

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique



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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم بيولوجيا الحيوان

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Génétique

N° d'ordre :
N° de série :

Intitulé :

**Polymorphisme I/D du gène ECA et syndrome
de lynch**

Présenté et soutenu par : ZEGHIB Sabrina

Le 17/07/2019

TELILANI Amira

Jury d'évaluation :

Président : REZGOUNE Mohamed Larbi (MCA - Université des Frères Mentouri, Constantine 1).
Rapporteur : ZIADA-BOUCHAAR Hadia (MCB- Université des Frères Mentouri, Constantine 1).
Examineur : SEMMAME Ouarda (MCB- Université des Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire
2018 - 2019

Remerciement

*En préambule à ce mémoire, louange à **ALLAH** le tout miséricordieux pour son guide, son aide dans un parcours acharné envers le savoir scientifique et qui nous a permis de mener à bien ce modeste travail.*

*La première personne que nous tenons à remercier sincèrement est notre encadreur **Mme Ziada-Bouchar Hadia** pour sa précieuse et honorable aide dans l'orientation et la direction de ce travail.*

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

*Nous remercions **M.Rezgoune Mohamed Larbi** ; pour l'honneur qu'il nous avons fait en acceptant de présider ce travail.*

*Nous remercions **Mme SIFI Karima** qui a eu la bonté de nous aider et soutenu durant la pratique de ce travail. Veuillez croire en nos éternels respects et nos sincères gratitude.*

*Nous remercions **Mme SATTI** Responsable de notre filière pour tous les efforts qu'elle a déployé pour réussir et mener à bien notre formation de génétique avec toute l'équipe de nos enseignants.*

*Nous remercions également **M. Abadi** pour son accueil au sein de laboratoire de Biologie et génétique moléculaire, **Mme Yasmina** et **Mme Amel** pour leurs aides précieuses dans notre partie pratique.*

*Nous remercions infiniment **Pr Filali Taha** pour son accueil au service d'oncologie médicale et tout le personnel notamment **M.MALEK***

Enfin, nous remercions toute personne qui a participé de près ou de loin pour L'accomplissement de ce modeste travail et à tous les patients cancéreux qu'Allah vous guérit.

DEDICACE

Je dédie ce travail à Dieu le tout puissant, le très Miséricordieux. Que toute la gloire revienne à Allah qui par sa puissance et sa Majesté, m'a soutenu durant tout mon cycle et m'a donné le courage, la force et santé nécessaires pour la réalisation de ce travail

A ma mère

Maman chérie, ce travail est le tien. Mère dévouée, courageuse généreuse, brave femme, source de vie, pionnière de mon éducation, toujours prête à sécher nos larmes. En écrivant ces quelques lignes pour signifier mon amour pour toi maman, les larmes remplissent mes yeux.

A mon Père

Etre père n'est sûrement pas toujours facile. Mais toi, tu as toujours donné le meilleur de toi-même pour la réussite et le bonheur de tes enfants ; tu nous as appris le sens de l'honneur de la dignité, de la morale, de la justice de la patience et de la tolérance. Pour ce que tu as fait et pour tout ce que tu feras encore pour moi.

A mes chers frères Seif Eddin et Amer, pour leur soutien moral, et leurs sacrifices le long de ma formation, et à mes chères soeurs Marwa et Khadidja.

Je ne saurai terminer sans citer mes très chères amies : Zineb, Asma, Assia, soumia, Imen, et Houria.

Enfin je le dédie à tous mes amis que je n'ai pas cités et à tous ceux qui me connaissent.

A tous ceux que j'aime.

Amira

DEDICACE

A mes très chers parents Rachida et Ali

Ceux qui ont veillé à mon éducation et accompagné durant ma formation avec un grand dévouement, tendresse et amour, et qui m'ont toujours soutenu et encouragé.

Je vous remercie et j'espère que vous êtes fiers de moi.

A mes frères Wassim, Nadia et Adem

Je vous remercie de votre soutien, encouragement et affection. Aucun langage ne saurait exprimer mon amour que j'ai pour vous Que Dieu puisse vous préserver

A mes très chers amis fidèles Karima, Rayen et Sabrina

Merci pour Ton aide et tes conseils m'ont permis de surmonter les moments les plus difficiles.

A toute ma famille & A tous amis que j'ai omis de citer

A TOUS LES ETUDIANTS DE le MASTER 2 GENETIQUE

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

Sabrina

Liste des abréviations:

- Ang I:** Angiotensine I
- Ang II:** Angiotensine II
- APC:** Adenomatous polyposis coli
- Bax :** Protéine pro-apoptotique de la famille Bcl-2
- BET:** Bromure d'éthidium
- CCR:** Cancer Colorectal
- CIN:** Instabilité chromosomique
- CIMP:** CpG Island Methylator Phenotype
- CpG:** Cytosine–phosphate–guanine
- DCC:** Deleted in colorectal carcinoma
- ECA:** Enzyme de conversion de l'angiotensine
- EDTA:** Ethylene Diamine Tetra-acetic Acid
- EpCAM :** Epithelial cell adhesion molecule
- FAP:** Polypose Adénomateuse familiale
- HAT :** Histon Acétylase Tansferase
- HNPCC:** Hereditary non polyposis colorectal cancer
- KRAS:** Kirsten Relative Allele Signal
- LOH+:** Loss of heterozygosity
- LS:** Syndrome de Lynch
- MIN+:** Microsatellite Instability-positive
- MLH1:** MutL Homolog1
- MMR:** Mismatch Repair
- MLH1 :** MutL Homolog1
- MSH2 :** MutSHomolog 2
- MSH6 :** MutSHomolog 6
- MSI:** MicroSatellite Instability
- MUTYH:** MUTY Homolog
- NEP:** Endopeptidase neutre
- PMS2:** Postmeiotic Segregation 2
- PCNA:** Proliferating Cell Nuclear Antigen
- PCR :** Polymerase chain reaction

SDS : dodécylsulfate de sodium

SKK: Système kinine kallikréine

SMAD4 : SMA and MAD-related protein 4

SRA: Système rénine angiotensine

STK1: Serine-threonine kinase 1

RER+: Replication Error-positive

TGF- β : Tumor Growth Factor beta

TGFBRII : facteur de croissance transformant-récepteur de type II

TNM: Tumor Node Metastasis

Tp53: Tumor protein 53

Liste des tableaux :

Tableau 1 : les gènes impliquant dans le syndrome de Lynch.....	16
Tableau 2 : Amorces utilisées pour l'amplification du gène <i>ECA</i>	27
Tableau 3 : Composants du milieu réactionnel de la PCR.....	27
Tableau 4 : Conditions d'amplification de la PCR.....	28
Tableau 5 : Tableau de contingence pour le calcul de l'odds ratio.....	30
Tableau 6 : la répartition des sujets témoins selon l'âge et le sexe.....	33
Tableau 7 : répartition des fréquences génotypiques du polymorphisme I/D du gène <i>ECA</i>	43
Tableau 8 : Répartition des fréquences alléliques du polymorphisme I/D de l' <i>ECA</i>	44
Tableau 9 : Corrélation entre le polymorphisme I/D de l' <i>ECA</i> et le risque de CCR.....	45

Liste des figures :

Figure 1 : Anatomie du colon.....	4
Figure 2 : Les différentes couches de la paroi du côlon-rectum.....	4
Figure 3 : Les stades du CCR	7
Figure 4 : Mécanisme moléculaire impliqués dans le monde de cancérogène colorectal.....	11
Figure 5 : Mécanisme d'inactivation de la transcription.....	12
Figure 6 : Schéma du système rénine- angiotensine.....	17
Figure 7 : Schéma de formation de l'angiotensine II par des enzymes de conversion de l'angiotensine.....	19
Figure 8 : Polymorphisme génétique l' <i>ECA</i>	23
Figure 9 : Profil électrophorétique des fragments amplifiés par PCR du gène <i>ECA</i> sur gel d'agarose 2%.....	29
Figure 10 : Le logiciel « statistiques médicale et épidémiologiques »	31
Figure 11 : la fréquence de cancer colorectal par rapport au cancer digestif.....	32
Figure 12 : Répartition des témoins selon le sexe.....	33
Figure 13 : Répartition des témoins selon l'âge et le sexe.....	34
Figure 14 : La répartition des sujets malade selon le sexe.....	34
Figure 15 : Répartition des patients atteints SL selon le sexe et l'âge de diagnostic.....	35
Figure 16 : Répartition des patients selon localisation de la tumeur.....	35
Figure 17 : Répartition des sujets malades selon le stade TNM.....	36
Figure 18 : Répartition des cas SL selon les critères d'Amsterdam I/II et de Bethesda avec ou sans antécédents familiaux.....	37
Figure 19 : Répartition des fréquences génotypiques du polymorphisme I/D du gène <i>ECA</i> chez les patients et les témoins.....	43
Figure 20 : Répartition des fréquences alléliques du polymorphisme I/D du gène <i>ECA</i>	44
Figure 21 : Répartition des génotypes de polymorphisme I/D de l' <i>ECA</i> selon les critères de Amesterdam I/II et Bethesda	46

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction	1
---------------------------	---

Partie bibliographique

Chapitre I : Cancer colorectal

1. Colon et rectum.....	3
1.1 Anatomie du colon.....	3
1.2 Histologie	4
1.3 Fonction physiologie	5
2. Le Cancer Colorectal.....	5
2.1 Définition.....	5
2.2 Histoire Naturelle.....	5
2.3 Les stades du CCR selon classification TNM	6
2.4 Épidémiologie.....	7
2.5 Les facteurs de risque.....	7
2.6 Les mécanismes pregression tumorale de CCR.....	10
2.6.1 L'instabilité chromosomique (CIN).....	10
2.6.2 L'instabilité microsatellitaire (MSI).....	10
2.6.3 L'Hyper méthylation des îlots CpG (CIMP).....	11
2.7 Forme héréditaire du cancer colorectal.....	12
2.8 le syndrome de lynch.....	13
2.8.1 Les critères d'Amsterdam et Bethesda.....	14
2.8.2 Systeme MMR.....	14
2.8.3 La génétique de syndrome de lynche.....	15

Chapitre II : L'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA)

1. Le système Rénine Angiotensine (SRA).....	17
2. La Rénine	17
3. L'Angiotensinogène.....	18
4. Les Angiotensines.....	18
4.1 L'Angiotensine I.....	18
4.2 L'Angiotensine II.....	18
4.2.1 Les recepteur de l'angiotencine II.....	19
5. L'enzyme de conversion de l'Angiotensine (ECA).....	20
5.1 La protéine de l'ECA.....	20
5.2 Structure de l'ECA.....	20
5.3 La fonction de l'ECA.....	20
5.4 Gènè de l'ECA.....	21
6. Polymorphisme génétique de l'ECA.....	22
7. Corrélation phénotype- génotype.....	23

8. L'association du polymorphisme I/D de l'ECA à la carcinogenèse	23
---	----

Partie pratique

Patients et Méthodes

1. Patients.....	25
1.1 Population des patients.....	25
1.2 Population des témoins.....	25
2. Méthodes.....	25
2.1 Questionnaire	25
2.2 Prélèvement sanguin.....	26
3. Etude Moléculaire.....	26
3.1 Extraction de l'ADN	26
3.2 Recherche du polymorphisme I/D	26
3.2.1 Contrôle des produits de la PCR.....	28
4. Analyses statistiques.....	29
Résultats discussions.....	32
Conclusion.....	47
Bibliographie.....	48
Webographie.....	54

Annexes

Introduction

Le cancer colorectal est par sa fréquence et par sa gravité, un problème important de santé publique. C'est le cancer le plus fréquent, il représente près de 13 % de l'ensemble des cancers (Ferlay et al., 2013).

Le cancer du gros intestin est le troisième cancer dans le monde après le cancer du poumon et le cancer du sein (Fabre E et al ; 2000), Près d'un million de cancers colorectaux sont diagnostiqués, et près d'un demi-million de personnes en meurent chaque année.

En Algérie, le cancer colorectal occupe la troisième position, après le cancer du poumon et de la vessie chez l'homme et le cancer du sein et du col utérus, chez la femme (Bouزيد et al., 2013).

Environ 75% de ces cancers sont sporadiques, plus de 20% s'inscrivent dans un contexte familial et 5% sont secondaires à des prédispositions monogéniques au cancer (Chapelle, 2004). Parmi ces maladies génétiques héréditaires, le syndrome de Lynch également connu sous le nom HNPCC (Hereditary Non-polyposis Colorectal Cancer) est le plus fréquent (2-4%), La prévalence de ce syndrome est de 1/800-1/1000 dans la population générale (Boland, 2006). En 1990, un groupe de collaboration internationale a proposé un ensemble de critères cliniques définissant le syndrome HNPCC appelé critères d'Amsterdam et les critères de Bethesda.

Chez les patients atteints du syndrome de Lynch, la transition d'un polype (bénin) à une tumeur (maligne) se fait beaucoup plus vite que chez les patients ayant un cancer colorectal non héréditaire. Mais également par un risque plus élevé du développement d'autres cancers, en particulier, de l'endomètre, de l'ovaire, de l'estomac, de l'intestin grêle, de l'épithélium biliaire et urinaire (Balaguer et Castells, 2007) et, certaines tumeurs cutanées et cérébrales (Cohen et Leininger, 2014).

Ce syndrome est lié à une mutation constitutionnelles sur un des gènes du système de réparation des mésappariements de l'ADN (Shawki et Kalady, 2016), quatre gènes peuvent être en cause : MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2. Les mutations des gènes MLH1 et MSH2 sont responsables d'au moins deux-tiers des cas. Les gènes MSH6 et surtout PMS2 sont plus rarement impliqués.

L'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE), est une carbopeptidase d'origine pulmonaire, responsable de l'hydrolyse de l'angiotensine I en angiotensine II vasoconstrictrice et de la dégradation de la bradykinine (vasodilatatrice). C'est une enzyme

clé du système rénine-angiotensine, joue un rôle important dans la régulation de la pression artérielle et des électrolytes sériques (Tiret et al., 1992). Il a également été impliqué dans la pathogenèse de plusieurs cancers.

Le polymorphisme I/D du gène ECA a été rapportée pour la première fois par (Rigatet al., 1990). Il est basé sur l'insertion ou la suppression d'une séquence Alu de 287 pb, entraînant une modification du niveau d'ECA plasmatique.

De notre part nous avons réalisé ce travail qui comporte une étude cas/témoins, pour étudier la liaison de ce polymorphisme avec le cancer colorectal héréditaire sans polypose dans une population de l'est Algérien.

Les objectifs de notre travail sont :

1. Déterminer la prévalence du polymorphisme I/D de l'ECA chez les patientes présentant un cancer colorectal héréditaire sans polypose et la comparer à celle d'une population témoin.
2. Rechercher une association possible entre le variant I/D du gène ECA et le risque de cancer colorectale héréditaire sans polypose chez ces patientes.

Partie

bibliographique

Chapitre 1:

Cancer colorectal

1. Côlon et rectum

1.1 Anatomie du côlon

Le côlon (ou gros intestin), partie terminale du tube digestif, fait suite à l'intestin grêle et se termine par le rectum. Il a la forme d'un « cadre » ou d'un « U » avec une longueur qui varie de 1,45 à 1,65 m (Abid, 2011) et un diamètre de 4 à 8 cm (Aurières, 1999).

Le côlon est subdivisé en 8 parties, comprenant dans deux territoires.

Le premier territoire est le côlon droit contenant [w1] :

- Le cæcum : Est le début du gros intestin faisant la jonction avec la fin de l'intestin grêle. Il est situé en dessous de l'aboucement de l'iléon auquel est rattaché l'appendice.
- Le côlon transverse : S'étend de l'angle colique droit à l'angle colique gauche situé dans l'hypochondre gauche.
- Le côlon ascendant : Allant en bas à droite de l'abdomen et remonte jusqu'à sous le foie. Il marque un angle droit qui remonte jusqu'au foie pour former l'angle hépatique ou l'angle colique droit.

Le deuxième territoire est le côlon gauche contenant [w1] :

- Le tiers gauche du côlon transverse, qui s'étend jusqu'à l'angle colique gauche.
- Le côlon descendant commence à l'angle colique gauche et se termine à la hauteur de la crête iliaque où il fait place au côlon ilio-pelvien.
- Le côlon ilialique qui se termine par le côlon sigmoïde.

Le rectum

Se situe au niveau des 20 derniers centimètres du tube digestif et se termine par un orifice appelé anus.

Il comprend 2 segments bien distincts tant du point de vue morphologique que topographique:

- Un segment pelvien ou ampoule rectale : réservoir contractile situé dans la cavité sacro coccygienne.
- Un segment périnéal ou canal anal. Il s'agit en fait de la zone sphinctérienne entourée de 2 muscles, sphincter anal interne et sphincter anal externe (Figure 01).

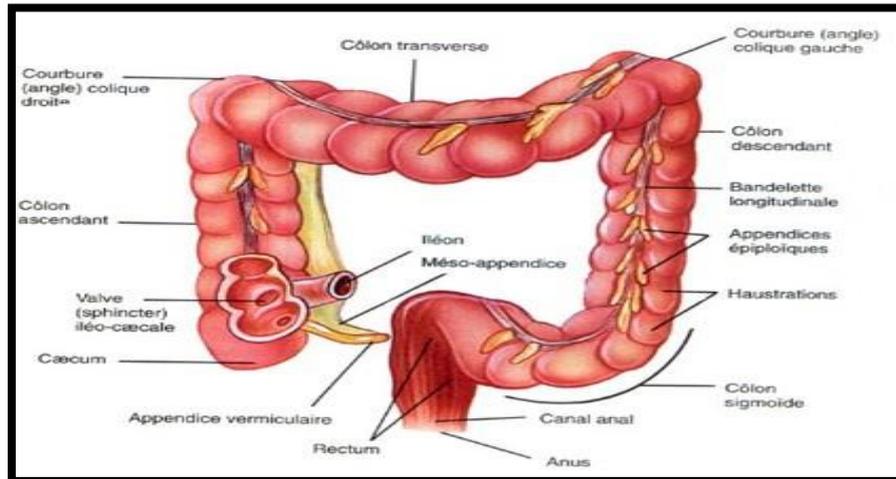


Figure 01 : Anatomie du colon (Silverthorn, 2007).

1.2 Histologie

La paroi du côlon présente de l'intérieur vers l'extérieur les couches suivantes :

- A. La muqueuse : La muqueuse est séparée de La sous muqueuse par la musculairis mucosae elle est composée d'un épithélium de revêtement reposant sur un tissu conjonctif, le chorion est riche par des nodules lymphoïdes (Alan, 1997).
- B. La sous muqueuse : représente près de la moitié de l'épaisseur du côlon, est comprendre d'un réseau riche en fibre de collagène, fibroblastes et d'autres types cellulaires dont les macrophages.
- C. La musculuse : à deux couches, une couche longitudinale externe (tenia coli), et une couche circulaire interne. Entre ses deux couches se situe le plexus d'Auerbach.
- A. La séreuse ou adventice : il s'agit aussi de tissu conjonctif souvent est riche d'une quantité variable d'adipocyte (Lüllmann-Rauch, 2008) (Figure 02).

