4%	66.6%	55.5%	11
											100%	50%	50%	41.6%	12
												100%	36.3%	55.5%	13
													100%	57.1%	14
														100%	T

D'après le tableau ci dessus, nous constatons d'abord des valeurs d'IRS moyennes qui varient entre les différents patients dans l'intervalle de 25 % à 50 %. A titre d'exemple:

- IRS à 25 % entre les patients : 1 et 13
- IRS à 35,7% entre les patients : 1 et 2, 8 et T
- IRS à 40 % entre les patients : 5 et T, 6 et T, 7 et T

## Résultats et discussion

Ces différents patients présentent des diagrammes, avec de dissemblances plus que de ressemblances. Ce qui implique une faible similarité dans la composition protéique.

Ensuite, nous distinguons des valeurs d'IRS importantes qui fluctuent entre 50% et 95%. A titre d'exemple:

- IRS à 50 % entre les patients :1 et 11,1et 7, 1 et 6, 1 et 5, 3 et 9,9 et 10, 12 et 14, 12 et 13.
- IRS à 64,7 % entre les patients : 9 et 12.
- IRS à 75 % entre les patients : 3 et 14, 6 et 12, 7 et12, 10 et14, 11 et12.
- IRS à 85,7% entre les patients 8 et 12.
- IRS à 92,8 entre les patients 2 et 8.

Ainsi, les diagrammes de ces différents patients présentent une légère dissemblance, ce qui implique une forte similarité dans la composition protéique.

Enfin, des valeurs maximales d'IRS égales à 100 % sont observées entre les patients 2 et 4, 3 et 10. Ce qui signifie que ces différents patients présentent des diagrammes identiques avec la même composition protéique.

## Conclusion et perspectives

Ce travail de recherche visait à explorer le protéome salivaire des patients atteints de cancer du colon, le comparer avec celui du sujet sain par application de technique d'électrophorèse monodimensionnelle SDS-PAGE, et à rechercher les biomarqueurs de cancer de colon dans la salive.

Une étude rétrospective à été réalisée dans le service d'oncologie au niveau de l'HMRUC, cette étude inclut 37 dossiers des patients atteints de cancer du colon dans l'année de 2017. Les résultats de notre étude, ont montré :

- Une prédominance masculine soit 57% avec un sexe ratio de 1, 31 ;
- Une fréquence plus élevée de ce cancer dans la tranche d'âge 60 -69 ;
- Concernant le siège de la tumeur, une fréquence plus élevée au niveau du colon sigmoïde par rapport aux autres parties du colon ;
- Une prédominance de stade III par rapport aux autres stades ;
- L'altération de l'état général et les douleurs abdominales restent le motif de consultation le plus fréquent.

La méthode d'électrophorèse utilisée pour la séparation des protéines est celle de Laemeli (1970) modifiée par Singh (1991). Le choix de cette méthode était dans le but d'avoir une meilleure expression des protéines salivaires humaines. Pour cela, la technique d'électrophorèse sur gel de polyacrylamide a été réalisée dans les conditions dénaturantes et réductrices.

Cette méthode nous a fourni des diagrammes satisfaisant et nous a permis de:

- Comparer les profils électrophorétiques des sujets malades avec celui du témoin et de remarquer que chacun des échantillons possède un profil protéique qui lui est propre et qui peut rassembler ou pas à celui d'un autre échantillon ou celui du témoin par l'absence ou la présence d'une ou plusieurs protéines,
- Révéler les mobilités de chacune des bandes protéiques,
- Dénombrer des bandes protéiques communes entre les différents échantillons,
- Distinguer les différences dans la composition protéique des patients malades et du témoin,



## Conclusion et perspectives

- Et enfin identifier quelques protéines susceptibles d'être des biomarqueurs salivaires de la maladie.

En outre, l'analyse statistique effectuée en calculant les fréquences, l'indice de similarité, la classification hiérarchique des patients en se basant sur leurs diagrammes types a permis d'apprécier numériquement la diversité des protéines salivaires dans les conditions dénaturantes et réductrices, mais cette analyse statistique n'était pas corrélée avec l'état physiopathologique des patients.

L'analyse électrophorétique des protéines salivaires renferme 18 bandes protéiques de mobilités différentes. Une nette différence est observée entre le profil de témoin et des patients atteints de cancer du colon. Pour les protéines salivaires, 4 bandes protéiques (B10, B3, B4 et B11) de masses moléculaires approximatives de (37, 85, 80 et 30 KDa respectivement) communes entre les différents échantillons, sont les plus variables qualitativement et quantitativement et sont soit absentes ou présentes d'intensité égale ou différente par rapport à celles obtenues sur les profils de témoin et/ou des malades.

L'application des techniques d'électrophorèse monodimensionnelle nous a fourni des résultats satisfaisants mais elle reste insuffisante pour le diagnostic et la surveillance des cancers du colon.

En perspectives, nous envisageons à améliorer l'étude sur les protéines salivaires par l'utilisation de la techniques d'électrophorèse bidimensionnelle afin d'identifier et d'accroître encore nos possibilités de trouver un ou plusieurs protéines susceptibles d'être considérées comme des biomarqueurs de cancer du colon et de l'identifier en second lieu par spectrométrie de masse.

## Références bibliographiques

**(01) ALVAREZ, JA. MARIN, J. JOVER, JM. FERNANDEZ, R. FRADEJAS, J. MORENO, M.** Sensitivity of monoclonal antibodies to carcinoembryonic antigen, tissue polypeptide antigen, alpha-fetoprotein, carbohydrate antigen 50, and carbohydrate antigen 19-9 in the diagnosis of colorectal adenocarcinoma. *Dis Colon Rectum* 1995;38:535–42.

**(02) BESSON, D.** Étude du protéome de tumeurs colorectales [en ligne], Thèse de doctorat en Biologie Cellulaire. France : École Doctorale Biologie Santé Nantes-Angers, 2013, 4-30. Format PDF. disponible sur : < <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00951752>> (consulté le 12/2/2018)

**(03) BLUMENTHAL, RD. LEON, E. HANSEN, HJ. GOLDENBERG, DM.** Expression patterns of CEACAM5 and CEACAM6 in primary and metastatic cancers. *BMC Cancer* 2007, 7:2.

**(04) BOUREGBA, S. BOULENOUAR, FZ.** Cancer du colon [en ligne]. Thèse de doctorat en médecine. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaid –Tlemcen, 2015, 9 . Format PDF. Disponible sur : < <http://dspace.univ-tlemcen.dz/handle/112/8305>> (Consulté le 21/2/2018)

**(05) CHIALI, B.** Physiologie des glandes salivaires. In : SALIVATION EMC ORL Par B Vidailhet. [En ligne]. 2004, format PDF

**(06) COSTANZO, L.** Physiologie. USA : Elie S, Séroussi, 2001, 209.

**(07) DEVALS, A.** Le conseil du pharmacien d'officine dans le domaine bucco dentaire. Thèse pour le diplôme d'état de Docteur en Pharmacie. Toulouse: Université Paul Sabatier, 2003.

**(08) DEVOIZE, L. DALLEL, R.** Salivation. MC (Elsevier Masson SAS, Paris), Médecine buccale [en ligne]. 2010, 28-150, 2-6. Disponible sur : <[https://www.researchgate.net/publication/230752238\\_Salivation](https://www.researchgate.net/publication/230752238_Salivation)> (Consulté le 12/04/2018)

**(09) EL-MURR, N.** Étude de l'Impact des MicroARNs sur la Carcinogénèse des Cancers Colorectaux Instables sur les Séquences Répétées Microsatellites du Génome [en ligne]. Thèse de doctorat de Génétique et Epigénétique des Cancers. Paris : Université Pierre et Marie Curie, 2014, 54-56. Format PDF. Disponible sur : < <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00990895/document>> (Consulté le 10/05/2018)