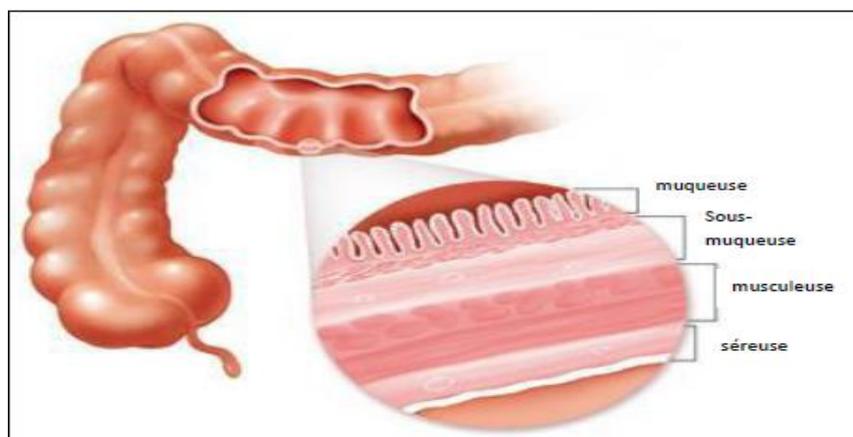


Figure 02 : Les différentes couches de la paroi du côlon [w2].

1.3 Fonction physiologique :

On distingue des fonctions différentes du côlon :

- absorption : il s'agit de réabsorption hydro-électrolytique d'eau et des sels minéraux non absorbés par l'intestin grêle.
- digestion : la dégradation des matières alimentaires ayant échappées à l'absorption intestinale est assurée par flore bactérienne du côlon (Hirayama, 1981).
- Sécrétion : transport d'eau, d'électrolytes, de substances depuis les cellules du tractus digestif vers la lumière digestive.
- Motricité, grâce à laquelle les aliments subissent des transformations mécaniques qui les homogénéisent et les mêlent aux sécrétions digestives (notamment enzymatiques).

La fonction principale du rectum est celle d'un réservoir qui permet de «stocker» les selles, entre chaque défécation, le passage des selles dans la partie basse du gros intestin, où se situe le colon entraîne des contractions de plus en plus fortes, ces contractions sont en adéquation avec la pression exercée sur le rectum interne. Le muscle situé entre le rectum et l'anus, appelé communément le lasso, sphincter se relâche est permettant l'ouverture de l'anus et l'évacuation des selles (Senesse, 2005).

2. Le cancer colorectal (CCR)

2.1 Définition

Le cancer colorectal est le troisième cancer dans le monde, et le cancer le plus fréquent du tube digestif, il se développe à partir des cellules qui tapissent la paroi interne du côlon ou du rectum. Il est provoqué par des mutations (ou dérèglements) des gènes. Ces mutations sont responsables de la prolifération excessive et anarchique de ces cellules qui aboutit à la formation de petites tumeurs initialement bénignes appelées «adénomes » ou « polypes adénomateux ». Ces polypes a la particularité de grossir de manière anarchique, d'envahir localement le colon ou le rectum puis les ganglions lymphatiques et plus tard, dans l'ensemble de l'organisme pour constituer les métastases (hépatique, pulmonaire,...).

2.2 Histoire Naturelle

Le développement de cancer colorectal est lent, sur une période de 10 à 20 ans (Winawer, 2002). La plupart des cas de CCR se développent à partir d'une prolifération tumorale bénigne appelée polype qui naît au dépend de la paroi interne du côlon ou du rectum (Stryker, 2007). La forme la plus commune de polype retrouvée est appelée adénome ou

polype adénomateux.

Lors de la cancérogenèse colique, une hyper prolifération de l'épithélium colique apparaît au niveau des cryptes. Les cellules des cryptes aberrantes s'accumulent au-dessus de la muqueuse ce qui aboutit à la formation d'un polype adénomateux, macroscopiquement visible.

Les adénomes proviennent de cellules glandulaires, qui produisent du mucus afin de lubrifier le segment digestif colorectal. On estime qu'un tiers à la moitié de tous les individus finiront par développer un ou plusieurs adénomes (Schatzkin, 2004). Bien que tous les adénomes aient la capacité de devenir cancéreux, seuls moins de 10% progresseront vers un cancer invasif (Risio, 2010). Le risque de développer un cancer augmente si l'adénome se développe et plus grandit (Pickhardt, 2013).

Les cellules cancéreuses se répartissent généralement d'abord dans les ganglions lymphatiques avoisinants. Les cellules cancéreuses peuvent également se propager dans les vaisseaux sanguins du foie ou des poumons, dans le bassin et la cavité abdominale vers d'autres organes et tissus, tels que le péritoine et l'ovaire. L'adénocarcinome représentait la forme histologique la plus fréquente avec plus de 90% des cas.

2.3 Les stades du CCR selon classification TNM

L'envahissement tumoral est le facteur pronostique le plus important permettant de guider les décisions thérapeutiques. La première classification des CCR soit décrite par Cuthbert Dukes (Dukes, 1932). Cette classification a été modifiée et a finalement aujourd'hui été remplacée par la classification TNM (Figure 03).

La classification TNM a été souvent critiquée et révisée jusqu'à la 7ème édition parue en 2009 (Sobin, 2009), T pour tumeur, N pour ganglion (node en anglais) et M pour métastase. Donc on peut classer les cancers du côlon en cinq stades (Compton, 2000) (Annexe 1).

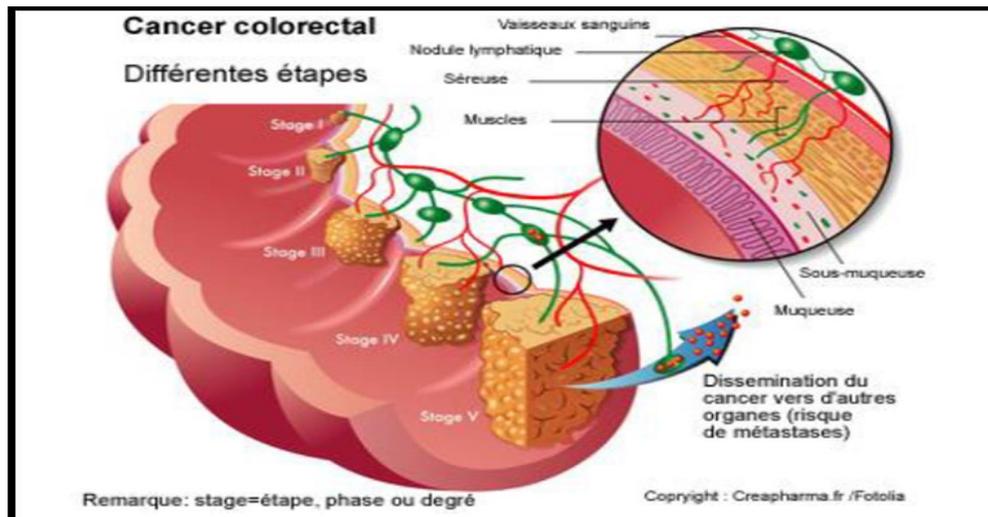


Figure 03 : Les stades du CCR (Aleksandrowicz, 2016).

2.4 Épidémiologie :

- Au monde

Le cancer colorectal est le troisième cancer le plus fréquent dans le monde et la troisième cause de mortalité par cancer.

En 2008 On a estimé le nombre de cancers colorectaux 1,2 millions en 2012 le nombre de nouveaux cas de cancers colorectaux à 1,4 million représentant 8,5% de l'ensemble des décès par cancers. Ce qui montre une relative augmentation de l'incidence des cancers colorectaux (IARC 2012).

- En Algérie :

En Algérie, le cancer colorectal est au deuxième rang, pour les deux sexes. Chez l'homme, la prévalence est de 1180 cas soit 7,1% après le cancer du poumon. Chez la femme, la prévalence a été de 1082 soit 7,1% après le cancer du sein et du col utérin (Boundedjar, 2012).

2.5 Les facteurs de risque

2.5.1 Facteurs liés au régime alimentaire

Les régimes riches en graisses animales et en cholestérol et pauvres en fibres végétales favoriseraient le cancer colique. La consommation de légumes, les fibres, l'huile d'olive diminuerait le risque de cancer colique. De même que le calcium et la vitamine C (Parkin, 1992).

- **Viande**

Augmentation du risque de CCR avec une forte consommation de viande rouge, des études

montrent chez les consommateurs de viandes cuites à haute température ont un risque plus élevé de développer de tumeurs colorectales (Marchand, 2001, Sinha, 1999).

Les amines hétérocycliques de la créatinine sont produites par la réaction de Millard 1 ou par pyrolyse lorsque la viande est cuite à très haute température (Norat, 2001). Elles sont ensuite métabolisées par le foie et évacuées dans l'intestin par la bile.

- **Sucre**

Selon des études précédentes, la consommation de sucre et d'aliments qui en contiennent augmente le risque du cancer du côlon. Il ne faut pas oublier la grande quantité de sucre caché que contiennent les aliments industriels, que l'on retrouve sous les appellations dextrose, lactose, fructose, sirop de malt, sirop de maïs, etc (Parkin, 1992).

- **La cigarette**

L'association entre l'usage de tabac et le cancer du poumon est bien établie, mais fumer est également extrêmement nocif pour le côlon et le rectum. Les substances cancérigènes présentes dans le tabac contribuent à la croissance du cancer dans le côlon et le rectum.

Le tabagisme est important pour la formation et le taux de croissance des polypes adénomateux, Les gros polypes trouvés dans le côlon et le rectum étaient associés au tabagisme à long terme. L'apparition du cancer colorectal chez les hommes et les femmes qui fument des cigarettes est plus élevée que les autres (Tsong et al., 2007).

- **Alcool**

La consommation d'alcool est un facteur d'apparition précoce du cancer colorectal dès l'âge de 39 ans. Les métabolites réactifs de l'alcool, tels que l'acétaldéhyde, peuvent être cancérigènes (Pöschl et Seitz, 2004). L'alcool peut également jouer le rôle de solvant, ce qui favorise la pénétration d'autres molécules cancérigènes dans les cellules muqueuses (Pöschl et Seitz, 2004).

Il existe également une interaction avec le tabagisme. Le tabac peut induire des mutations spécifiques de l'ADN moins bien réparées en présence d'alcool.

Enfin, les grands consommateurs d'alcool peuvent avoir une alimentation pauvre en nutriments essentiels, ce qui rend les tissus plus susceptibles à la cancérogenèse.

2.5.2 Maladies inflammatoires

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin constituent un risque accru d'apparition du cancer digestif en particulier après 8 à 10 ans d'évolution (Barthet, 2004).

Elles du tube regroupent deux maladies qui se caractérisent par une inflammation de la

paroi d'une partie digestif évoluant par poussées : La maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique.

Le cancer colorectal est trois fois plus fréquent chez les patients atteints de maladie de Crohn ou de rectocolite hémorragique par rapport à la population générale (INC,2011).

2.5.3 Age et sexe

Le cancer colorectal est rare avant 50 ans, Le risque de ce cancer est une fois et demie plus élevé chez l'homme que chez la femme. On estime qu'un homme sur 17 et qu'une femme sur 20 en seront atteints au cours de son vie (Remontet, 2003).

2.5.4 Antécédents familiaux de cancer colorectal chez un parent au premier degré

Plusieurs cas de cancer du côlon ou du rectum se manifestent dans la famille proche. C'est-à-dire chez des personnes ayant des antécédents familiaux de cancer colorectal, lorsqu'un membre de la famille au premier degré (parent, frère, sœur ou enfant) a déjà eu un cancer colorectal. Le risque d'être atteint de ce type de cancer est deux à deux fois et demie plus élevé (Globocan, 2002).

Une surveillance par coloscopie, à partir de 45 ans, est recommandée à toutes les personnes [w3] :

- Dont un parent au premier degré (parent, frère ou sœur, enfant) a été atteint et avait moins de 65 ans lors du diagnostic.
- Ou dont deux parents au premier degré ont été atteints, quel que soit leur âge au moment du diagnostic.
- Par ailleurs, un antécédent familial au premier degré d'adénome à risque semble exposer la personne au même niveau de risque de cancer colorectal qu'un antécédent familial de cancer.

2.5.5 Antécédent personnel

Si un personne déjà été atteint d'un cancer colorectal, il risque davantage d'avoir undeuxième cancer colorectal. Il peut s'agir d'un deuxième cancer totalement différent du cancer d'origine ou d'un cancer qui s'est développé au même endroit que le premier, appelé alors récurrence locale.

Une femme ayant déjà été atteinte d'un cancer de l'endomètre, de l'ovaire ou du sein présente également un risque accru de cancer colorectal.

Les antécédents d'autres tumeurs, comme les lymphomes, le cancer du testicule, augmentent le risque de développer un cancer colorectal [w3].

6. Mécanismes de la progression tumorale dans le CCR

6.1 L'instabilité chromosomique (CIN)

L'instabilité chromosomique est présentée dans environ 85% des cas de CCR sporadique, conduit à un phénotype dit phénotype d'instabilité chromosomique (CIN) ou encore phénotype LOH+ (Loss of heterozygosity). Elle est caractérisée par des pertes alléliques sur le bras court des chromosomes 17 et 8 et sur le bras long des chromosomes 18, 5 et 22 (Laurent et al., 2010).

Ces pertes alléliques sont associées à des mutations fréquentes des gènes suppresseurs de tumeurs (*TP53*, *APC*, *DCC*, *SMAD4*...) et participent ainsi à l'inactivation bi-allélique de ces gènes.

Un certain nombre de gènes suppresseurs de tumeurs ont été identifiés dans les régions délétées. Il s'agit du gène *APC* (adenomatous polyposis coli) en 5q21 ; le gène *P53* en 17p13.1 ; le gène *DCC* et 2 gènes médiateurs de la voie de signalisation du TGFβ (*SMAD2*, *SMAD4*) en 18q21 (Karoui et al., 2007).

L'association de ces deux événements (pertes alléliques et mutations ponctuelles) conduit à une altération des deux allèles et une perte de la fonction de la régulation négative de la prolifération cellulaire, par conséquent obtention des cellules tumorales avec un contenu en ADN anormal qu'on appelle une aneuploïdie qui peut se traduire soit par une perte des gènes suppresseurs de tumeur (*DCC*, *APC*, *TP53*), soit par une amplification d'oncogène (*Kras*: Kirsten ras) (Rougier et al., 2006).

6.2 L'instabilité des microsatellites (MSI)

Ce mécanisme est retrouvé dans environ 15% des tumeurs sporadique (Duval et Hamelin., 2003) Caractérisée par la présence d'une instabilité des « microsatellites ». Elles sont exposées des erreurs de mésappariements lors de la réplication de l'ADN. Ces erreurs sont réparées par un complexe de protéines appartenant au système MMR.

(Mismatch Repair). Chez l'homme 6 gènes impliqués dans ce système : *MLH1*, *MSH2*, *MLH3*, *MSH6*, *PMS2* et *MLH3*. Dont le rôle est de détecter et de réparer les erreurs de réplication de l'ADN survenues au cours de la mitose. Les défauts de réparation des mésappariements de l'ADN est lié à une inactivation bi-allélique de gène du système MMR.

Cette inactivation est le plus souvent due à une hyperméthylation de la région promotrice du gène *MLH1*. La déficience du système de réparation induit une accumulation de

mutations secondaires au sein de gènes impliqués dans le contrôle tumoral (TGFBRII, BAX, TCF). Dans ce type de tumeurs la cellule acquiert un phénotype hypermutateur dit phénotype MSI (MicroSatellite Instability) ou RER+ (Replication Error-positive) ou MIN+ (Microsatellite Instability-positive) qui indique à la survenue de mutation dans certains oncogènes (gène proapoptotique BAX) ou gènes suppresseurs de tumeurs (gène récepteur de type II du TGF- β) (Morere et Mitry.E., 2010) (Figure 04).

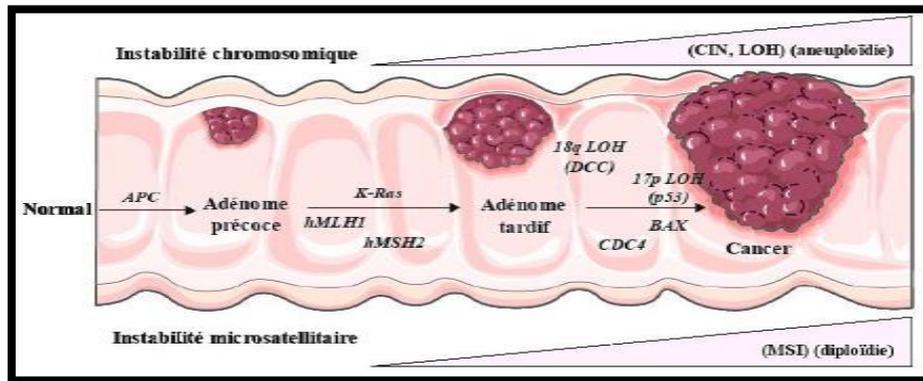


Figure 04 : Mécanisme moléculaire impliqués dans le monde de cancérogenèse colorectal (Fearon et Vogelstein, 1990).

6.3 L'Hyper méthylation des îlots CpG (CIMP)

Le phénotype CIMP est retrouvé dans environ 20 à 30% des CCR (Weisenberger et al., 2007). Les aberrations de la méthylation de la cytosine située à l'intérieur du dinucléotide cytosine-phosphate-guanine (CpG). Dans l'ADN humain, seul dinucléotide CpG est méthylation. La méthylation ne s'effectue que sur les cytosines situées en 5' d'une guanine. Les îlots C-p-G sont localisés au niveau des régions promotrices des gènes. 50 % des gènes possèdent un îlot CpG au niveau de leur Promoteur (Bertario et al., 2001).

La méthylation est l'ajout d'un groupement méthyl sur une base cytosine. C'est un phénomène très actif dans une cellule, elle est catalysée par 5 différentes enzymes appelées méthyl-transférases.

L'instabilité épigénétique, associé à une hyperméthylation de l'ADN au niveau de certaines régions promotrices de plusieurs gènes (CIMP : CpG Island Methylation Phenotype) induisant une inactivation transcriptionnelle de gènes suppresseurs de tumeur inhibant par conséquent la transcription de l'anti-oncogène aboutissant à la cellule cancéreuse comme c'est le cas des cancers colorectaux sporadiques de phénotype MSI (Figure 05).

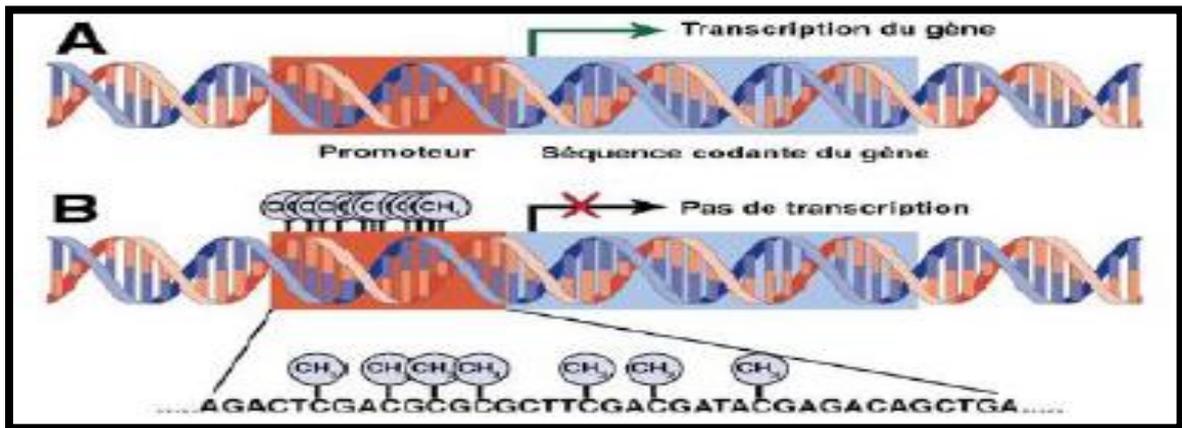


Figure 05 : Mécanisme d'inactivation de la transcription (Leggett and Whitehall, 2010).