## Références bibliographiques

- (10) **FLETCHER, RH.** Carcinoembryonic antigen. Ann Intern Med 1986;104:66–73.
- (11) **GAILLARD, O.** Fiche immun analytique du CA19-9 Service de Biochimie. 2002
- (12) **GAUCHEZ, A. BRAND, F.** Place de la biologie dans la prise en charge du cancer colorectal (CCR). Département de Biologie Intégrée CHU A. Michallon–Grenoble : 2005.
- (13) **GEORGES, D.** Pathologie général et salive[en ligne]. Thèse de doctorat en chirurgie dentaire. Nancy : UNIVERSITE HENRI POINCARE - NANCY 1, 2012,50. Format PDF.
- (14) **GOLD, P. FREEDMAN, SO.** Specific carcinoembryonic antigens of the human digestive system. J Exp Med 1965;122:467–81.
- (15) **GRAMONT, A et al.** Le cancer colorectal en questions.la Fondation A.R.CA.D [en ligne], 3<sup>éd</sup>. Paris, 2015 ,13-18. Format PDF. Disponible sur : < [www.fondationarcad.org](http://www.fondationarcad.org)> (consulté le 19/2/2018)
- (16) **GUENNOUNI, N.**Cancer colorectal et utilité clinique des marqueurs biologiques[En ligne]. Thèse de doctorat en Pharmacie. RABAT : UNIVERSITE MOHAMMED V – SOUISSI, 2014,104-112. Format PDF.
- (17) **HAMMARSTRÖM, S.** The carcinoembryonic antigen (CEA) family: structures, suggested functions and expression in normal and malignant tissues. Semin Cancer Biol 1999;2:67–81.
- (18) **HELLING, TS.** Caution in interpretation of the tumor marker CA 19.9 in patients with obstructive jaundice: illustrative case reports. J Miss State Med Assoc 2013;54:96–9.
- (19) **HOERNI, B.** Cancérologie et hématologie. MASSON S.A. Paris : 2001,144.
- (20) **Institut National du Cancer, La Haute autorité de Santé.** GUIDE - AFFECTION LONGUE DURÉE. Tumeur maligne, affection maligne du tissu lymphatique ou hématopoïétique Cancer colorectal[en ligne].2008, 9. Format PDF .disponible sur :  
< [www.has-sante.fr](http://www.has-sante.fr) > et sur< [www.e-cancer.fr](http://www.e-cancer.fr) > (consulté le 19/3/2018)
- (21) **Institut National du Cancer, La Ligue nationale contre le cancer.** Les traitements du cancer du colon[en ligne].2010, 9-10. Format PDF .disponible sur :  
< <http://www.e-cancer.fr/Expertises-et-publications/Catalogue-des-publications/Les-traitements-du-cancer-du-colon> > (Consulté le 23/02/2018)

## Références bibliographiques

- (22) **KASPER, BRAUNWALD, FAUCI, HAUSER, LONGO, JAMESON.** Harrison principe de médecine interne. Flammarison, 16<sup>éd.</sup> paris, 2005, 527.
- (23) **KOPROWSKI, H. STEPLEWSKI, Z. MITCHELL, K. HERLYN, M. HERLYN, D. FUHRER, P.** Colorectal carcinoma antigens detected by hybridoma antibodies. Somatic Cell Genet 1979;6:957–71.
- (24) **LAEMMLI, U.K.** Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature, 1970, 227: 680-685.
- (25) **LAUNOY, G. SANCHO-GARNIER, H. MAY-LEVIN, F.** Les cancers du colon et du rectum. La Ligue nationale contre le cancer[en ligne]. France : 2009, 12. Format PDF. Disponible sur : < <https://www.ligue-cancer.net/shared/brochures/cancers-colon-rectum.pdf> > (Consulté le 21/04/2018)
- (26) **LINDMARK, G. BERGSTRÖM, R. PÅHLMAN, L. GLIMELIUS, B.** The association of preoperative serum tumour markers with Dukes' stage and survival in colorectal cancer. Br J Cancer 1995; 71:1090–4.
- (27) **MAHCENE, A. BOUDIAR, C.** Etude de quelques marqueurs tumoraux des cancers digestifs (pancréas, foie, voie biliaires).Mémoire de Mastère en Analyse Protéomique et Santé. Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine, 2015 ,24-26.
- (28) **MARET, D.** La salive : statuts médical, juridique, éthique et socio culturel. Thèse pour le diplôme d'état de Docteur en Chirurgie Dentaire. Toulouse: Université Paul Sabatier, 2005.
- (29) **Organisation mondiale de la Santé - profils des pays pour le cancer, 2014 .**Format PDF. Disponible sur : <<http://www.who.int/cancer/country-profiles/fr/>> (Consulté le 23/05/2018)
- (30) **PELLAT, B.**"Salives et milieu buccal.", Médecine buccale 28-150-H-10, Paris: EMC (Elsevier Masson SAS), 2010.
- (31) **RITTS JR, RE. DEL VILLANO, BC. GO, VL. HERBERMAN, RB. KLUG, TL. ZURAWSKI JR, VR.** Initial clinical evaluation of an immunoradiometric assay for CA19-9 using the NCI serum bank. Int J Cancer 1984,33:339–45.

# Références bibliographiques

**(32) SABINE, J.** Le cancer du côlon et du rectum Carcinome colorectal[en ligne]. Berne : Ligue suisse contre le cancer, 2015, 6, 2 éd. Format PDF. Disponible sur : < <https://www.liguecancer.ch/a-propos-du-cancer/les-differents-types-de-cancer/le-cancer-du-colon/-dl-/fileadmin/downloads/sheets/cancer-du-colon-et-du-rectum-carcinome-colorectal.pdf> > (Consulté le 22/2/2018)

**(33) SEDKAOUI, C.** Chimiothérapie et thérapie ciblée dans le cancer colorectal métastatique. Thèse de doctorat en sciences Médicales : Université Mouloud Mammeride Tizi-Ouzou, 2015,4.

**(34) SINGH, N.K. Shepherd K.W et Cornish G.B.** A simplified SDS-PAGE procedure for separating LMW subunits of glutenin. Journal of Cereal Science, 1991,14:203-208.

**(35) STEINBERG, W.** The clinical utility of the CA 19-9 tumor-associated antigen. Am J Gastroenterol 1990;85:350–5.

**(36) TREBOSC ROUCH, E.** Amélioration de l'hygiène buccodentaire par le conseil en officine[en ligne]. Thèse de doctorat en pharmacie. TOULOUSE : université Toulouse III Paul Sabatier, 2015,38-42. Format PDF.

**(37) VALLEE, M. TOUGERON, D.** Marqueurs sériques. EMC-Gastro-entérologie [En ligne]. 2016, vol .11, n°4,2-4. Disponible sur :

< <http://www.em-consulte.com/article/1063142/marqueurs-seriques> > (Consulté le18/02/2018)

**(38) VERDI CJ, AHMANN FR, SCHIFMAN RB, ELVICK AL, AHMANN ME, MARX PC.** Comparative evaluation of CA 195 and carcinoembryonic Antigen in metastatic carcinoma. Cancer 1993;71:3625–32.

**(39) VIDAILHET, B. ROBIN, O. POLO, A et al.**"Salivation". Paris: EMC (Elsevier Masson SAS), Stomatologie, 22-008-A-05, 2000. Médecine buccale, 28-150-M-10, 2008.

# Références bibliographiques

## *webographie*

- (40) <http://www.soins.mauveane.com/le-colon/>
- (41) <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/medecine-glande-salivare-6954/>
- (42) <<http://tpe-traitements-diagnostics-cancers.e-monsite.com/pages/techniques-de-depistage-innovantes.html>>
- (43) <http://www.vaisseaux-de-communication.net/article-18148971.html>
- (44) [https://www.sciencesetavenir.fr/sante/la-salivare-outil-diagnostique-du-futur\\_114344](https://www.sciencesetavenir.fr/sante/la-salivare-outil-diagnostique-du-futur_114344)
- (45) <http://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-colon/Stades-du-cancer-colorectal>
- (46)
- [http://www.adeca68.fr/le\\_cancer\\_colorectal/histoire\\_naturelle/aspects\\_moleculaires\\_du\\_developpement\\_du\\_cancer\\_colorectal.181.html](http://www.adeca68.fr/le_cancer_colorectal/histoire_naturelle/aspects_moleculaires_du_developpement_du_cancer_colorectal.181.html)
- (47) <http://slideplayer.fr/amp/2447831/>

# Annexes

## Annexe 01

### QUESTIONNAIRE

N° de dossier de patient : .....

Nom : .....

Prénom : .....

Sexe : .....

Age : .....ans

Origine ethnique (Wilaya) : .....

Circonstances de découverte :

Rectorragies :

Douleur abdominale :

Trouble de transit (Diarrhée/Constipation) :

Syndrome subocclusif :

Altération de l'état générale :

Anémie :

Masse abdominale :

Découverte fortuite :

Autres : .....

Localisation de la tumeur :

Colon ascendant :

Colon transverse :

Colon descendant :

Colon sigmoïde :

Charnière rectosigmoïdienne :

Classification TNM : .....

Stade de cancer :

Stade I :

Stade III :

Stade II :

Stade IV :

Extension de la tumeur :

Local :

Régional :

Métastase :

Pathologies associées : .....