7. Formes héréditaires du cancer colorectal

Dans 5-10 % des cas, le cancer colorectal est d'origine héréditaire (Grandvall, 2012). Les principaux syndromes de prédisposition aux cancers colorectaux sont la polypose adénomateuse familiale (FAP), et le syndrome de lynch (HNPCC).

Le cancer colorectal est sporadique dans 88-94 % des cas (Grandvall, 2012). Cependant, il est important de souligner que dans certains cas, le fait d'avoir un membre de sa famille déjà atteint augmente le risque de développer la maladie

- **Polypose adénomateuse familiale (PAF)**

La Polypose Adénomateuse Familiale (PAF) est représenté ~0,5% de l'ensemble des CCR (Fearon., 2011). Ce syndrome est le plus connu de prédisposition héréditaire au cancer colorectal.

La PAF est l'apparition de plusieurs centaines de polypes (présence de 100 à 1000 polypes) au niveau du côlon et du rectum apparaissant le plus souvent à la puberté, ces polypes grossissant progressivement pour dégénérer et se transformer en cancers malins qui apparaissent dès l'âge de 20 ans (Haffen, 2012).

La PAF est une affection héréditaire causée par une mutation génétique. Deux gènes sont connus pour être impliqués dans la PAF : le gène *APC* et le gène *MYH*.

Elle est causé principalement par une mutation du gène Adenomatous polyposis coli (*APC*) situé sur le locus 5q21 Constitué de 15 exons avec une séquence de 8532 paires de bases code pour une protéine de 2843 acides aminés (Macrae et al., 2009). Ces mutations ou anomalies génétiques sont habituellement transmises par un des parents, mais peuvent

survenir de novo dans un tiers des cas. La transmission est autosomique dominante, la pénétrance, très élevée (de 80 à 100 %) et l'expressivité, très variable.

- **Polypose liée à MUTYH (MAP)**

C'est une nouvelle voie biologique responsable de polypose colorectale familiale. Celle-ci est liée à une mutation constitutionnelle des deux allèles du gène *MUTYH* qui fait partie du système Base Excision Repair (BER), ce système participe à la réparation de l'ADN lorsque celui-ci subit des dégâts secondaires à des lésions oxydatives.

Le gène *MUTYH* est localisé sur le chromosome 1p34.3 et p32.1 et s'étend sur 11,2 kb. Il comprend 16 exons couvrant environ 1,6 kb de séquence codante (Slupska et al., 1996). Les introns ont une taille variant entre 74 pb et 5,7 kb, les introns 3 à 13 présentant la particularité d'être de taille extrêmement réduite (74 à 172 pb).

Lors d'une première réplication cette guanine modifiée va s'intégrer à l'ADN, et par conséquent elle va être appariées à des adénines à la place des cytosines. Lors de la deuxième réplication, en face de l'adénine fausement placée, vient s'apparier une thymine, entraînant alors une transversion, G-C en T-A. Ces transversions modifient alors l'expression de gène *APC* et du gène *kras*.

La particularité de cette prédisposition dans sa forme classique est une transmission récessive : seules les personnes ayant leurs deux gènes mutés ont la maladie, donc en général, les parents sont porteurs d'une mutation, mais n'ont pas la maladie alors que certains enfants (1/4) développent la maladie.

8. Le syndrome de Lynch

Le syndrome de Lynch ou syndrome « HNPCC » (Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer). Il rare ne représente que 2 à 4% de l'ensemble des cancers colorectaux, La prévalence de ce syndrome est de 1/800-1/1000 dans la population générale (Boland, 2006) lors de diagnostic le cancer colorectale chez une personne plus jeune, ou l'orsque certaines de ses proche ont été atteints d'un cancer colorectale ou d'une autre tumeur du même syndrome a un jeune âge (40-50 ans) il est susceptible d'avoir le syndrome de lynche (Vasen et al., 1999).

Les cancers colorectaux apparaissent plus souvent dans la partie du colon qui est le plus près de l'intestin grêle c'est à dire le colon ascendants situe de côté droit du corps (Hendriks et al., 2006).

Sur le plan moléculaire, le phénotype MSI est observé dans plus de 90% des cancers

colorectaux diagnostiqués dans le syndrome de Lynch et dans près de 10% des cancers sporadiques. Les cancers colorectaux associés au syndrome de lynch sont généralement de meilleur pronostic que les cancers colorectaux sporadiques, indépendamment du stade de la maladie. (Gryfe et al., 2000).

La découverte d'un syndrome HNPCC ne peut être corrélée qu'à un dépistage génétique en coordination avec l'étude du passé médical familiale.

Le diagnostic de ce syndrome ne s'affirme que sur des anomalies génotypiques croissantes et de spécificités décroissantes ont été définis entre 1991 et 2004 (Hendriks et al., 2006).

8.1 Critères d'Amsterdam et de Bethesda

La première description du syndrome HNPCC date de 1913 et a été complétée en 1966 par Lynch. Le consortium international sur le syndrome HNPCC énonce des critères dits d'Amsterdam I, définissant ce syndrome sur le plan clinique critère de nombre, d'apparenté et d'âge. Ces critères ont été retenus en 1991 à Amsterdam (critères d'Amsterdam I) (Vasen et al., 1991) (Annexe 3).

En 1999, les critères d'Amsterdam ont été élargis pour intégrer les cancers extra coliques et sont devenus les critères d'Amsterdam II (Vasen et al., 1999) (Annexe 3).

Les critères d'Amsterdam sont très spécifiques mais peu sensibles. d'autres critères ont été définis appelé les critères de Bethesda pour améliorer la sensibilité de détection des patients porteurs d'une mutation délétère sur un gène MMR parmi la population atteinte de cancer, ont depuis été proposés à la conférence de Bethesda, et énoncés en 1997 (Rodriguez-Bigas et al., 1997), puis révisés en 2004 (Umar et al., 2004)(Annexe 4). Ils correspondent à un ensemble de situations cliniques dans lesquelles la recherche d'une instabilité microsatellitaire est recommandée (Annexe 5). Les critères de Bethesda permettent ainsi d'obtenir une excellente sensibilité.

8.2 System MMR :

Le système MMR intervient notamment dans la correction des erreurs de réplication de l'ADN au cours de la division cellulaire, en détectant et corrigeant les mésappariements des brins de la double-hélice qui résultent de ces erreurs (Lynch et al., 2015).

Ces erreurs d'appariement base-base causées par des incorporations accidentelles, des insertion/délétions, survenant notamment dans les séquences répétées des microsatellites.

Le système MMR protège ainsi les cellules de mutations spontanées et contribue à abaisser

le taux d'erreur de réplication à une mutation toutes les 10¹⁰ pb (Pino and Chung, 2011). L'inactivation du système MMR contribue à la transformation maligne en empêchant la correction des erreurs de réplication de l'ADN au moment de la division cellulaire, ce qui est à l'origine d'un phénotype mutateur, celui-ci favorisant la survenue d'événements oncogénétiques ultérieurs. Le système MMR des eucaryotes est hautement conservé, mais le degré de complexité est augmenté par l'ajout de plusieurs homologues de *MutS* et de *MutL* (respectivement, *MSH* pour *MutS* homologue et *MLH* pour *MutL* homologue).

Le système MMR fonctionne en plusieurs étapes :

A. Le complexe *MutS* α (*MSH2* et *MSH6*) reconnaît les mésappariements de base et IDL (insertion-déletion loop) de petite taille (≤ 2 nucléotides) et adopte une conformation de pince coulissante entourant l'ADN. Cette étape nécessite l'échange de l'ADP en ATP. Ce complexe est ensuite lié à *MutL* α (*MLH1* et *PMS2*).

B. Le complexe interagit avec la protéine PCNA et l'exonucléase 1 qui va dégrader le brin fils jusqu'au mésappariement. Finalement, le complexe se dissout quand la synthèse du nouveau brin par l'ADN Polymérase est effectuée.

C. Selon le même principe, le complexe *MutS* β (*MSH2-3*) agit sur les IDL de plus grande taille (> 2 nucléotides).

8.3 La génétique de syndrome de lynch :

Le syndrome de Lynch est une maladie autosomique dominante liée à une mutation de l'un des gènes intervenant dans la voie MMR (Shawki et Kalady, 2016). Les 4 gènes les plus fréquemment atteints sont *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* et *PMS2* (Peltomäki et Vasen, 2004). les mutations sur le gène *MLH1* représentent 45% des mutations héréditaires retrouvées alors que les gènes *MSH2*, *MSH6* et *PMS2* sont mutés respectivement dans 33%, 18% et 7% des cas (Plazzer et al., 2004) (Tableau 1).

La mutation biallélique d'un des gènes de système MMR entraîne l'accumulation de mutation somatique dans différents gènes impliqué dans le CCR tels le récepteur du TGF β -II ou l'IGF-II(64) ou le gène *BAX* régulateur de l'apoptose (Ligtenberg et al., 2009), ou même certains gènes du système MMR comme *hMSH3* ou *hMSH6* (Knudson, 1971).

Dans certaines familles présentant un phénotype de syndrome de lynch typique avec un phénotype MSI et une perte d'expression de *MSH2*, aucune mutation germinale n'est identifiée sur un des gènes du système MMR.

Par ailleurs, un autre mécanisme de prédisposition au syndrome de Lynch a été proposé n'impliquant pas une mutation directe sur un gène MMR mais sur le gène codant pour la

protéine d'adhésion EpCAM (Epithelial Cell Adhesion Molecule) (Ligtenberg et al., 2009). Ainsi, il a été décrit que les délétions germinales en 3' de ce gène, situé en amont de *MSH2*, entraînent une inhibition transcriptionnelle de ce dernier, résultant en une inactivation du gène *MSH2*.

Tableau 1: les gènes impliquant dans le syndrome de Lynch.

Gène	Localisation chromosomique	Nombre d'exon	Nombre des mutations (%)
MLH1	3p21-23	19	39%
MLH2	2p21	16	38 %
MLH6	2p16	10	9 %
MLH3	14q24.3	12	2 %
PMS2	7q22	15	2 %
PMS1	2q31-33	13	1 %

Chapitre II :

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

1. Le système rénine angiotensine

C'est un système hormonal ayant une grande importance, puisqu'il est reconnu pour exercer un contrôle sur la pression artérielle, la résistance vasculaire périphérique, le volume sanguin et des autres fluides de l'organisme et le maintien de la balance d'électrolytes (Melissa, 2016).

Le système rénine angiotensine (SRA) est en fait une cascade protéolytique qui a pour but ultime la formation d'un peptide hypertenseur, l'angiotensine II. Dans cette cascade, le précurseur l'angiotensinogène, produit et libéré dans la circulation par le foie, est transformée en angiotensine I (Ang I) sous l'action enzymatique de la rénine circulante produite par les reins. L'Ang I est à son tour clivée par l'ECA pour produire l'angiotensine II (Ang II), un puissant vasoconstricteur (Melissa, 2016). L'Ang II agit sur deux récepteurs couplés aux protéines G, le récepteur AT1, lequel est le médiateur des principaux effets cardiovasculaires d'Ang II. Le peptide agit également sur le récepteur AT2 ; son activation entraîne des effets anti-prolifératifs, anti hypertrophiques, pro-apoptotiques et vasodilatateurs (Melissa, 2016) (Figure 06).

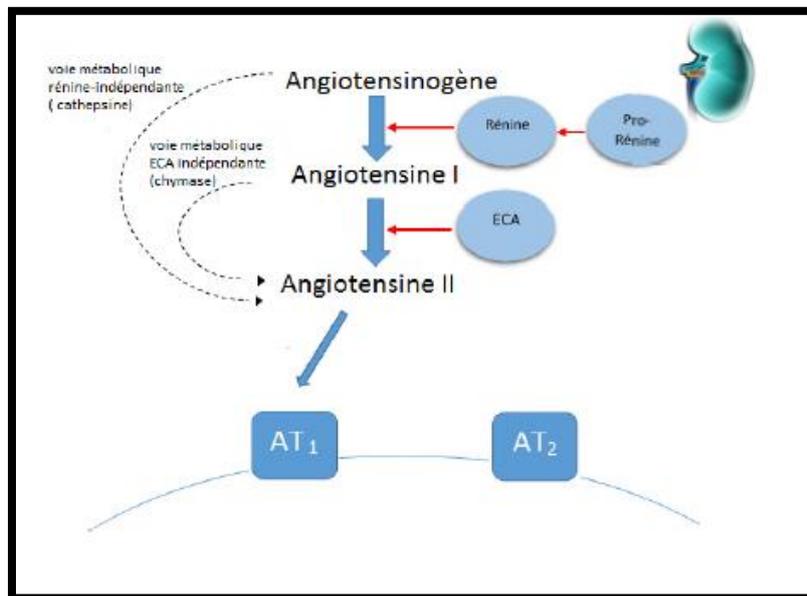


Figure 06 : Schéma du système rénine-angiotensine (Melissa , 2016).

2. La rinine

La rénine est une protéase acide de type aspartyl qui clive la liaison leucine-valine à l'extrémité N-terminale de l'angiotensinogène, libérant ainsi l'angiotensine I (Melissa, 2016). La rénine est sécrétée par les cellules granuleuses de l'appareil juxtaglomérulaire des reins. Des données récentes suggèrent non seulement que la rénine a des effets cellulaires indépendants de ceux de l'angiotensine II (Ang II) (Nguyen, 1996), mais

également que la prérénine possède une activité catalytique avant tout clivage en rénine (Methot et al., 1999). Plusieurs sites de fixation de la rénine ont été décrits (Sealey et al., 1996). La rénine et la pro-rénine se fixent au récepteur mannose-6-phosphate et après cette fixation il y a une internalisation puis d'une activation de la pro-rénine (Saris et al., 2001).

3. L'angiotensinogène

L'angiotensinogène est une large glycoprotéine (452 acides aminés) qui appartient à la super famille des inhibiteurs des protéases à sérine (serpines) (Melissa, 2016). Sécrétée par les lobules hépatiques, la production de l'angiotensinogène est sous la régulation positive de l'estrogène, des glucocorticoïdes, des hormones thyroïdiennes et de l'angiotensine II. Sous l'action de la rénine, la portion N terminale de l'angiotensinogène est clivée pour produire le décapeptide inactif Ang I (Figure 07) (Melissa, 2016).

Le gène de l'angiotensinogène est situé sur le chromosome 1 locus q42-q43 et se compose de 5 exons et de 4 introns, totalisant près de 13000 bases (13 kb) (Lefebvre, 2008)).

4. Les Angiotensines

4.1 L'angiotensine I

Produite à partir de l'angiotensinogène, l'Ang I est un décapeptide contenant la séquence peptidique de l'Ang II mais qui ne possède que peu ou aucune activité physiologique connue. L'Ang I est clivée par l'ECA par retrait d'un dipeptide (His-Leu) du côté C-terminal. Elle peut être clivée par des aminopetidases tissulaires ou plasmatiques pour former la [des-Asp'] Ang I qui à son tour, peut être convertie par l'ECA en [des-Asp'] Ang II communément appelé Ang III (Gérémy, 2010).

4-2 L'angiotensine II :

Ang II est une hormone peptidique vasoconstrictrice générée par le clivage protéolytique de l'angiotensine I par l'enzyme de conversion de l'angiotensine dans les cellules endothéliales [w4]

Ang II est le composant actif du SRA (Figure 07), régule la pression artérielle, le volume plasmatique, l'activité nerveuse sympathique et les réponses à la soif. Il joue aussi des rôles clés dans l'adaptation pathologique manifestée par un remodelage du myocarde lors de l'infarctus et par un remodelage vasculaire lors de l'hypertension (Artavazd, 2009).

Ang II exerce large éventail d'effets biologique en stimulation le récepteur AT1. Sa liaison au récepteur engendre un changement de conformation de celui-ci, ce qui rend les interactions avec la protéine G plus efficaces. Parmi les effets reconnus de l'Ang II, il y a

la stimulation de la croissance et la réplication cellulaire au niveau cardiovasculaire.

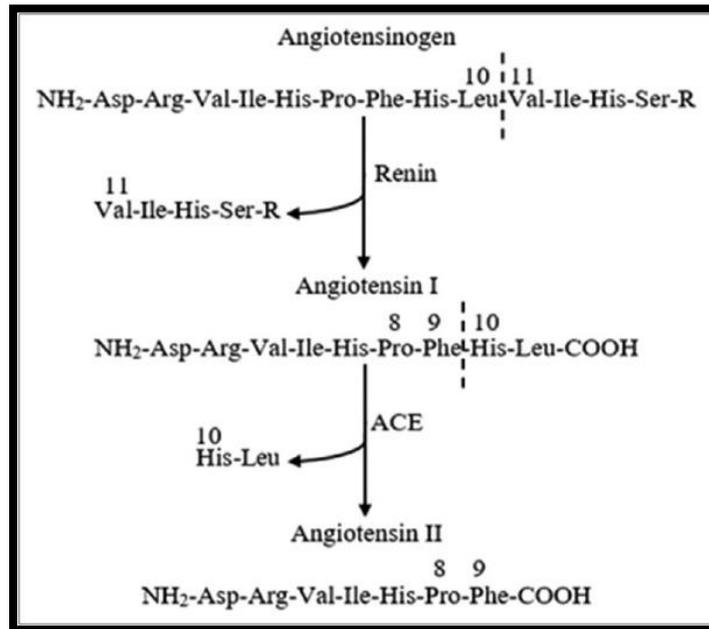


Figure 07 : Schéma de formation de l'angiotensine II par des enzymes de conversion de l'angiotensine (Islamudin et al 2017).

4.2.1 Les récepteurs de l'angiotensine II

L'angiotensine II est la forme la plus active du SRA. Il existe deux sous-types de récepteurs de l'Ang II : le récepteur AT1 (R-AT1) et le récepteur AT2 (R-AT2) qui se présentent sous forme de polypeptides d'environ 360 acides aminés. Ces récepteurs lient l'Ang II avec une haute affinité similaire de 10^{-10} M (Gérémy. 2010).

➤ Le récepteur AT1

Le gène codant pour l'expression du récepteur AT1 est situé sur le chromosome 3 chez l'homme. Il est impliqué dans la plupart des effets causés par l'Ang-II ; tels que la régulation de la pression artérielle, le maintien de l'équilibre des électrolytes, la sécrétion hormonale et la fonction rénale (Artavazd, 2009).

Le récepteur de l'angiotensine II de type 1 (AT1) est prédominant dans les cellules musculaires lisses vasculaires, où la stimulation entraîne une vasoconstriction [w5].

➤ Le récepteur AT2

Le récepteur AT2 prédominant dans les fibroblastes cardiaques [w6], il est quand même présent dans plusieurs organes et tissus tels que, les reins, la peau, l'utérus, le pancréas, et les cellules musculaires lisses vasculaires (Gérémy, 2010). AT2 est également un récepteur couplé aux protéines G dont le gène est situé sur le chromosome X. Le récepteur AT2 est

exprimé en grande quantité dans les tissus foetaux lors du développement.

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

5.1 Protéine ECA

L'ECA ou kininase II ou angioconvertase, est une dipeptidylcarboxypeptidase (EC 3.4.15.1) C'est une enzyme clé du système rénine-angiotensine (SRA) de localisation soit vasculaire au niveau pulmonaire, de l'épithélium tubulaire proximal du rein, de l'intestin grêle et des plexus choroïdes, soit tissulaire au niveau du rein, du cœur et du cerveau (Nguyen, 2014).