## Annexe 02

### Composition des gels d'électrophorèse

#### **Gel de séparation ( running gel) :**

- Acrylamide 40% 12,4ml
- Bis acrylamide 2% 2,4ml
- Eau distillée 8,6ml
- Tampon Tris-HCL pH 8,8 15,2ml
- SDS 10% 0,40ml
- APS 1% 1ml
- TEMED 0,020ml

#### **Gel de concentration (stacking gel):**

- Acrylamide 40% 1ml
- Bisacrylamide 2% 0,3ml
- Eau permutée 10,2ml
- Tampon Tris-HCL pH 6,8 1,7ml
- SDS 10% 0,14ml
- APS 1% 0,70ml
- TEMED 0,014ml



# Annexes

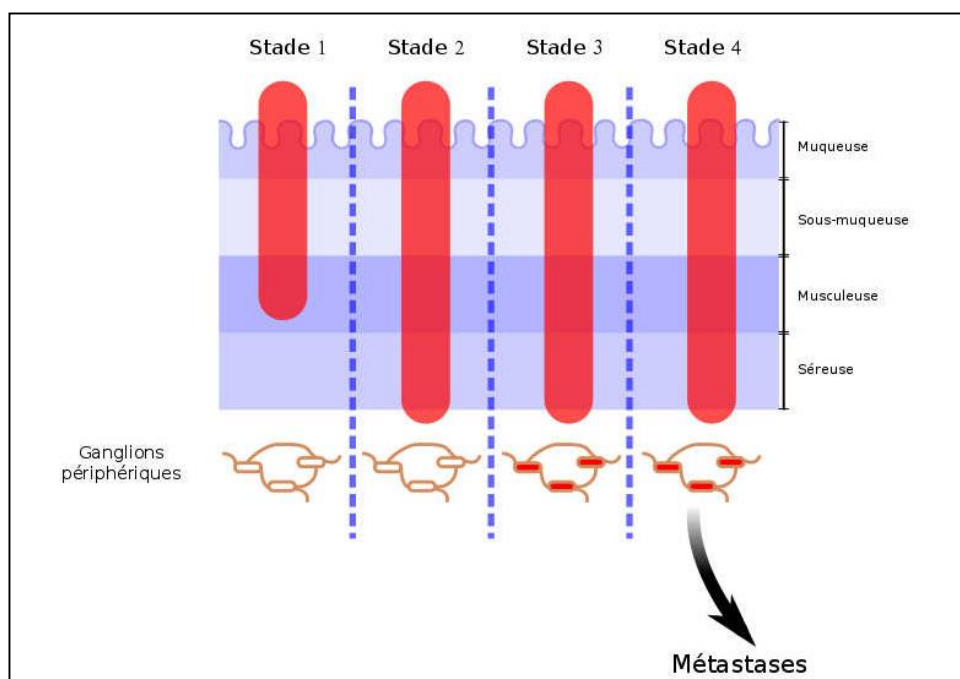
## Annexe 03

**Tableau 07** : Les stades de cancer de colon selon la classification TNM (45).

Ces trois critères – taille et profondeur de la tumeur, atteinte ou non des ganglions lymphatiques et nombre de ganglions atteints, présence ou non de métastases – permettent de définir le stade du cancer selon la classification TNM. TNM signifie en anglais « Tumor, Nodes, Metastasis » soit « tumeur, ganglions lymphatiques, métastases ».

Le stade des cancers colorectaux au moment du diagnostic est généralement exprimé par un chiffre romain allant de 0 à IV.

<b>Stade 0</b>	la tumeur est in situ, ce qui signifie qu'elle est très superficielle et qu'elle n'envahit pas la sous-muqueuse, que les ganglions lymphatiques ne sont pas atteints et qu'il n'y a pas de métastase à distance.
<b>Stade I</b>	la tumeur envahit la deuxième couche (sous-muqueuse) ou la couche musculaire (musculeuse) de la paroi du côlon ou du rectum, les ganglions lymphatiques ne sont pas atteints et il n'y a pas de métastase à distance.
<b>Stade II</b>	les cellules cancéreuses ont traversé plusieurs couches de la paroi du côlon ou du rectum, mais aucun ganglion n'est atteint et il n'y a pas de métastase.
<b>Stade III</b>	les cellules cancéreuses ont envahi les ganglions lymphatiques proches de la tumeur.
<b>Stade IV</b>	le cancer s'est propagé au-delà du côlon ou du rectum, vers des emplacements ou des organes éloignés, généralement le foie ou les poumons.