Sa fonction principale l'hydrolyse de l' Ang I en Ang II et l'inactivation de la bradykinine (Erdo et Skidgel, 1987).

Il en existe 3 formes, mais seulement deux de ces formes sont exprimées chez l'humain (Melissa, 2016). La forme dite somatique est la plus large (150-180 kDa). Elle est composée d'approximativement 1300 acides aminés et est présente dans la plupart des tissus (endothélium vasculaire, poumon, rein).

La forme plus petite (100-110 kDa), composée de 730 acides aminés, est souvent appelée l'ECA germinale ou testiculaire puisque celle-ci est uniquement retrouvée dans les testicules (Melissa, 2016). Elle a un rôle dans la fertilité masculine et serait impliquée dans le cancer testiculaire (Melissa, 2016).

5.2 Structure de l'ECA

L'ECA est une simple chaîne polypeptidique de 1340 acides aminés, (Coates, 2003). Elle comprend un domaine extracellulaire de 24 acides aminés, transmembranaire de 20 acides aminés et cytosolique. Le domaine extracellulaire est composé de deux sites homologues (le domaine N et le domaine C) qui constituent les sites catalytiques de l'enzyme (Laraqui, 2006). Ces deux sites catalytiques possèdent des activités dipetidyl carboxypeptidase et endoprotéolytique qui pourrait ainsi expliquer la multitude de substrats potentiels de l'ECA. Diverses études ont montré que ces domaines N et C pouvaient avoir des caractéristiques biochimiques similaires ou différentes d'abord pour chaque substrat pris individuellement, mais aussi entre les différents substrats (Gérémy, 2010).

5.3 Fonction de l'ECA

L'ECA est principalement retrouvée dans le système rénine angiotensine et le système kinine kallikréine (SKK).

L'ECA active l'angiotensine I en angiotensine II, et qui inactive la bradykinine; l'endopeptidase neutre (NEP), inactive le facteur natriurétique auriculaire ; elle est impliquée également dans le maintien de la pression artérielle et l'équilibre hydrominéral par différents mécanismes tels la vasoconstriction, ce qui renforce son rôle potentiel dans le tonus vasculaire, comme le démontre l'efficacité des inhibiteurs de l'enzyme de conversion dans le traitement de l'HTA (Tiret et al., 1992).

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

5.4 Gène de l'ECA

Le gène d'ECA a été localisé sur le chromosome 17 du génome humain en 1989, plus particulièrement au locus 17q23 (Mattei et al., 1989), Il est composé de 21 kilobases (kb) de long et comprend 26 exons et 25 introns.

Son transcrit mature, ayant une taille de 4,3 Kb et est traduit en un peptide de 1340 AA (Lian et al., 2015).

Il existe deux formes d'ECA chez l'homme, codées par un seul gène situé sur le chromosome 17 à q23 La forme plus longue, appelée ECA somatique (SACE), est transcrite à partir des exons 1-12 et 14-26, tandis que la forme plus courte, appelée ECA germinale ou testiculaire (GACE), est transcrite à partir des exons 13-26. Le promoteur de SACE est situé dans la région adjacente en 5' du premier exon, alors que celui de GACE est situé dans l'intron 12 (Hubert et al, 1991).

La description complète de la structure génique d'ECA et la preuve de l'existence de promoteurs alternatifs pour l'expression des ARNm pour les ECA somatiques et germinaux.

La transcription des deux types d'ECA est régulée par des promoteurs génétiques spécifiques et distincts, localisés sur le même gène (44786 pb ; Locus 17q23) (Lefebvre, 2008)). Les types somatiques et testiculaires de l'ECA sont codés à partir d'une séquence d'ARN messenger longue de 4029 bp et de 3.0 kb respectivement (Lefebvre, 2008)). La description faite par Ehlers et ses collaborateurs (Ehlers et al., 1989). De la séquence

d'ADN cytoplasmique de l'ECA testiculaire a permis d'établir une similitude avec celle de l'ECA endothéliale

pour la portion délimitée entre le 37^{ième} acide aminé et le C terminal. La protéine somatique de l'ECA, dont le poids moléculaire est compris entre 150 et 180 Kda, est largement distribuée dans l'organisme et possède 2 sites catalytique.

6. Polymorphisme génétique de l'ECA

La variabilité inter-individuelle de l'activité de l'ECA circulante était génétiquement déterminée En 1988 (Cambien et al., 1988). Un polymorphisme dans le gène ECA est localisé dans une région non – codante, consistant en l'insertion (I) ou la délétion (D) d'une séquence Alu de 287 pb dans l'intron 16 du gène codant l'ECA (Figure 08) (Tiret, 1992). Explique 20% à 50% de la variance de l'expression ou de l'activité de l'ECA dans le sang et les tissus. Selon les hypothèses actuelles, les polymorphismes responsables de l'augmentation du taux plasmatique de l'enzyme seraient localisés dans la région comprise entre l'intron 18 et l'extrémité 3'UTR du gène (Zhu et al., 2000).

Les mutations responsables de ce polymorphisme n'ont pas encore été identifiées. Mais les hypothèses indiquent que ces mutations se trouveraient dans une portion de l'exon 18, dans la région 3' UTR. Par contre, d'autres auteurs prétendent d'autres variantes comme responsables de ce polymorphisme.

Des études montrent que l'ECA est exprimé localement dans le cancer gastrique chez les individus atteints (Rigat et al., 1990), et que le polymorphisme I/D du gène ECA influence le comportement métastatique (Röcken et al., 2005).

Les patients qui ont le génotype DD présentent un plus grand nombre de métastases ganglionnaires et un stade tumoral avancé de l'Union Internationale Contre le Cancer (UICC) par rapport aux porteurs du génotype ID ou II (Lang, 2006). En outre, une étude a démontré que les médicaments à long terme ACE diminuent le risque de développer un CCR (Rigat et al., 1990).

Les allèles I et D sont codominants : Les sujets homozygotes pour l'allèle le plus court montrent généralement des niveaux d'ECE circulante deux fois plus élevés que les sujets homozygotes pour l'allèle le plus long, les sujets hétérozygotes montrant des niveaux intermédiaires (Rigat et al., 1990).

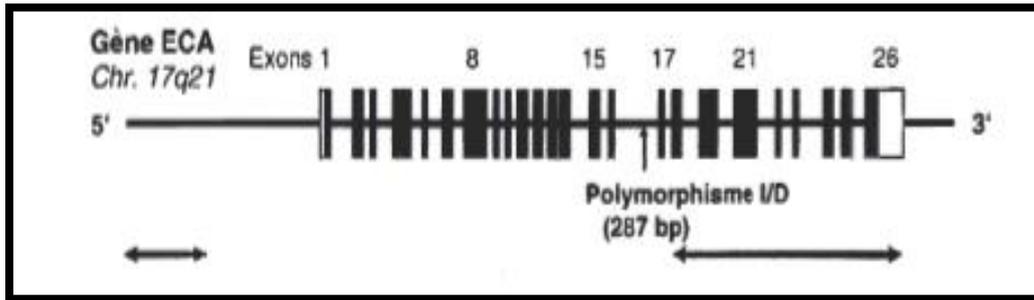


Figure 08 : Polymorphisme génétique de l'ECA (Roskopf et al., 2007).

7. Corrélation phénotype- génotype

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

Le polymorphisme I/D du gène de l'ECA est transmis de façon codominance et serait responsable d'environ 50% de la variabilité interindividuelle de la concentration plasmatique de l'ECA.

En effet, le génotype qui montre des niveaux d'ECA circulante était celui des sujets homozygotes DD comparativement au sujet II, alors que les sujets hétérozygotes montrant des niveaux intermédiaires.

Ce polymorphisme a été associé à trois génotypes, de sorte qu'un individu peut donc être soit homozygote pour l'allèle D ou pour l'allèle I, soit hétérozygote ID. Les allèles I et D sont identifiés par la présence des fragments de 490 pb et 190 pb qui correspondent respectivement aux homozygotes de génotype II et DD, alors que la présence des deux fragments de 190 pb et 490 pb correspondent à l'hétérozygote de génotype ID (Yaren et al., 2006).

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

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

Ces dernières années, de plus en plus de preuves ont montré que le gène de l'ECA était associée à la pathogénèse du cancer, tels que le cancer du poumon, le cancer du sein, le cancer de la prostate, le cancer gastrique et le cancer de la bouche (Zhang et al., 2011), il

peut influencer l'adhésion, la prolifération, la migration, l'angiogenèse et les comportements métastatiques des cellules tumorales (Zhang et al., 2014).

Plusieurs études cas-témoins portant sur 3914 patients atteints de cancer et 11391 témoins ont été identifiées. Aucune association significative n'a été observée entre le polymorphisme I/D et l'ensemble des risques de cancer. Cette méta-analyse a suggéré que le polymorphisme I/D pourrait ne pas contribuer au risque de cancer du sein, cancer de la prostate, cancer colorectal, cancer gastrique pour la comparaison entre DD, DI et II (Zhang et al., 2011).

Des études montrent un excès de génotype DD chez des sujets ayant un infarctus du myocarde par rapport à des sujets indemnes de cet accident, suggérant que ce génotype pourrait être associé à une susceptibilité accrue aux maladies vasculaires (Cambien et al., 1992). Également ont déterminé la fréquence de la resténose est bien plus élevée chez les sujets DD que chez les sujets II ou ID. L'hypothèse avancée est que l'effet protecteur de l'inhibiteur de l'ECA vis-à-vis de la resténose pourrait avoir été masqué dans l'ensemble de la population traitée, mais pourrait n'apparaître que chez les sujets DD, à haut risque de resténose (Ohishi et al., 1993).

De plus, cette variation génétique a aussi été associée à la maladie d'Alzheimer, au diabète de type 2, à des problèmes rénaux, au lupus érythémateux, à la performance cognitive, et à bien d'autres conditions (Bossé, 2001).

Partie pratique

Patients et Méthodes

1. Patients

1.1 Populations étudiées

Notre travail a été réalisé aux services d'oncologie médicale CAC (Centre Anti Cancéreux), laboratoire de Génétique et de Biologie Moléculaire au CHU Constantine.

L'étude que nous avons entreprise est de type cas-témoins est effectuée durant la période de Avril-Mai 2019. Elle a porté sur deux populations, l'une des témoins et l'autre des malades résident dans l'Est algérien.

1.2 Population des patients

Cette population est constituée de 30 malades des deux sexes atteints de cancer du côlon et/ou du rectum quel que soit le stade, âgés de 20 à 60 ans ont été recrutés à partir du service d'oncologie médicale au CHU de Constantine.

1.3 Population des témoins

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

a) Critères d'inclusion des patients

- Patient avec preuve histologique de cancer colique ou rectal moins de 50 ans
- Antécédents personnels et/ou familiaux de CCR
- Tous les patients admis au service atteint d'un cancer colorectal en cours de traitement (chimiothérapie) ou venus pour une consultation ou contrôle répondant aux critères d'Amsterdam ou Bethesda.

b) Critères d'exclusion

- Sujets refusant le prélèvement.
- Sujets souffrants de l'anémie.
- Sujets aux veines fragilisées par la chimiothérapie.

2. Méthodologie

2.1 Questionnaire

Un questionnaire (Annexe 6), comprenant les données nécessaires pour toute la population d'étude est établi. Le dossier médical du patient est consulté pour remplir les informations cliniques. Un interrogatoire minutieux est mené auprès des patients sélectionnés dans notre étude pendant une entrevue durant 10 à 15 minutes. Ceci permis de définir les paramètres

personnels et familiaux suivants : l'âge, le sexe, les antécédents personnels et familiaux du cancer colorectal, d'autres cancers, de consanguinité, d'agrégation familiale de cancer ainsi pour élaboration des arbres généalogiques à partir de l'histoire familiale.

2.2 Prélèvement sanguin

Le prélèvement sanguin est effectué selon les critères d'inclusions dans notre étude si le patient est consentant. Le prélèvement se fait dans un tube à EDTA (4-8 ml). Chacun des doit être identifié. Les tubes sont préservés pour l'extraction de l'ADN, au sein du laboratoire de biochimie CHUC, en vue de l'étude moléculaire.

3. Étude moléculaire

Notre étude moléculaire s'est effectuée selon deux étapes : une étape d'extraction de l'ADN suivit d'une PCR (polymérase chaine reaction digestion) pour la rechercher le polymorphisme I/D du gène de l'ECA.

3.1 Extraction d'ADN

Pour réaliser les études génétiques, des échantillons d'acide nucléique doivent être fourni, la source majeure d'ADN est contenue dans les leucocytes sanguins, les autres sources cellulaires peuvent être des biopsies (biopsie de villosités choriales ...).

Nous avons employé la méthode d'extraction utilisant du Na Cl à la place du phénol-chloroforme habituellement utilisé dans les méthodes classiques d'extraction d'ADN.

- **Principe**

Les leucocytes sont séparés dans le sang total par lyse hypotonique et traités ensuite par un détergent (SDS) et une protéinase K. L'ADN nucléaire est libéré dans le milieu et les protéines qui lui sont associés sont digérées et éliminées par précipitation au NaCl. La pelote d'ADN est formée dans le surnageant par précipitation avec l'éthanol pur (Annexe 7)

3.2 Recherche du Polymorphisme I/D de l'ECA

Le polymorphisme I/D de l'ECA a été mis en évidence par la détection de la présence (allèle I, insertion) ou de l'absence (allèle D, délétion) d'une séquence de 287-pb dans l'intron 16 du gène de l'ECA par une technique de PCR classique suivie d'une digestion enzymatique et une électrophorèse sur gel d'agarose.

- **Amplification par PCR**

La PCR, réaction de polymérisation en chaîne (Polymerase Chain Reaction), est

une technique permettant d'obtenir, à partir d'un échantillon d'ADN, d'importantes quantités d'une séquence d'ADN spécifique. Cette amplification repose sur la réplication d'une matrice d'ADN double brin. Elle se réalise en trois phases : une phase de dénaturation, une phase d'hybridation avec des amorces et une phase d'élongation. Les produits de chaque étape de synthèse servent de matrice pour les étapes suivantes, ainsi on réalise une amplification exponentielle.

➤ **Préparation du milieu réactionnel de la PCR**

Un milieu réactionnel de la PCR ou un mix de PCR d'un volume final de 25µl a été préparé. Le mix comprend des désoxyribonucléotides triphosphates, une enzyme d'amplification in vitro (la Taq polymérase), un environnement réactionnel (tampon, MgCl₂, H₂O) et deux amorces oligonucléotidiques (tableau 2).

Tableau 2 : Amorces utilisées pour l'amplification du gène ECA.

Sens des amorces	Séquence nucléotidique
ECA 1R (Reverse)	5' CTG GAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT 3'
ECA 1F (Forward)	5' GAT GTG GCC ATC ACA TTC GTC AGA T 3'

Après avoir préparé le mix de la PCR (tableau 3), selon le nombre d'échantillon, nous avons pris 24µl de ce mélange avec 1µl d'ADN dans chaque tube de PCR pour chaque sujet.

Tableau 3 : Composants du milieu réactionnel de la PCR

Mix	Volume (µl)/tube de PCR
H ₂ O	16.1
dNTP (2 mM)	2
MgCl ₂ (1.5 mM)	2
Tampon 10X	2.5
ECA 1F (20 pmol/l)	0.5
ECA 1R (20 pmol/l)	0.5
Taq polymérase(biomatik)	0.4
Total du volume	24
ADN	1

➤ **Déroulement des cycles de la PCR**

Le déroulement des cycles de la PCR est assuré par un thermocycleur et les conditions d'amplification étaient comme suit : une dénaturation initiale à 94 °C pendant 1 minute, suivie de 30 cycles de PCR, comprenant chacun une dénaturation à 94 °C pendant 30 secondes, une hybridation à 65,8 °C, une élongation à 72 °C pendant 1 minute et enfin une élongation finale à 72 °C pendant 8 minutes (tableau 4).

Tableau 4 : Conditions d'amplification de la PCR.

Nombre de cycles	Étapes	Température (°C)	Durée
X1	Dénaturation initiale	94	1 min
X30	Dénaturation	94	30 s
	Hybridation	65.8	1 min
	Élongation	72	1 min
X1	Élongation finale	72	8 min

3.3 Contrôle des produits de la PCR

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

Le contrôle de la PCR s'effectue sur un gel d'agarose à 2 %. Le gel est préparé en mélangeant 2 g d'agarose et 100 ml du TBE 1X (Tris Borate EDTA) (Annexe 8). Additionné de 10 µl du BET (Bromure d'éthidium). Le gel est déposé sur une plaque d'une cuve horizontale où l'on a déposé un peigne. Nous laissons le gel se polymériser à l'air libre.

➤ **Migration électrophorétique et révélation de la PCR**

En fonction des génotypes, les sujets ont été classés : homozygotes II, hétérozygotes ID et homozygotes DD du gène ECA été faite par migration électrophorétique des produits de PCR sur gel d'agarose à 2%, contenant de BET (Bromure d'éthidium).

Dans chaque puits du gel, nous déposons 10 µl de produit d'amplification en présence de 2 µl d'un tampon de charge qui permet d'alourdir les fragments et de suivre le front de migration. Parallèlement un échantillon sans ADN (blanc), est inclus dans la série à amplifier et sert de contrôle négatif (-) Un marqueur de poids moléculaire 100 pb est déposé dans le dernier puit pour déterminer approximativement la taille des fragments. Le dépôt se fait du côté cathode (-) et le système est soumis à une migration sous un courant

de 100 volts pendant 45 minutes.

Après la migration, le gel est soumis au rayon UV. Les molécules de Bromure d’Ethidium fixées aux ADN émettent une lumière visible et photographiable et permettent de visualiser les fragments amplifiés sous forme de bandes fluorescentes de même taille. Ce contrôle permet aussi de confirmer l’amplification de notre ADN et d’exclure toute contamination d’ADN survenue au cours de la PCR grâce au puits contenant le blanc.

➤ **Profil électrophorétique**

Les amplimères du gène de l’ACE de migration sur gel d’agarose à 2% sont visualisés sous lampe UV par fluorescence au BET. La taille des bandes attendues est de 490 pb dans le cas de l’insertion et 190 pb dans le cas de la délétion et dans le cas d’hétérozygote représente deux bandes de 190 et 490 pb, ce qui nous permet d’identifier les trois génotypes : II, ID et DD (Figure 09).

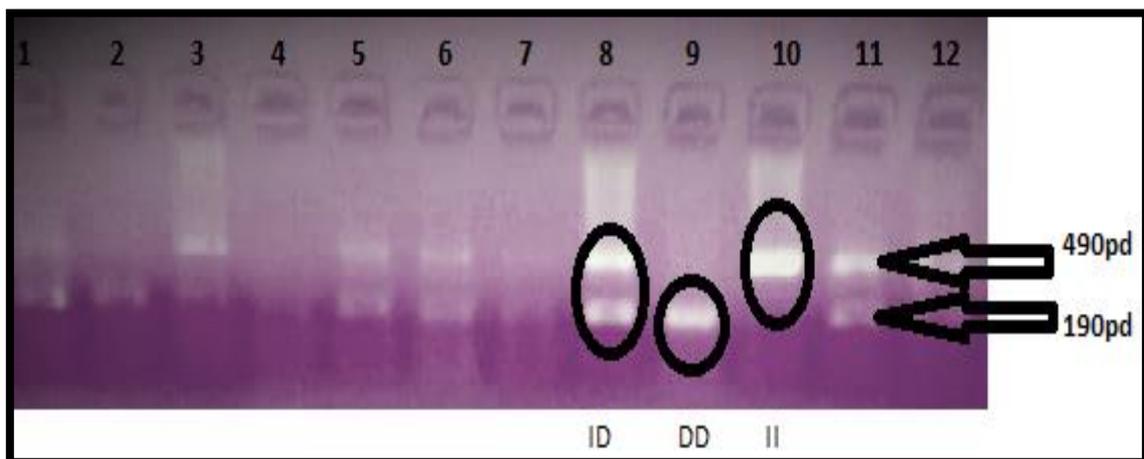


Figure 09 : Profil électrophorétique des fragments amplifiés par PCR du gène *ECA* sur gel d’agarose 2%.