**Figure 18** : Schéma illustrant la classification par stade en fonction de l'invasion de la muqueuse intestinale par la tumeur (45).

# Glossaire

## **Adénome (synonyme de polype)**

Tumeur bénigne (par opposition au carcinome qui est une tumeur maligne, c'est-à-dire cancéreuse) qui peut être souvent enlevée par voie endoscopique.

## **Cancer**

Maladie provoquée par la transformation de cellules qui deviennent anormales et prolifèrent de façon excessive. Ces cellules dérégées finissent par former une masse qu'on appelle tumeur maligne.

## **Electrophorèse**

L'électrophorèse permet la séparation de molécules chargées : protéines, peptides, acides aminés, acides nucléiques et nucléotides. Elle permet dans certaines conditions de séparer des molécules non ioniques, comme les hormones stéroïdes.

## **Electrophorèse en gel de polyacrylamide (PAGE)**

Le polyacrylamide est un gel finement réticulé, que l'on fabrique au moment de l'emploi en mélangeant de l'acrylamide ( $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}_2$ ), qui polymérise en donnant des chaînes linéaires, et du bis-acrylamide ( $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}=\text{CH}_2$ ), qui forme des ponts entre les chaînes; on obtient ainsi un réseau, dont les mailles sont de taille variable en fonction des proportions d'acrylamide et de bis-acrylamide utilisées; le gel obtenu se comporte donc comme un tamis moléculaire (les macromolécules migrent d'autant moins vite qu'elles sont plus grosses).

En présence de Sodium dodécyl sulfate (SDS), détergent anionique qui défait la structure spatiale et se fixe sur les protéines, toutes les molécules sont chargées de la même façon, et la séparation est alors uniquement en fonction de la masse molaire :

(SDS :  $\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{10} - \text{CH}_2 - \text{O} - \text{SO}_3^-$ ,  $\text{Na}^+$ ),

N.B : pour dénaturer les protéines, on utilise à la fois un détergent comme le SDS et un agent réducteur qui coupera les ponts disulfure, comme le B - mercaptoéthanol.

## **Electrophorèse bidimensionnelle**

**On sépare** selon le pHi dans une dimension (IEF) et selon la masse moléculaire dans l'autre dimension (PAGE-SDS); après la coloration des protéines séparées, **on obtient** un gel

# Glossaire

pouvant contenir environ 1000 spots protéiques. Ces spots représente le profil protéique de l'échantillon étudié (cellules, liquide biologique...). La comparaison de profils protéiques correspondant à des états particuliers (par exemple sain et malade) permet de déceler les protéines liées à ces états. On peut établir de cette manière la "carte d'identité protéique" des principaux tissus et organes humains. La lecture nécessite alors un système informatisé d'analyse d'images.

## **Ganglion**

Petit renflement le long des vaisseaux lymphatiques. Souvent disposés en chaîne ou en amas, les ganglions sont soit superficiels (dans le cou, l'aisselle, l'aîne), soit profonds (dans l'abdomen, le thorax). Ils assurent un rôle essentiel dans la protection du corps contre les infections ou les cellules cancéreuses.

## **Gènes suppresseurs**

Les gènes suppresseurs de tumeur sont des gènes dont l'inactivation (par mutation, par délétion) favorise le développement de tumeurs. Au contraire des oncogènes, les gènes suppresseurs exercent une fonction de répression de certaines fonctions cellulaires, telles que la prolifération. L'inactivation des gènes suppresseurs de tumeur permet soit l'initiation de la carcinogenèse (gène APC des polyposes familiales, libérant une cascade de prolifération cellulaire), soit sa progression (gène p53, en général inactivé dans les phases avancées de la carcinogenèse).

## **Incidence**

Nombre de nouveaux cas d'une maladie dans une population, pendant un temps donné.

## **Métastase**

Tumeur formée à partir de cellules cancéreuses qui se sont détachées d'une première tumeur (tumeur primitive) et qui ont migré par les vaisseaux lymphatiques ou les vaisseaux sanguins dans une autre partie du corps où elles se sont installées.