4-Analyses statistiques

a- Calcul de l’odds ratio

Pour calculer l’odds ratio nous avons établi un tableau de contingence, il est présenté sous forme de tableau croisé 2×2. Le statut malade/non malade des sujets de l’étude est présenté en colonne et le caractère exposé/non exposé en ligne (Tableau 5) (Figure 10).

Tableau 5: Tableau de contingence pour le calcul de l'odds ratio

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

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

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

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

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

b- Moyenne arithmétique

C'est le paramètre de tendance centrale, c'est l'un des mesures qui localisent le centre d'une distribution. La moyenne est utilisée pour caractériser complètement une série statistique, on calcule la moyenne comme suit :

$$\bar{X} = \frac{\sum n_i x_i}{N} \quad \text{si } N > 30$$

ni : la fréquence ; xi : l'effectif

$$= \frac{\sum n_i x_i}{N-1} \quad \text{si } N \leq 30$$

c- Ecart type

Les valeurs d'une série statistique ont tendance à s'étaler plus ou moins autour de la moyenne ou de toute autre mesure de la tendance centrale (le mode ou la médiane). Cet étalement des valeurs caractérise la variabilité de la série.

Nous avons donc besoin, de paramètre de dispersion, qui vont permettre d'estimer dans quelle mesure les observations s'écartent de la tendance centrale tel que : l'écart type.

$$\delta = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{X})^2}{N}} \quad N > 30$$

$$\delta = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{X})^2}{N-1}} \quad N \leq 30$$

d- Les intervalles de confiance (IC)

Les intervalles de confiance ont été calculés par la méthode de Cornfield. L'approche estimative de l'analyse statistique vise à quantifier l'effet étudié et le degré de Certitude de cette estimation grâce à un intervalle de confiance, qui identifie généralement une fourchette de valeurs situées de part et d'autre de l'estimation et l'on peut être sur à 95% de trouvé la valeur réelle. La notion d'un intervalle de confiance repose sur l'idée suivante : Si la même étude était réalisée sur un échantillon différent de patients, les résultats ne seraient pas identiques, mais Seraient proches du résultat véritable qui reste inconnu .l'intervalle de confiance estime cette variation due à l'échantillon.

e- Choix de la "p value"

Le seuil critique a priori est de 0.05 (risque) .Si la valeur de p calculée à posteriori est inférieure à ce seuil, la différence entre les paramètres est déclarée statistiquement significative pour apparemment arbitraire est nécessaire pour l'homogénéité de la présentation des résultats. L'usage a retenu de manière consensuelle l'ensemble des seuils (0.05, 0.01, 0.001) qui représentent des risques raisonnables pour prendre une décision. Le seuil 0.01 doit être choisi lorsqu'en complément d'une étude épidémiologique descriptive, on teste le lien entre deux variables sans que l'on puisse a priori argumenter quand il existe une relation logique entre ces variables.

Dans notre étude on a utilisé le logiciel « statistiques médicale et épidémiologiques » pour

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

Figure 10 : Le logiciel « statistiques médicales et épidémiologiques » [w7]

Résultats et discussion

1- Etude rétrospective

1-1- Fréquence de cancer colorectal par rapport aux cancers digestifs dans la région de Constantine

Selon les registres des années 2016, 2017 et 2018 du service épidémiologie de CHU de Constantine : en 2016 il y a un 100 cas de cancers colorectal par rapport au 184 cas de cancer digestif, soit 54.35% de CCR

En 2017 il y a un 100 cas de cancers colorectal par rapport au 204 cas de cancer digestif, soit 49.02% de CCR.

En 2018 il ya un 85 cas de cancers colorectal par rapport au 158 cas de cancer digestif, soit 53.80% de CCR, les résultats obtenus sont représentés dans la (Figure 11).

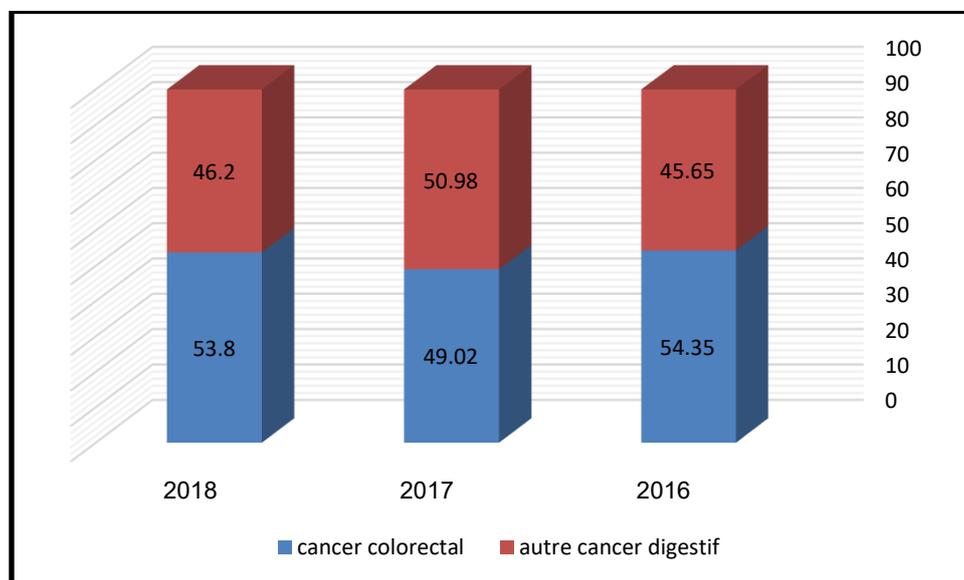


Figure 11 : les fréquences du cancer colorectal par rapport au cancer digestif

On constate, pendant une période de [2016- 2018] sur la population constantinoise, que le pourcentage de cancer colorectal est le plus fréquent parmi le cancer digestif.

Cette répartition est en accord avec l'étude épidémiologique de (Abid et Berkan, 2009); une étude rétrospective à Batna, montre que le cancer colorectal présente le taux le plus élevé (43,47 %) parmi des cancers digestifs. Une autre étude en Maroc montre que le cancer colorectal représente un taux de 35.68% des cancers digestifs (Hanan R. 2009).

A Madagascar le cancer colorectal et représente le cancer digestif le plus fréquent. Contrairement à l'étude de Niger de 1992 à 2009 qui montre que le cancer colorectal se place en 2eme rang (28.8%) (Soulaymani et al, 2009).

1-2- Répartition des sujets selon l'âge et le sexe

- **Les sujets témoins**

Les sujets témoins sont au nombre de 37 répartis entre (Figure12) :

- 14 du sexe masculin soit 37.83%.

- 23 du sexe féminin soit 62.16%.

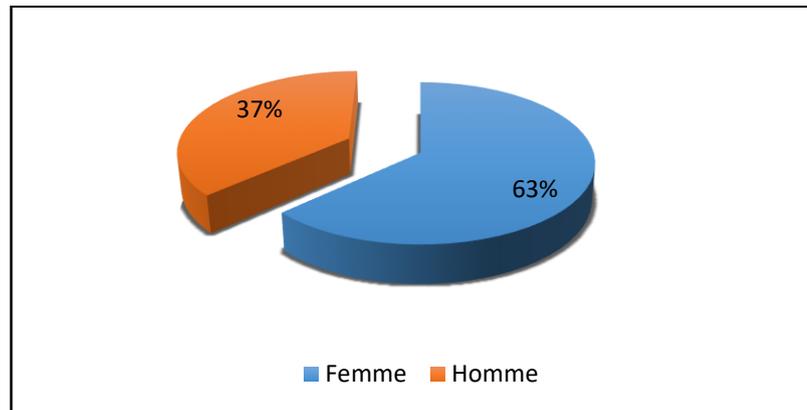


Figure 12 : Répartition des témoins selon le sexe.

Ces témoins sont classés en tranches d'âge de 10 ans sauf pour les plus de 60 ans qui sont classés en une seule tranche (Tableau 6) (Figure 13).

Tableau 6 : la répartition des sujets témoins selon l'âge et le sexe

Âge	Hommes		Femmes		Total	
	N	%	N	%	n	%
] 20-30]	3	21.42	8	34.78	11	29.72
] 30-40]	4	28.57	6	26.08	10	27.02
] 40-50	1	7.14	5	21.73	6	16.21
] 50-60]	3	21.42	2	8.69	5	13.51
≥60	3	21.42	2	8.69	5	13.51
Total	14	100	23	100	37	100

n : nombre , % : fréquence

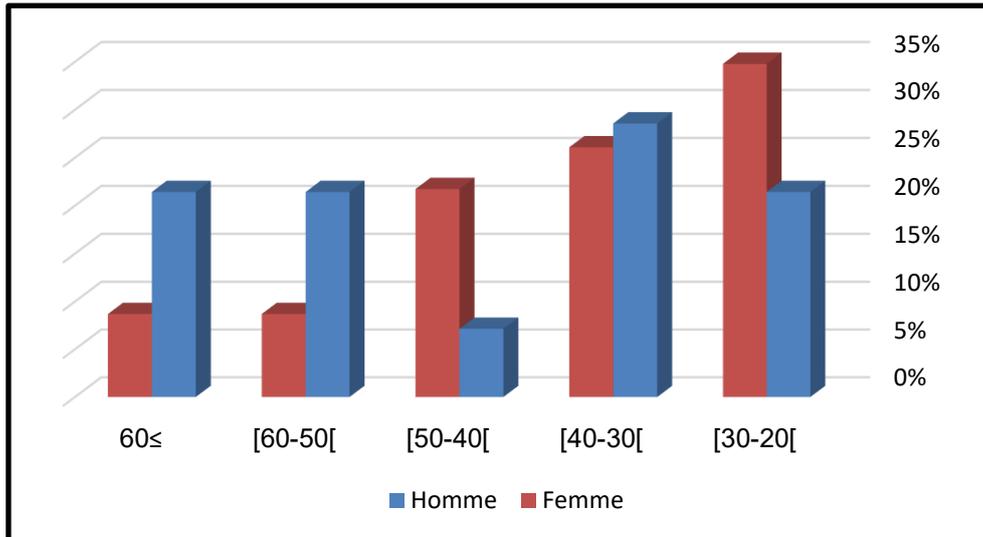


Figure 13: Répartition des témoins selon l'âge et le sexe.

- Les sujets malades

Les sujets malades présentant un CCR sont au nombre de 30 (figure 14) répartis entre -19 de sexe masculin soit 63.33 %.

-11 de sexe féminin soit 36.67 %.

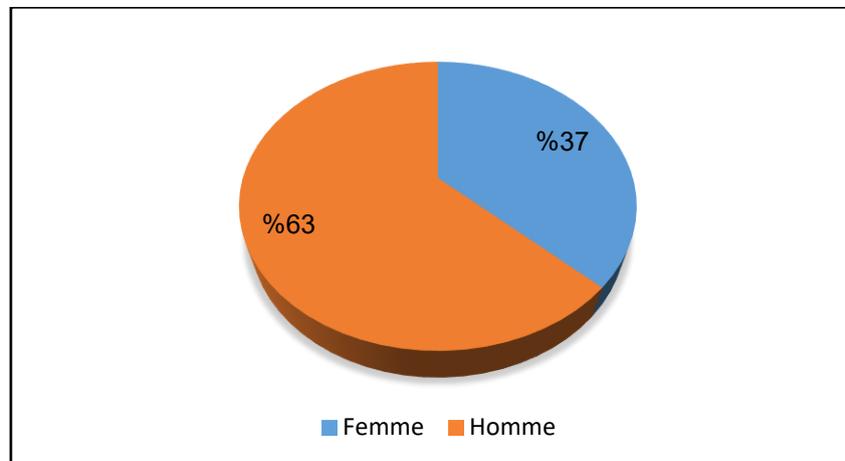


Figure 14 : La répartition des sujets malade selon le sexe.

On observe que les hommes et les femmes représentent 63.33% et 36.67% respectivement (Figure 20), notant une prédominance d'atteinte du cancer colorectal chez les hommes que chez les femmes avec un sexe ratio de 1,72. Ce résultat concorde avec la plupart des travaux qui ont observé une prédominance masculine pour ce cancer Tel que les travaux de (Sedkaoui, 2015), et (Tebibel et al., 2013), indiquant une légère prédominance masculine

avec des sex-ratios de 1,8 et 1,7 et 1,99 respectivement. Ces données convergent avec l'étude marocaine qui a enregistré une prédominance masculine (51.3%) (Hafid, 2012).

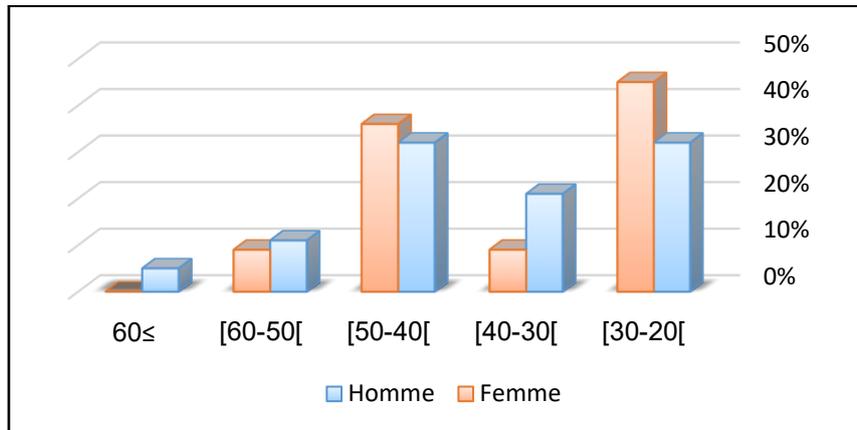


Figure 15 : Répartition des patients atteints SL selon le sexe et l'âge de diagnostic.

Dans notre étude le cancer colorectal, survient à un âge plus précoce chez les femmes. Les tranches d'âge entre de 20 et 50 ans (86.76%) sont les plus touché par le CCR, alors que la moyenne d'âge est de 39.8 ans. On observe une diminution de la fréquence du cancer colorectal après 50 ans chez les deux sexes, puisque le syndrome de Lynch est caractérisée par une atteints précoce du CCR (Figure 15).

Ces résultats convergents avec la plupart des travaux de syndrome de Lynch dans l'étude de 2016 de notre population à l'Est algérien (Ziada, 2016) ainsi à plusieurs populations où l'âge median des patients ne dépasse pas 40 ans (Lynch et al.2008 ; Moussa et al., 2011; Par contre nos résultat ne convergent pas avec d'autres travaux qui montrent que le CCR augmente avec d'âge pour les deux sexe et notamment après l'âge de 50 ans (INCA, 2011). et Tebibel et al (2014), et rare avant l'âge de 50 ans où il ne représente que entre 1 et 4 % (O'Connell et al., 2003)

2-Répartition des sujets malades selon les caractéristiques cliniques

2-1 Selon la localisation de la tumeur

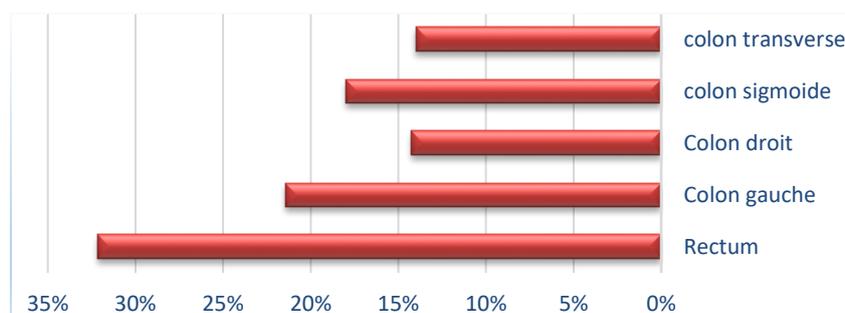


Figure 16: Répartition des patients selon la localisation de la tumeur

Dans notre étude on note une prédominance au niveau du rectum (32.21%) suivi du colon gauche (21.42%), le colon sigmoïde de 5 cas (17.85%), puis colon droit et transverse 4 cas (14.28%) (Figure 16). On observe que le rectum est plus affecté par le cancer dans notre recherche en accord avec certaines études, (Sedkaoui, 2015) et (Housse et al., 2015) Cependant l'étude de (Mallem, 2010) montre que le cancer du côlon sigmoïde occupe la première place. Ainsi l'étude de (Tebibel, 2014) et les résultats statistiques de la wilaya de Béjaïa 2014 et 2015 indiquent que le cancer colique est plus dominant que le cancer rectal.

2-2 Selon le stade TNM

Pour la classification selon le stade TNM nous n'avons pu obtenir que les information de seulement 18 patients parmi les 30. La distribution de nos patients selon ces stades est illustrée dans la (Figure 17).

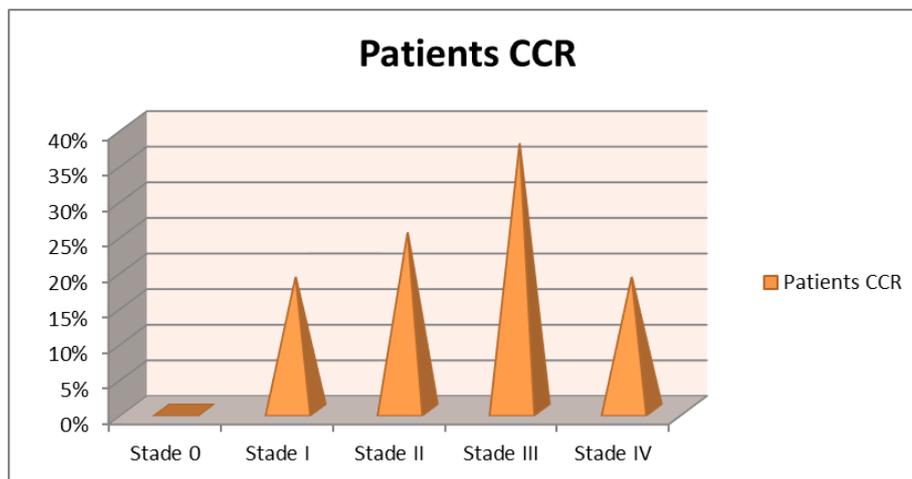


Figure 17 : Répartition des sujets malades selon le stade TNM.

A partir de ces résultats on distingue quatre stades notés de à IV. D'après cette classification, la population étudiée présente une prédominance du stade III avec une fréquence de 37.5% suivi du stade II à 25 %, la fréquence du stade I et du stade IV est de 18.75%, aucun de nos patients étudiés n'appartient de stades 0.

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

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

Ces résultats s'expliquent par plusieurs causes :

- A cause d'absence de signes généraux de la maladie, par négligence, absence de douleur, manque de motivation, la peur du résultat, et une insuffisance d'informations, les patients arrivent aux centres cliniques à un stade tardif.
- Une survenue précoce du syndrome de Lynch dont le risque élevé de CCR n'est pas tant liée à l'initiation de la cancérogenèse qu'à une accélération de la séquence adénome-carcinome (Lynch et Chapelle, 1999). Dans le syndrome de Lynch, un adénome peut se transformer en adénocarcinome en l'espace de 2 à 3 ans, contre 8 à 10 ans chez une personne dans la population générale (Grady et Carethers, 2008).
- Les malades qui ne respectent pas une surveillance régulière, augmente pour eux le risque de récurrence.
- Il n'y a pas de compagnie médicale et sociale de dépistage et de prévention.

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

2-3 Répartition des patients par rapport aux critères d'Amsterdam et de Bethesda.

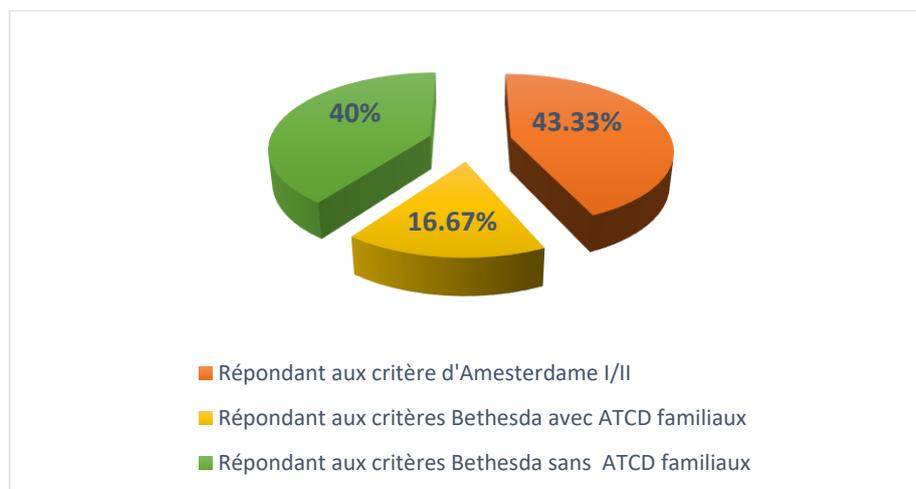


Figure 18 : Répartition des cas SL selon les critères d'Amsterdam I/II et de Bethesda avec ou sans antécédents familiaux.

Dans notre étude, nous avons classé les patients ayant le cancer colorectal en fonction des informations généalogiques obtenues sur questionnaire en patients répondant aux critères d'Amsterdam I / II ou Bethesda. Il faut noter que ces critères de reconnaissance du syndrome HNPCC ne sont pas pris en compte en pratique clinique du fait de leur rareté chez les patients atteints de CCR .

Nous avons réparti nos patients selon ces critères en trois groupes :

- ✓ Patients répondants aux critères complets d'Amsterdam I.
- ✓ Patients répondants aux critères de Bethesda avec antécédents familiaux.
- ✓ Patients répondants aux critères de Bethesda sans histoire familiale tumorale mais le diagnostic a été établi avant l'âge de 45 ans .

La répartition des cas SL selon les critères d'Amsterdam I/II et de Bethesda révisés avec ou sans antécédents familiaux est illustrée dans la (Figure 18).

D'après nos résultats, les critères d'Amsterdam I/II sont présents un taux de 43.33% de nos familles ayant un CCR, cette fréquence concorde les travaux qui ont trouvé dans les familles tunisiennes (38,7%) (Moussa et al., 2011). Par contre, cette fréquence est plus importante par rapport à celle retrouvée dans autre étude effectuée dans la même région l'Est de l'Algérie (15%) (Ziada, 2016).

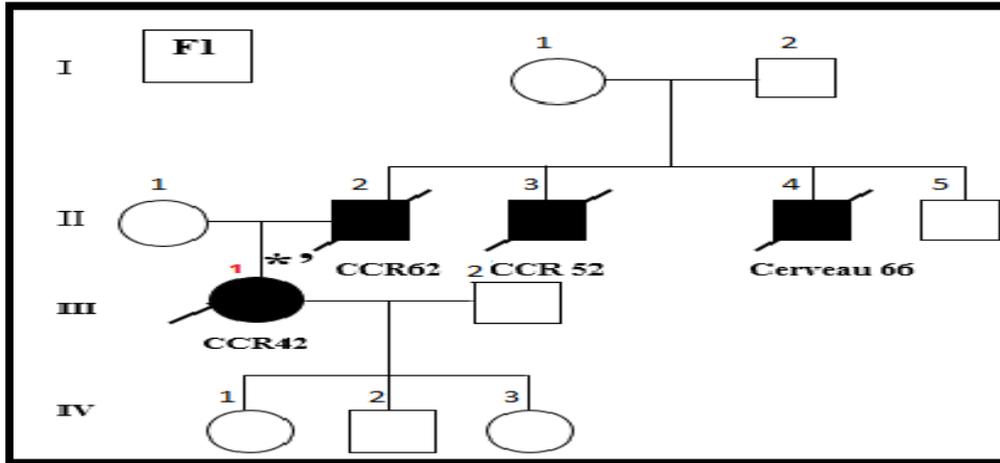
Les critères de Bethesda représentent la majeure partie de notre population d'étude avec une fréquence de 56.66% répartie en 40% et 16.66% correspondant aux jeunes patients moins de 40 ans sans histoire familiale de cancers. Ces critères se trouvent dans 58,1% des familles chez les tunisiens (Moussa et al., 2011).et 85% des familles chez les Algériennes (Ziada et al., 2016).

Nos résultats avec les critères de Bethesda sont corroborés par les travaux de (Hampel et al., 2008) (72%) et (Zahary et al., 2012) (100%).

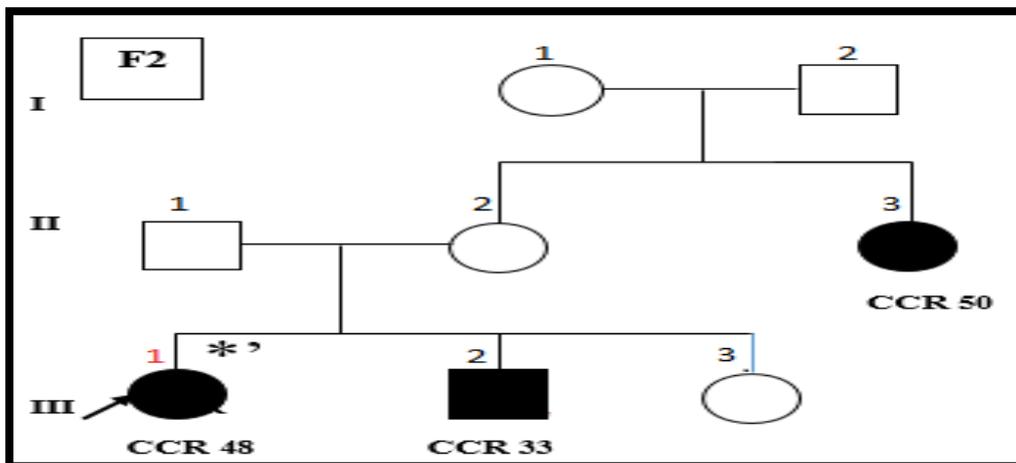
Il ne faut pas se baser uniquement sur la présence des critères d'Amsterdam pour reconnaître une suspicion de syndrome HNPCC. Les autres cas ne présentant pas ces critères ne doivent pas être négligés car la spécificité de ces critères est de 46 à 68 % avec une sensibilité de 78 %. Pour améliorer la sensibilité de détection des patients porteurs d'une mutation délétère sur un gène MMR parmi la population atteinte de cancer, d'autres critères ont été définis (critères de Bethesda 1), puis biologiques (critères de Bethesda 2).

Ceux-ci permettent d'améliorer la détection des patients atteint d'un CCR dans le cadre du syndrome HNPCC portant dans 70% des cas une altération constitutionnelle d'un gène

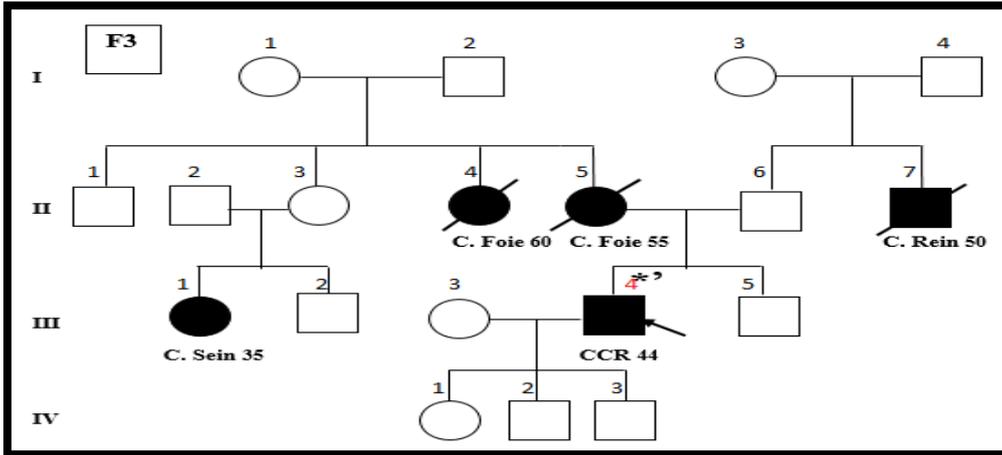
MMR (Carneiro da Silva et al., 2015) avec recherche d'une instabilité génomique au sein des tumeurs (phénotype MSI pour microsatellite instability), mais ils ne sont pas spécifiques par ce que le statut MSI est présent sur 15 % des tumeurs sporadiques. Donc tout patient répondant aux critères d'Amsterdam ou Bethesda devrait avoir un test génétique pour confirmation (INCA 2011).



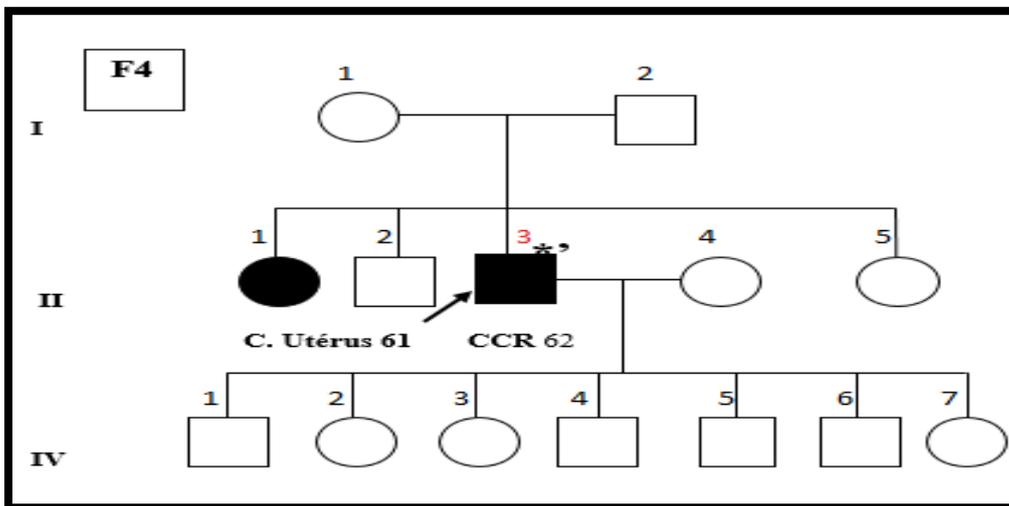
Arbre généalogique de la famille F1 porteuse le SL.



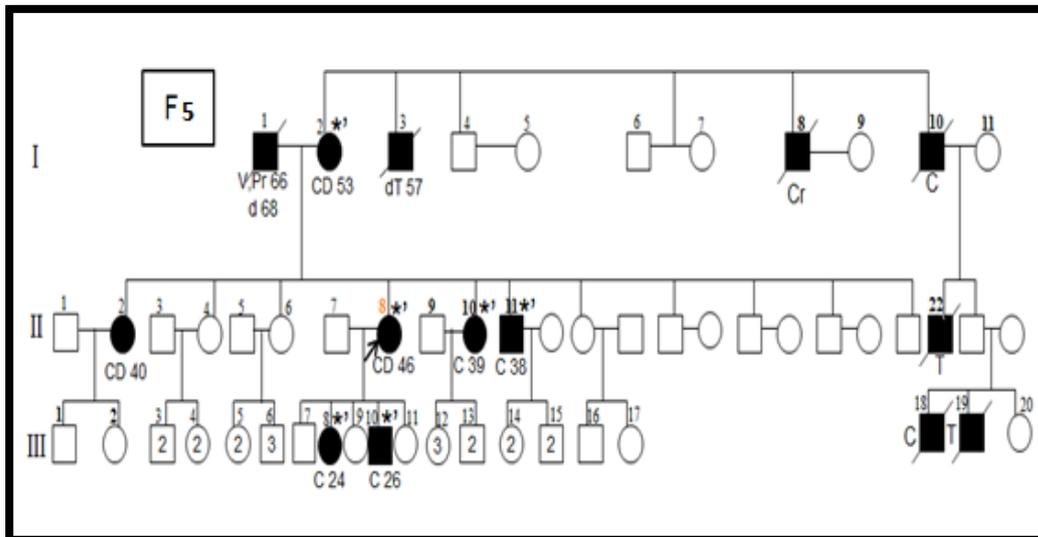
Arbre généalogique de la famille F2 porteuse le SL.



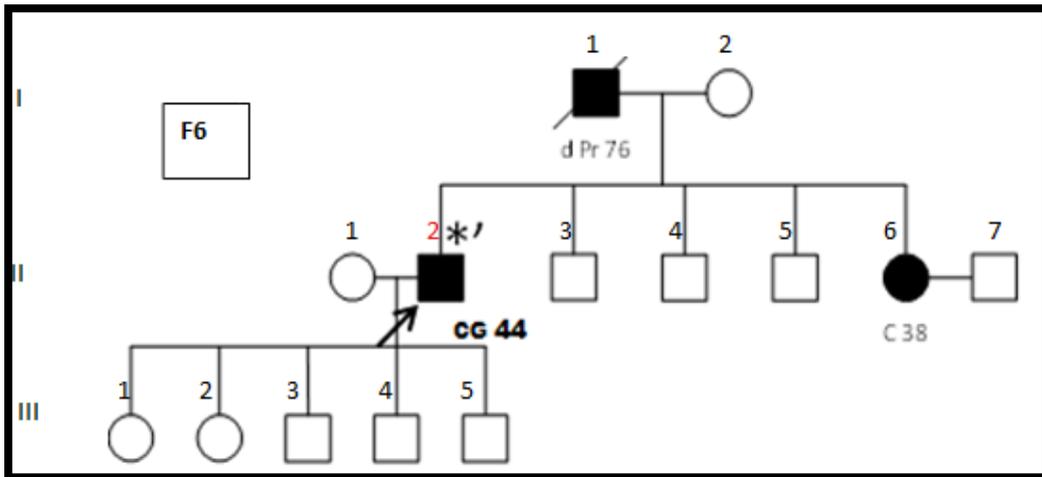
Arbre généalogique de la famille F3 porteuse le SL.



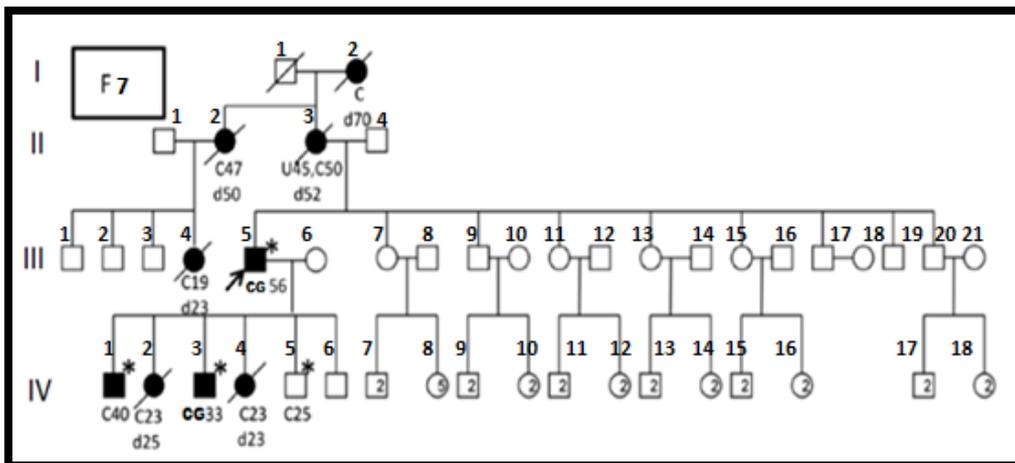
Arbre généalogique de la famille F4 porteuse le SL.



Arbre généalogique de la famille F5 porteuse le SL.



Arbre généalogique de la famille F6 porteuse le SL.



Arbre généalogique de la famille F7 porteuse le SL.

Nous observons sept familles dans notre étude répondant aux critères d'Amsterdam avec des antécédents familiaux. Selon les arbres généalogiques de ces famille nous constatons que ces cancers se transmettent selon le mode autosomique dominant avec une pénétrance incomplète et le type de cancer le plus rependant est le CCR.

- La famille F1 est répondante aux critères d'Amsterdam II. le cas index (III 1) représente un CCR, avait 44 ans au moment de son diagnostic, trois autres membres de cette famille ayant un cancer.

- La famille F2 est répondante aux critères d'Amesdardam II. Le cas index (III 1) représente un CCR avait 48 ans au moment de son diagnostic, deux autre membre de cette famille ayant un cancer.
- La famille F3 est répondante aux critères d'Amesdardam II. Le cas index (III 4) représente un CCR avait 44 ans au moment de son diagnostic, quatre autre membre de cette famille ayant un cancer.
- La famille F4 est répondante aux critères d'Amesdardam II. Le cas index (II 3) représente un CCR avait 61 ans au moment de son diagnostic, avec un seul membre de la famille atteint de cancer.
- La famille F5 est répondante aux critères d'Amesdardam II. Le cas index (II 8) représente un CCR avait 44 ans au moment de son diagnostic, quatre autre membre de cette famille ayant un cancer.
- La famille F6 est répondante aux critères d'Amesdardam II. Le cas index (II 2) représente un cancer de colon gauche avait 44 ans au moment de son diagnostic, deux autre membre de cette famille ayant un cancer.
- La famille F7 est répondante aux critères d'Amesdardam I. Le cas index (III 5) représente un cancer de colon gauche avait 56 ans au moment de son diagnostic, huit autre membre de cette famille ayant un cancer.

3- Etude analytique des profils génotypiques et alléliques du polymorphisme I/D du gène ECA

Notre analyse moléculaire vise à rechercher une éventuelle corrélation entre le polymorphisme I/D du gène ECA et le risque de développer un CCR de type syndrome Lynch.

Le polymorphisme I/D du gène ECA indique la présence de formes délétères ou insérées pour une séquence de 190 Pb montre l'existence de deux allèles : I (Insérée) de 490 Pb et D (Déleté) de 190 Pb, donc on a Trois génotypes sont possibles, deux homozygotes (II et DD) et un hétérozygote (ID) (Bossé, 2001).

3-1 Répartition des fréquences génotypiques du polymorphisme I/D du gène ECA

Les fréquences génotypiques ont été calculés pour les malades et les témoins (Tableau 7) (Figure 19).