## **Oncogènes**

Les oncogènes sont des gènes favorisant l'acquisition par des cellules normales d'un phénotype tumoral lorsqu'ils sont activés de façon naturelle (tumorigenèse, par mutation) ou artificielle (mutation dirigée en laboratoire). Ces gènes contrôlent souvent la prolifération (par exemple gène K-ras).

# Glossaire

## **Polype**

Petite excroissance qui se développe à l'intérieur du côlon. C'est une tumeur non cancéreuse qui peut se transformer en tumeur maligne.

## **Stade**

Degré d'extension d'un cancer au moment du diagnostic. Le stade du cancer est généralement déterminé au moyen d'un système de classification qui donne des informations sur la taille de la tumeur et sur la présence de cellules cancéreuses dans les ganglions ou dans d'autres parties du corps.

## **Tumeur**

Grosseur plus ou moins volumineuse due à une multiplication excessive de cellules normales (tumeur bénigne) ou anormales (tumeur maligne).

## Résumé

Le cancer du colon présente un réel problème de santé publique dans le monde. La majorité des tumeurs du colon se développent initialement à partir de polypes adénomateux qui sont posés sur la muqueuse de l'intestin. Ces derniers se transforment secondairement en tumeur maligne.

Un biomarqueur est une molécule biologique trouvée dans les tissus ou les fluides biologiques. Qui est le reflet d'un état normal ou pathologique. L'élaboration du protéome salivaire pourrait bientôt conduire à de nouveaux tests plus simples, plus pratiques et moins onéreux que les analyses de sang.

L'objectif de cette étude est d'investiguer et explorer le protéome salivaire des patients atteints de cancer du colon par l'utilisation de la technique d'électrophorèse monodimensionnelle SDS-PAGE dans les conditions dénaturantes réductrices pour la recherche des biomarqueurs salivaires. Pour cela 14 patients ayant un cancer de colon âgés de 32 ans jusqu'à 77 ans ont été recrutés pour un prélèvement salivaire. Nous avons comparé les profils électrophorétiques des protéines salivaires du sujet sain et des malades.

L'analyse des gels a permis de dénombrer 18 bandes protéiques de mobilités différentes. Afin d'apprécier numériquement la diversité de ces protéines salivaires, une étude statistique a été effectuée en calculant les fréquences, l'indice de similarité, également en établissant des diagrammes types et une classification hiérarchique des individus selon la composition des protéines salivaires.

Ces résultats préliminaires ont montré des protéines salivaires spécifiques et/ou variantes au cours de cancer du colon susceptibles d'être considérées comme des marqueurs de ce cancer étudié, cela ouvre des champs d'investigation nouveaux dans le domaine du suivi et de la surveillance du cancer.

**Mots clés:** salive, cancer colorectal, biomarqueur, électrophorèse, similarité.

## ملخص

يمثل سرطان القولون مشكلة صحية عامة حقيقية في العالم. غالبية أورام القولون تتطور في البداية من الأورام الحميدة التي توضع على بطانة الأمعاء هذا الأخير يتحول لاحقا إلى ورم خبيث.

المؤشر الحيوي هو جزيء بيولوجي موجود في الأنسجة أو السوائل البيولوجية و هو انعكاس لحالة طبيعية أو مرضية. قد يؤدي تطوير بروتينوم اللعاب إلى إجراء اختبارات جديدة ابسط وأكثر ملائمة و اقل تكلفة من اختبارات الدم. الهدف من هذه الدراسة هو دراسة و استكشاف البروتينوم اللعابي لمرضى سرطان القولون باستخدام تقنية الهجرة الكهربية ذات بعد واحد في ظروف الحد و تغيير الطبيعة للبحث عن المؤشرات الحيوية اللعابية لهذا تم تجنيد 14 مريضا بسرطان القولون الذين تتراوح أعمارهم بين 32 حتى 77 سنة لأخذ العينات اللعابية. لقد قارنا أسلوب الهجرة الكهربية للبروتينات اللعابية بين الشخص السليم و المرضى.

إن تحليل الهلام مكننا من عد 18 شريط بروتين ذات حركات مختلفة من اجل التقدير الرقمي لتنوع هذه البروتينات اللعابية. ثم إجراء دراسة إحصائية عن طريق حساب الترددات، مؤشر التشابه و أيضا من خلال إنشاء مخططات بيانية قياسية و تصنيف هرمي للأفراد وفق تركيبة البروتينات اللعابية.