Tableau 7 : répartition des fréquences génotypiques du polymorphisme I/D du gène ECA

	Témoins		CCR	
	N	%	N	%
I/I	2	6.45	1	3.33
I/D	16	51.61	11	36.67
D/D	13	41.93	18	60
Total	31	100	30	100

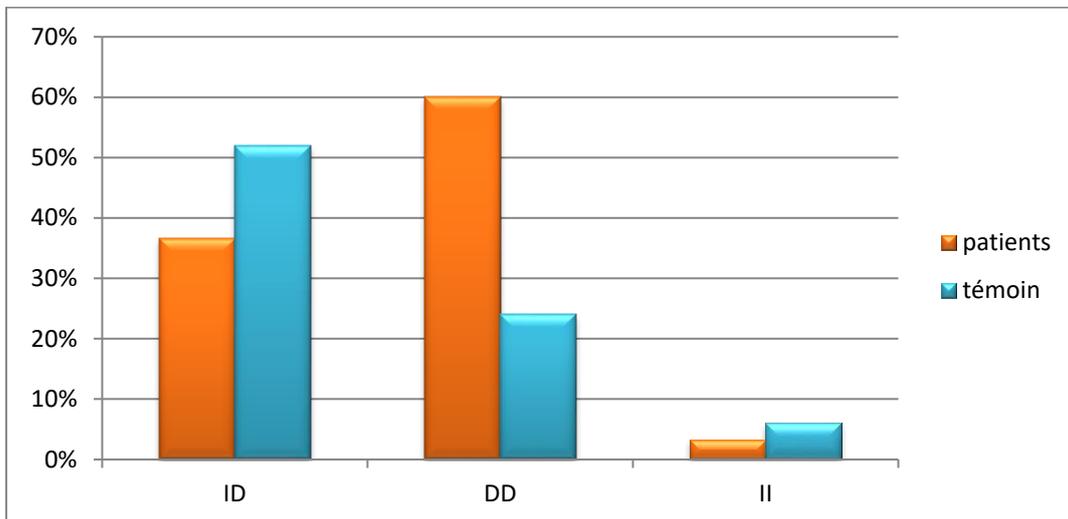


Figure 19 : fréquence génotypique d'I/D du gène ECA chez les patients et les témoins

Nos résultats montrent une fréquence élevée du génotype I/D considéré comme le génotype normal chez les témoins 51.61 %, alors que le génotype D/D est présent par 60% chez les cas CCR par rapport à 41.93% chez les témoins.

Dans une étude de la Population du Cachemire qui a été réalisée sur 86 patients atteints du CCR contre 150 sujets de contrôle pris de la population générale dans laquelle il a été observé que la fréquence du génotype DD était 41.86 % (36/86) ; II 13.95 % (12/86) et DI 44.2 % (38/86) chez les patients avec CCR, qui ont été converger avec les fréquences rapportées par d'autres auteurs(Sameer, 2010). Cependant statistiquement il n'y avait aucune association significative entre le polymorphisme I/D et le CCR (Sameer, 2010).

3-2 Répartition des fréquences alléliques du polymorphisme I/D de l'ECA

Tableau 8 : Répartition des fréquences alléliques du polymorphisme I/D de l'ECA

	I		D		Total
	Nombre	%	Nombre	%	
Témoins	10	32.25	21	67.74	31
CCR	6.5	21.67	23.5	78.33	30

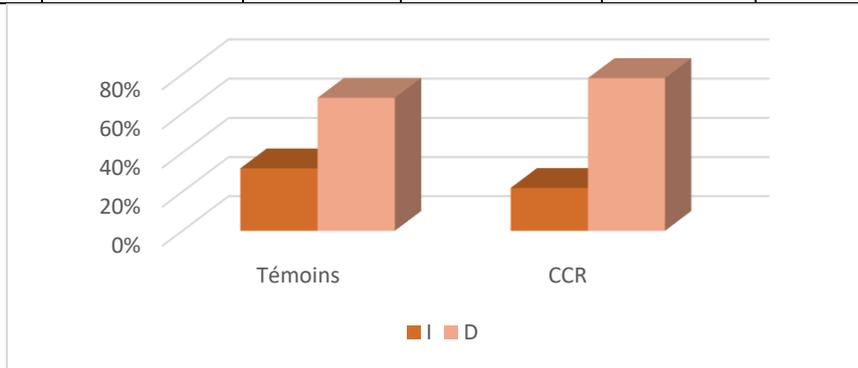


Figure 20 : répartition des fréquences alléliques du polymorphisme I/D du gène ECA

On distingue que les fréquences alléliques sont presque similaires chez les deux populations, et la fréquence de l'allèle D est plus importante que celle de l'allèle I.

La fréquence de l'allèle D est de 67.74% chez les témoins et est de 78.33 % chez les cancéreux, Cependant l'allèle I présente une proportion de 32.25% chez les témoins et de 21.67 % chez les cancéreux. (Tableau 8) (Figure 20).

Des études sur les populations japonaises et caucasiennes trouvent les fréquences alléliques D 37.2%, 56.5% respectivement (Kuznetsova et al., 2000). On constate que la fréquence des allèles varie considérablement entre les populations et ce marqueur génétique, transmis de façon codominance, serait responsable d'environ 50% de la variabilité interindividuelle de la concentration plasmatique de l'ACE (Rigat et al., 1990).

3-3 Polymorphisme du gène ECA et risque de CCR

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

Tableau 9 : Corrélation entre le polymorphisme I/D de l'ECA et le risque de CCR

	Témoins		CCR		OR (IC 95%)	P
	n	%	n	%		
I/I	2	6.45	1	3.33	0.35	0.50
I/D	16	51.61	11	36.67	0.54	0.30
D/D	13	41.93	18	60	2.08	0.20
Total	31	100	30	100		
I	20	23.26	13	21.66	1.54	0.30
D	42	67.74	47	78.33	0.58	0.20
Total	62	100	60	100		

P <0,05

D'après nos résultats traités statistiquement par les calculs de l'odds ratio à un intervalle de confiance de 95% , X² (Khi carré ou chi carré) représente un test de liaison et Coefficient Q de Yule (Tableau 10) ne montre aucune différence significative des génotype DD ,II et ID (p =0.20 ,p =0.50 , p =0.30) entre les groupes des patients et les témoin. Ce qui suggère une absence d'association entre le polymorphisme I/D de l'ECA et le risque la maladie du SL du CCR dans notre travail.

Nos résultats concordent avec celles d'autres chercheurs qui ont montré une absence d'association entre le polymorphisme I/D de l'ECA et le risque de CCR dans la population roumaine (Toma et al., 2009) ; la ; la population de la Grèce (Nikiteas et al., 2007); et la population Cachemirienne (Sameer, 2010).

Ces résultats étaient semblables à une étude où aucune relation n'a été trouvée entre le polymorphisme I/D et le risque du développement CCR (Toma et al., 2009) (Nikiteas et al., 2007). Cependant, selon une étude qui a été appliqué sur l'ADN génomique de 241 patients de CCR et 299 sujets de contrôle qui ont précédemment inscrit entre Avril 2008 et octobre 2010 dans la population chinoise et étudiés par l'application de l'analyse de

réaction en chaîne de polymérase PCR : Les résultats obtenus indiquent que le polymorphisme I/D est susceptible de jouer un rôle dans la progression du CCR et les sujets portant l'allèle D ont été associés à un risque accru de développer des cancers et des métastases mal différenciés par rapport à ceux qui portent l'allèle I (Liu et al., 2011).

3-4 Répartition des génotype de polymorphisme I/D de l'ECA selon les critères de Amesterdam I/II et Bethesda

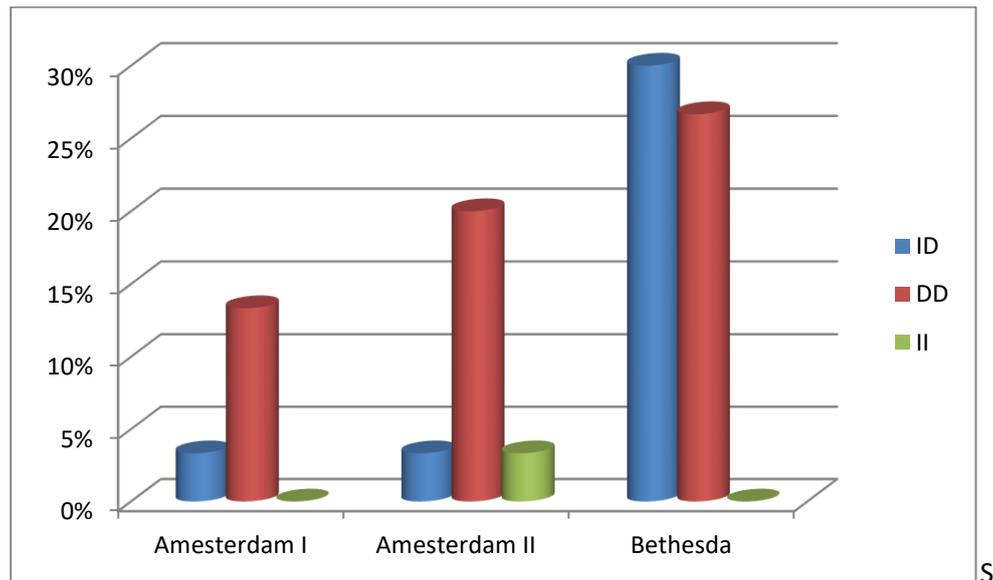


Figure 21 : Répartition des génotype de polymorphisme I/D de l'ECA selon les critères de Amesterdam I/II et Bethesda

Dans notre étude ont a 30 patients portent les génotypes DD, ID et II sont distribués selon trois critères. Dans les critères de Bethesda, le génotype ID est le plus élevé (28%), 26% de génotype DD, et 0% de II. Dans Les critère de Amesterdam I/II le génotype DD représente 13% et 18% respectivement , le génotype ID représente un taux de 3% dans Amesterdam I et II. Le génotype II représente 3% dans Amesterdam II et 0% dans Amesterdam I (Figure 21).

Conclusion et perspectives

L'identification des gènes de prédispositions dans les maladies complexes comme le cancer est un défi pour la génétique.

Le Syndrome de lynch est reconnu depuis plus d'un siècle comme impliqué dans un grand nombre de cancers, en particulier le cancer colorectal. Malgré ce recul, il reste méconnu du grand public et d'une partie non négligeable des professionnelles de santé.

L'étude des facteurs de risque et les marqueurs génétiques impliqués dans l'étiologie du cancer colorectal a fait l'objet de plusieurs études et travaux de recherches dans le monde.

Notre travail avait pour objectif de déterminer l'association de CCR héréditaire sans polypos avec le polymorphisme de l'ECA. Pour cela, nous avons réalisé une étude cas-témoin comprenant 30 cas CCR et 37 témoins, les résultats obtenus montrent une diminution de l'atteinte du CCR héréditaire sans polypos avec l'âge chez les deux sexes avec une prédominance masculin (63.33 %).

L'exploration génotypique du polymorphisme I/D de l'ECA nous a permis d'obtenir les répartitions des fréquences génotypiques respective chez les témoins et les patients CCR : (ID 51.61 %, II 6.45 % et DD 41.93%) et (ID 36.67%, II 3.33 %, DD 60 %) ainsi que les fréquences alléliques (I 32.25 %, D 67.74%) et (I 21.67 %,D 78.33 %) chez les témoins et les cas CCR respectivement. Nous pouvons observer une nette prédominance du génotype DD (56%) chez les sujets CCR par rapport aux témoins (41.93%) mais les tests statistiques effectués n'ont montré aucune différence significative ce qui indique qu'il n'existe pas d'association entre le polymorphisme de l'ECA et la survenue du CCR dans notre population étudiée.

Dans l'avenir, il serait mieux de :

Élargir le nombre des patients et de témoins afin pouvoir avoir de corrélations peut être significative entre ce polymorphisme et le CCR.

Évaluer la présence du risque de prédisposition génétique chez un patient atteint de cancer deviendrait impérative pour le suivi et la bonne prise en charge de ce patients et de ses apparenté.

Étudier d'autre polymorphisme dans d'autres gènes impliqués dans la carcinogénèse.

Références bibliographiques

- Abid, L., Berkane, S. (2009).Epidemiologie des cancers digestif.
- Abid, M. (2011). Cancer des colons.
- Alan, S. (1997). Lodich., Berk., Matsudaira. (2005).Biologie moléculaire de la cellule.
- Aleksandrowicz, J. (2016). Cancer colorectal. Pharmanetis Sàrl – Suisse Copyright creapharma.ch.
- Artavazd, T. (2009). Les récepteurs intracellulaires de l'angiotensine II: nouvelles cibles thérapeutiques pour le remodelage cardiaque. sciences biomédicales.
- Aurières, P., Aspar, J., and Aveline, L. (1999). Gastro-entérologie - Hépatologie (De Boeck Secundair).
- Balaguer, F., and Castells, A. (2007). Identification of Lynch syndrome: are we close to the best strategy? *Gastroenterology* 133, 353–355.
- Barthet. M. (2004). Surveillance endoscopique des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin Ipsen .
- Bertario, L., Russo, A., Sala, P., et al. (2001). Gentye and phenotype factors as determinants of desmoid tumors in patients with familial adenomatous polyposis. *Int J Cancer* 2, 633 -8.
- Boland, CR. (2006). Decoding hereditary colorectal cancer. *N Engl J Med* 354, 2815-7.
- Bossé, Y. (2001). INFLUENCE DU POLYMORPHISME INSERTION I DÉLÉTION DE L'ENZYME DE CONVERSION DE L'ANGIOTENSINE SUR LES EFFETS METABOLIQUES D'UN TRAITEMENT AU FIBRATE ET D'UN EXERCICE EN ENDURANCE. Laval.
- Boundedjar, A., Smaili, F. (2012). GROS PLAN sur le cancer colorectal, service d'oncologie médicale, Centre anti cancer de Blida. *Santé-Mag.* 03.
- Bouزيد, K. (2013). Cancer des chiffres record pour l'Algérie. *Santé-MAG.*
- Cambien, F., Alhenc-Gelas, F., Herberth, B., André, JL., Rakotovao, R., Gonzales, MF., Allegri, J., Bloch, C. (1988). Familial resemblance of plasma angiotensin-converting enzyme level: The Nancy Study. *Am J Hum Genet* 43, 774-778.
- Cambien, F., Poirier, O., Lecerf, L., Evans, A., Carn bou, JP., Arveiler, D., Luc, G., Bard, JM., Bara, L., Ricard, S., Tiret, L., Amouyel, P., Alhenc-Gelas, F., Soubrier, F. (1992). Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature* 359, 641-4.
- Carneiro da Silva, F., Ferreira, JR. de O., Torrezan, GT., Figueiredo, MCP., Santos, ÉMM., Nakagawa, WT., Brianese, RC., Petrolini de Oliveira, L., Begnani, MD., Aguiar-Junior, S., et al. (2015). Clinical and Molecular Characterization of Brazilian Patients Suspected to Have Lynch Syndrome. *PLoS One* 10, e0139753.
- Chan, KK., Dassanayake, B., Deen, R., Wickramarachchi, RE., Kumarage, SK., Samita, S., and Deen, KI. (2010). Young patients with colorectal cancer have poor survival in the first twenty months after operation and predictable survival in the medium and long-term: analysis of survival and prognostic markers. *World J. Surg. Oncol* 8, 82.
- Cohen, S.A., and Leininger, A. (2014). The genetic basis of Lynch syndrome and its implications for clinical practice and risk management. *Appl. Clin. Genet.* 7, 147–158.
- Compton, CC., Fielding, LP., Burgart, LJ., Conley, B., Cooper, HS., Hamilton, SR., Hammond, ME., Henson, DE., Hutter, RV., Nagle, RB., et al. (2000). Prognostic factors in colorectal cancer.
- College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch. Pathol. Lab. Med* 124, 979–994.
- de la Chapelle, A. (2004). Genetic predisposition to colorectal cancer. *Nat Rev Cancer* 4:769-80.
- Dukes, C. E. (1932). The classification of cancer of the rectum. *Pathol. Bacteriol.* 35(3), 323–332.

- Duval, A., Hamelin, R. (2003). Réparation des erreurs de réplication, microsatellites et cancer Med. Sci. (Paris) 19, 55-62.
- Erdos, EG., Skidgel RA. (1987) .The angiotensin 1-converting enzyme. Lab Invest 56, 345-8.
- Eslers, MRW., Fox, EA., Strydom, DJ., Riordan, JF. (1989). Molecular cloning of human testicular angiotensin-converting enzyme: the testis isozyme is identical- to the C-terminal half of endothelial angiotensin-converting enzyme. Proc Nat Acad Sei 86,7741-7745.
- Fabre, E., Spano ,JP., Atlan, D., Braud, AC, Mitry, E., Paniset ,FJ.(2000) .Cancer of the colon : an update. Bull. cancer 4, 5-20.
- Fearon, ER., Vogelstein, B. (1990). A genetic model for colorectal tumorigenesis 61, 759-767.
- Fearon, ER. (2011). Molecular genetics of colorectal cancer. Annu Rev Pathol 6,479–50.
- Ferlay, J., Steliarova-Foucher, E., Lortet-tienlent, J., and al (2013). Cancer incidence and mortality patterns in Europ: estimates for 40 countries in 2012. Eur. J. Cancer 49, 403.
- Gérémy, Ak. (2010). REGULATION DE L'ENZYME DE CONVERSION DE L'ANGIOTENSINE ET CARACTÉRISATION DU RÉCEPTEUR B! DES KININES AU NIVEAU DES CELLULES VASCULAIRES. Médecine Expérimentale pour l'obtention du grade de Philosophiae Doctor (Ph.D).
- Globocan, (2002).Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide.
- Grady, WM., and Carethers, JM. (2008). Genomic and epigenetic instability in colorectal cancer pathogenesis. Gastroenterology 135, 1079–1099.
- Grosclaude, P., Remontet, L., Belot, A., Danzon, A., Rasamimanana Cerf, N., and Bossard, N. (2013). Survie des personnes atteintes de cancer en France 1989-2007.
- Grandvall, P. (2012). Quand pense à un syndrome de lynch. 16/02/2012 Marseille 22p.
- Gryfe, R., Kim, H., Hsieh, ETK., Aronson, MD., Holowaty, EJ., Bull, SB., Redston, M, and Gallinger, S. (2000). Tumor Microsatellite Instability and Clinical Outcome in Young Patients with Colorectal Cancer. N. Engl. J. Med 342, 69–77.
- Hafid, I. (2012). Registre hospitalier des cancers résultats préliminaires du service d'anatomie pathologique CHU Hassan Fes.
- Hampel, H., Frankel, WL., Martin, E., Arnold, M., Khanduja, K., Kuebler, P., Clendenning, M., Sotamaa, K., Prior, T., Westman, JA., et al. (2008). Feasibility of Screening for Lynch Syndrome Among Patients With Colorectal Cancer. J Clin Oncol 26, 5783–5788.
- Hanan, R. (2009). Epidémiologie des cancers digestifs au CHU Mohammed vi de Marrakech 2003-3007.
- Hendriks, YMC., De Jong AE., Morreau, H., and al. (2006). Diagnostic Approach and Management of Lynch Syndrome (Hereditary Nonpolyposis Colorectal Carcinoma), a Guide for Clinicians. CA: Cancer Journal for Clinicians 56, 213-225.
- Haffen C. (2012). Surface luminale d'un polype villeux au niveau du côlon. Inserm.
- Housse, H., El, Ajbara, W., Amsaguine, S., El Amrani, N and al . (2015). Profils épidémiologique et anatomoclinique d'une population marocaine atteinte de cancer colorectal. African Journal of Cancer 2, 95-99.
- Hubert, C., Houot, AM., Corvol, P., Soubrier, F. (1991). Structure of the angiotensin I-converting enzyme gene: two alternate promoters correspond to evolutionary steps of a duplicated gene. J Biol Chem 266, 15377-15383.
- INCA. (2011). Epidémiologie du cancer colorectal en France métropolitaine.
- IARC .(2012). Dernières statistiques mondiales sur le cancer.