و قد أظهرت هذه النتائج الأولية بروتينات لعابية محددة و\أو متغيرة خلال سرطان القولون من المرجح أن تعتبر علامات حيوية لهذا السرطان المدروس، هذا يفتح ميادين جديدة من الدراسة في مجال متابعة و مراقبة السرطان.

الكلمات المفتاحية: اللعاب سرطان القولون و المستقيم، العلامات البيولوجية، تقنية الهجرة الكهربية، التشابه.

## **Abstract**

Colon cancer presents a real public health in the world. The majority of colon tumors initially develop from adenomatous polyps that are placed on the lining of the intestine. The latter are secondary to a malignant tumor.

A biomarker is a biological tissues or fluids, which is reflection of a normal or pathological condition. Salivary proteome development may soon lead to new tests that are simpler, more convenient and less expensive than blood tests.

The objective of this study is to investigate and explore the salivary proteome of colon cancer patients by using the SDS-PAGE single-stranded electrophoresis technique under denaturing reductive conditions for salivary biomarker research. For this 14 patients with colon cancer aged 32 to 77 years were recruited for salivary sampling. We compared the electrophoretic profiles of healthy subjects and patients.

The analysis of the gels made it possible to count 18 protein bands of different mobilities. In order to numerically appreciate the diversity of these salivary proteins, a statistical study was carried out by calculating the frequencies, the similarity index, also by establishing standard diagrams and a hierarchical classification of the individuals according to the composition of the salivary proteins.

These preliminary results have shown specific salivary proteins and/or variants in colon cancer likely to be considered as biomarkers of this studied cancer, this opens new fields of investigation in the field of monitoring and surveillance of cancer.

**Keywords:** Saliva, colorectal cancer, biomarker, electrophoresis, similarity.

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en biochimie  
Option : Biochimie appliquée

**Thème : Etude rétrospective et exploration du protéome salivaire des patients atteints du cancer colorectal par application de la technique d'électrophorèse monodimensionnelle SDS-PAGE**

**Résumé**

Le cancer du colon présente un réel problème de santé publique dans le monde. La majorité des tumeurs du colon se développent initialement à partir de polypes adénomateux qui sont posés sur la muqueuse de l'intestin. Ces derniers se transforment secondairement en tumeur maligne.

Un biomarqueur est une molécule biologique trouvée dans les tissus ou les fluides biologiques, qui est le reflet d'un état normal ou pathologique. L'élaboration du protéome salivaire pourrait bientôt conduire à de nouveaux tests plus simples, plus pratiques et moins onéreux que les analyses de sang.

L'objectif de cette étude est d'investiguer et explorer le protéome salivaire des patients atteints de cancer du colon par l'utilisation de la technique d'électrophorèse monodimensionnelle SDS-PAGE dans les conditions dénaturantes réductrices pour la recherche des biomarqueurs salivaires. Pour cela 14 patients ayant un cancer de colon âgés de 32 ans jusqu'à 77 ans ont été recrutés pour un prélèvement salivaire. Nous avons comparé les profils électrophorétiques des protéines salivaires du sujet sain et des malades.

L'analyse des gels a permis de dénombrer 18 bandes protéiques de mobilités différentes. Afin d'apprécier numériquement la diversité de ces protéines salivaires, une étude statistique a été effectuée en calculant les fréquences, l'indice de similarité, également en établissant des diagrammes types et une classification hiérarchique des individus selon la composition des protéines salivaires.

Ces résultats préliminaires ont montré des protéines salivaires spécifiques et/ou variantes au cours de cancer du colon susceptibles d'être considérées comme des marqueurs de ce cancer étudié, cela ouvre des champs d'investigation nouveaux dans le domaine du suivi et de la surveillance du cancer.

Laboratoire de Génétique biochimie et Biotechnologie Végétales, Département de Biochimie Moléculaire et Cellulaire, Faculté des Sciences de la Nature et de la vie Université des frères Mentouri Constantine 1

**Mots clés** : salive, cancer colorectal, biomarqueur, électrophorèse, similarité.

Jury d'évaluation :

Président du jury : Prof. KHELIFI Douadi, UFMC1

Encadreur : Dr. BELLIL Inès, UFMC1

Examineur : Dr. BECHKRI Sakina, UFMC1