- Islamudin, A., Arry, Y., Kamarza, M., Abdul, M. (2017). Review of angiotensin-converting enzyme inhibitory assay: Rapid method in drug discovery of herbal plants. *Pharmacogn Rev* 11,1-7.
- Karoui, M., Tresallet, C., Brouquet, A., Ravanyi, H., Penna, C. (2007). Carcinogène colorectale : mécanismes génétiques et épigénétiques de la progression tumorale et classification moléculaire des cancers colorectaux 144, 97 -105.
- Kuznetsova, T., Staessen, JA., Wang, JG., et al. (2000). Antihypertensive treatment modulates the association between the DII ACE gene polymorphism and left ventricular hypertrophy: a meta-analysis. *J Hum Hypertens* 14, 447-54.
- Lynch, H.T., and Chapelle, A. (1999). Genetic susceptibility to non-polyposis colorectal cancer. *J Med Genet* 36, 801–818.
- Lynch, HT., Snyder, CL., Shaw, TG., Heinen, CD., Hitchins, MP. (2015). Milestones of Lynch syndrome: 1895-2015. *Nat Rev Cancer* 15, 181–94.
- Lang L. (2006). ACE inhibitors may reduce esophageal cancer incidence. *Gastroenterology* 131, 343-344.
- Laraqui, A. (2006). Etude des Facteurs Métaboliques et Polymorphismes Génétiques Prédisposant à la Survenue de l'Athérosclérose Coronaire. MOHAMMED V-AGDAL.
- Laurent-Puig, P., Agostini, J., and Maley, K. (2010). Colorectal oncogenesis. *Bull. Cancer (Paris)* 97, 1311–1321.
- Leggett, B., and Whitehall, VL. (2010). Role of the serrated pathway in colorectal cancer pathogenesis. *Gastroentérologie* 138, 2088–2100.
- Lian, M., Jiang, H., Wang, H., et al. (2015). Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion gene polymorphisms is associated with risk of glioma in a Chinese population. *Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System* 16, 443-447.
- Liu, S.-Y., Sima, X., Wang, C.-H., and Gao, M. (2011). The association between ACE polymorphism and risk of colorectal cancer in a Chinese population. *Clin. Biochem.* 44, 1223–1226.
- Ligtenberg, MJ., Kuiper, RP., Chan, TL., Goossens, M., Hebeda, KM., Voorendt, M., et al. (2009). Heritable somatic methylation and inactivation of MSH2 in families with SLT deletion of the 3' exons of TACSTD1 41, 112-7.
- Lefebvre, J. (2008). POLYMORPHISMES GÉNÉTIQUES ET VARIATIONS INTERINDIVIDUELLES DE LA RÉPONSE AUX AGENTS ANTIHYPERTENSEURS. UNIVERSITÉ LAVAL.
- Lüllmann-Rauch, R. (2008). Histologie (De Boeck Supérieur).
- Macrae, F., du Sart, D., and Nasioulas, S. (2009). Familial adenomatous polyposis. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol* 23, 197–207.
- Marchand, L., Hankin, JH., Wilkens, LR., et al. (2001). Combined effects of well-done red meat, smoking, and rapid N-acetyltransferase 2 and CYP1A2 phenotypes in increasing colorectal cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 10,1259-1266.
- Mattei, MG., Hubert, C., Alhenc-Gelas, F., Roeckel, N., Corvol, P., Soubrier, F. (1989). Angiotensin-I converting enzyme gene is on chromosome 17. *Cytogenet. Cell Genet* 51, 1041.
- Malle D. (2010). Les cancers colorectaux dans les wilayas de Batna, Etude épidémiologique clinique et thérapeutique, Thèse doctorat en sciences médicales, Université de Batna, EL Hadj Lakhdar, Faculté de médecine.
- Meddah, D., Meddah, B., Touil, A.T., Ghalek, M., and Sahraoui, T. (2009). Étude épidémiologique du cancer du côlon chez des patients de l'Ouest algérien. *J. Afr. Cancer Afr. J. Cancer* 1, 31–35.

- Melissa J. (2016). Pro-drogues agonistes du récepteur B2 de la bradykinine activées par des peptidase vasculaires. Maîtrise en médecine expérimentale.
- Methot, D., Silversides, DW., Reudelhuber, TL. (1999). In vivo enzymatic assay reveals catalytic activity of the human renin precursor in tissues. *Circ Res* 84, 1067-1072.
- Morere, JF., Mitry, E. (2010). Les cancers digestifs des sujets âgés. Springer.
- Moussa, SAB., Moussa, A., Kourda, N., Mezlini, A., Abdelli, N., Zerimech, F., Najjar, T., Jilani, SB., Porchet, N., Ayed, FB., et al. (2011). Lynch syndrome in Tunisia: first description of clinical features and germline mutations. *Int J Colorectal Dis* 26, 455–467.
- Nguyen, G., Delarue, F., Berrou, J., Rondeau, E., Sraer, JD. (1996). Specific receptor binding of renin on human mesangial cells in culture increases plasminogen activator inhibitor-1 antigen. *Kidney Int* 50, 1897–903.
- Nguyen, A. (2014). Mécanismes de résistance à la chimiothérapie dans les gliomes de haut grade de l'enfant: implications des systèmes de réparation de l'ADN et de l'hypoxie intra-tumorale (Pour l'obtention du doctorat en médecine). Strasbourg : Université de Strasbourg.
- Nikiteas, N., Tsigris, C., Chatzitheofylaktou, A., and Yannopoulos, A. (2007). No association with risk for colorectal cancer of the insertion/deletion polymorphism which affects levels of angiotensin-converting enzyme. *Vivo Athens Greece* 21, 1065–1068.
- Norat, T., Riboli, E. (2001). Meat consumption and colorectal cancer: a review of epidemiologic evidence. *Nutr Review* 59, 37-47.
- Ohishi, J., Fujii, K., Minamino, T., Higaki, J., Kamitani, A., Rakugi, H., Zhao, Y., Mikami, H., Miki, T., Ogihara, TA. (1993). Potent genetic risk factor for restenosis. *Nature Genet* 5, 324-5.
- O'Connell, JB., Maggard, MA., Lau, JH et al. (2003). Rates of colon and rectal cancers are increasing in young adults. *Am Surge* 69, 866-72 .
- Oukkal, M., and Bouzid, K. (2006). études épidémiologiques des cancers colorectaux.
- Parkin, DM., Muir, CS., Whelan, SL., Gao YT., Ferlay J, Powell. (1992). Cancer Incidence in Five Continents, vol 6 IARC Scientific publications, Lyon, n°120.
- Peltomäki, P. & Vasen, H. (2004). Mutations associated with HNPCC predisposition—update of ICGHNPCC/INSiGHT mutation database. *Dis. Markers* 20, 269–276.
- Pickhardt, PJ., Kim, DH., Pooler, BD., Hinshaw, JL., Barlow, D., Jensen, D., and Cash, BD. (2013). Assessment of volumetric growth rates of small colorectal polyps with CT colonography: a longitudinal study of natural history. *The Lancet Oncology* 14, 711-720.
- Pino, MS., and Chung, DC. (2010). The chromosomal instability pathway in colon cancer. *Gastroenterology* 138, 2059–2072.
- Pöschl, G., Seitz, H K. (2004). Alcohol et cancer. *Alcool alcool* 39, 155-165.
- Remontet, L., Esteve, J., Bouvier, AM., Grosclaude, P., Launoy, G., Menegoz, F., et al. (2003). Cancers incidence and mortality in France over the period 1978-2000. *Rev épidémiol santé publique* 51, 3-30.
- Rigat, B., Hubert, C., Alhenc-Gelas, F., Cambien, F., Corvol, P., Sourbier, F. (1990). An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for a half the variance of serum enzyme levels. *J. Clin. Invest* 86,1343-6.
- Risio, M. (2010). Reprint of: the natural history of adenomas. *Best practice et research Clinical gastroenterology* 24, 397-406.
- Röcken, C., Lendeckel, U., Dierkes, J., Westphal, S., Carl-McGrath, S., Peters, B., Krüger, S., Malferttheiner, P., Roessner, A., Ebert, MPA. (2005). The number of lymph node metastases in gastric cancer correlates with the angiotensin I - Converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism. *Clin Cancer Res* 11, 2526-2530.

- Rodriguez-Bigas, MA., Boland, CR., Hamilton, SR., Henson, DE., Jass, JR., Khan, PM., Lynch, H., Perucho, M., Smyrk, T., Sobin, L., et al. (1997). A National Cancer Institute Workshop on Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer Syndrome: meeting highlights and Bethesda guidelines. *J Natl Cancer Inst* 89, 1758–1762.
- Rougier, P., Mitry, E., Dominguez-Tinajero, S., Taïeb, J. (2006). Les cancers digestifs. P, 24-25.
- Saris, JJ., Derkx, FHM., Lamers, MJ., Saxena, PR., Schalekamp, MADH., Danser, AHJ. (2001). Cardiomyocytes bind and activate native human prorenin. Role of soluble mannose-6-phosphate receptors. *Hypertension* 37, 710–5.
- Schatzkin, A., Freedman, LS., Dawsey, SM., et Lanza, E. (2004). Interpreting precursor studies: what polyp trials tell us about large-bowel cancer. *Journal of the National Cancer Institute* 86, 1053-1057.
- Sealey, JE., Catanzaro, DF., Lavin, TN., et al. (1996). Specific prorenin/renin binding (proBP). Identification and characterization of a novel membrane site. *Am J Hypertens* 9, 491-502.
- Sedkaoui, C. (2015). Chimiothérapie et thérapie ciblée dans le cancer colorectal métastatique, thèse de doctorat, Université Mouloud Mammeride Tizi-Ouzou. Faculté de Médecine.
- Senesse, P., Leichtnam Dugarin, L., Bécouarn, Y., Bey, P., Brusco, S., and al (2005). comprendre le cancer du rectum (France: SOR Savoir).
- Silverthorn, DU. *Physiologie humain : une approche intégrée*. Pearson : 4ème Ed (2007).
- Soulaymani, A., Nouhou, H., Hami H., Salamatou, M. (2014). Les cancers digestifs au Niger. Fréquence relative sur étude rétrospective de 1992 a 2009. *European Scientific Journal* 10, 339-349.
- Slupska, MM., Baikalov C., Luther, WM., Chiang, JH., Wei, YF., Miller, JH. (1996). Cloning and sequencing a human homolog (hMYH) of the Escherichia coli mutY gene whose function is required for the repair of oxidative DNA damage. *Journal of Bacteriology* 178, 3885-92.
- Sobin, LH., Gospodarowicz, MK., et Wittekind, C. (2009). *TNM Classification of Malignant Tumours*.
- Stryker, S. J., Wolff, B. G., Culp, C. E., Libbe, S. D., Ilstrup, D. M., & MacCarty, R. L. (2007). Natural history of untreated colonic polyps. *Gastroenterology* 93, 1009-1013.
- Tebibel, S., Zouaghi, Y., Atallah, S., Mechati, C et al. (2014). Int.J. Pharm.Sci.Rev.Colorectal cancer: Epidemiological study, clinical, pathological an immunohistochemical examination in patients of Eastern Algeria 26, 13-18.
- Tiret, L., Rigat, B., Visvikis, S., Breda, C., et al. (1992). Evidence, from combined segregation and linkage analysis, that a variant of the angiotensin I-converting enzyme (ACE) gene controls plasma ACE levels. *Am J Hum Genet* 51, 197-205.
- Toma, M., Cimponeriu, D., Apostol, P., Stavarachi, M., Cojocaru, M., Belusică, L., Crăciun, A.M., Radu, I., and Gavrilă, L. (2009). Lack of association between ACE ID polymorphism and colorectal cancer in Romanian patients. *Chir. Buchar. Rom.* 1990 104, 553–556.
- Tsong, WH., Koh, WP., Yuan, JM., Wang, R., Sun, CL., Yu, M C. (2007). Cigarettes et alcool en relation avec le cancer colorectal: étude de la santé chinoise à Singapour. *Br J Cancer* 96, 821-827.
- Umar, A., Boland, CR., Terdiman, JP., Syngal, S., de la Chapelle, A., Rüschoff, J., Fishel, R., Lindor, NM., Burgart, LJ., Hamelin, R., et al. (2004). Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J. Natl. Cancer Inst* 96, 261–268.
- Vasen, HF., Mecklin, JP., Khan, PM., and Lynch, HT. (1991). The International Collaborative Group on Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer (ICG-HNPCC). *Colon Rectum* 34, 424–425.

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

Weisenberger, DJ., Siegmund, KD., Campan, M., Young, J., Long, TI., Faasse, MA., Kang, GH., Widschwendter, M., Weener, D., and Buchanan, D. (2006). CpG island methylator phenotype underlies sporadic microsatellite instability and is tightly associated with BRAF mutation in colorectal cancer. *Nature genetics* 38, 787–793.

Winawer, S. J., Zauber, AG. (2002). The advanced adenoma as the primary target of screening. *Gastrointestinal endoscopy clinics of North America* 12, 1-9.

Yaren, A., Turgut, S., Kursunluoglu, R., et al. (2006). Association between the a Polymorphism of the Angiotensin-Converting Enzyme Gene and Tumor Size of Breast Cancer in Premenopausal Patients. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine* 210, 109-116.

Zahary, MN., Kaur, G., Abu Hassan, MR., Singh, H., Naik, VR., and Ankathil, R. (2012). Germline mutation analysis of MLH1 and MSH2 in Malaysian Lynch syndrome patients. *World J Gastroenterol* 18, 814–820.

Zhu, X., McKenzie, CA., Forrester, T., Nickerson, DA., Broeckel, U., Schunkert, H., Doering, .A, Jacob, HJ., Cooper, RS., Rieder, MJ. (2000) Localization of a small genomic region associated with elevated ACE. *Am J Hum Genet* 67, 1144-53.

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

Zhang, K., Cheng, D., Yi, L., et al. (2014). Association between angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism and susceptibility to cancer: a meta-analysis. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology* 7, 6291-6300.

Ziada-Bouchaar, H. (2016). Etude des gènes de prédisposition aux cancers colorectaux. Thèse de Doctorat . Université des Frères Mentouri, Constantine 1.

Webographie

[w1]Colon [en ligne]. Disponible sur :
http://santeguerir.notrefamille.com/v2/servicessante/article-sante.asp?id_guerir=1444

[w2]Anatomie du colon et du rectum [en ligne]. Disponible sur :<http://huep.aphp.fr/wp-content/blogs.dir/96/files/2016/06/paroi-colon.jpg>

[w3]Institut National du Cancer.Facteurs de risque[en ligne]. Disponible sur :<https://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-colon/Facteurs-de-risque>.

[w4]John Varga.(2017). Etiology and Pathogenesis of Scleroderma:
<https://www.sciencedirect.com/topics/neuroscience/angiotensinii?fbclid=IwAR3fj1mWsyKGQxrZQds04fAiMgQH89LEvS2Pf64CQs8oTFv3bN4UDuQbIL0>

[w5]Anthony J.(2012).The Pathophysiology of Heart Failure :
<https://www.sciencedirect.com/topics/neuroscience/angiotensinii?fbclid=IwAR3fj1mWsyKGQxrZQds04fAiMgQH89LEvS2Pf64CQs8oTFv3bN4UDuQbIL0>.

[w6] http://www.alyabbara.com/utilitaires/statistiques/khi_carre_rr_odds_ratio_ic.html#OR

Annexes

Annexe 1-Tableau A :Classification TNM des cancers colorectaux (AJCC 7ème édition 2010).

Tumeur primitive (T)
<p>TIS = Carcinome in situ. Tumeur intra-épithéliale ou envahissant la lamina propria sans extension à la sous-muqueuse</p> <p>T1 = Tumeur infiltrant la sous-muqueuse sans la dépasser</p> <p>T2 = Tumeur infiltrant la musculature sans la dépasser</p> <p>T3 = Tumeur envahissant toute la paroi sans la dépasser</p> <p>T4 = Tumeur dépassant la séreuse</p>
Envahissement ganglionnaire (N)
<p>N0 = Absence de métastase ganglionnaire régionale</p> <p>N1 = Métastase dans un à trois ganglions régionaux</p> <ul style="list-style-type: none"> - N1a = 1 ganglion envahi - N1b = 2 ou 3 ganglions envahis - N1c = présence d'embolies tumorales dans la sous-séreuse sans métastase ganglionnaire <p>N2 = Métastase dans 4 ganglions régionaux ou plus</p> <ul style="list-style-type: none"> - N2a = 4 à 6 ganglions envahis - N2b = 7 ganglions envahis ou plus <p>Nx = Statut ganglionnaire inconnu</p>
Métastases (M)
<p>M0 = Absence de métastase</p> <p>M1 = Présence de métastases à distance</p> <ul style="list-style-type: none"> - M1a = limité à un site ou organe - M1b = touchant plusieurs organes ou le péritoine <p>Mx = Statut métastatique inconnu</p>

Annexe 2- Tableau B : Les stades TNM.

Stades	T	N	M
Stade 0	Tis	N0	M0
Stade I	T1	N0	M0
	T2	N0	M0
Stade IIA	T3	N0	M0
Stade IIB	T4a	N0	M0
Stade IIC	T4b	N0	M0
	Tous T	N1,N2	M0
Stade IIIA	T1, T2	N1	M0
	T1	N2a	M0
Stade IIIB	T3, T4a	N1	M0
	T2, T3	N2a	M0
	T1, T2	N2b	M0
Stade IIIC	T4a	N2a	M0
	T3, T4a	N2b	M0
	T4b	N1,N2	M0
Stade IVA	Tous T	Tous N	M0a
Stade IVB	Tous T	Tous N	M0b

Annexe 3-Tableau C : Critères d'Amsterdam établis par l'International Collaborative Group(ICG-SL)

Critères d'Amsterdam I (classique) (Vasen et al., 1991).
Une famille comportant au moins 3 parents atteints de CCR histologiquement (spectre étroit du SL) prouvé et présentant tous les critères suivants : <ol style="list-style-type: none">1. L'un des parents atteints est apparenté au 1^{er} degré avec les deux autres.2. Au moins deux générations successives sont atteintes3. Au moins un des diagnostics de CCR est porté avant l'âge de 50 ans4. Une polypose adénomateuse familiale doit être exclue.
Critères d'Amsterdam II (révisés) (Vasen et al., 1999)
Une famille comportant au moins 3 parents atteints d'un cancer histologiquement prouvé appartenant au cancers associés aux CCR (spectre large du SL) : de l'estomac, des ovaires, de l'endomètre, de l'intestin grêle, de l'uretère ou des cavités rénales, du cerveau et de la peau. Selon les signes : <ol style="list-style-type: none">1. L'un des parents atteints est apparenté au 1^{er} degré avec les deux autres.2. Au moins deux générations successives sont atteintes.3. Au moins un des CCR non polyposique, ou cancers associés doivent être détectés avant 50 ans.4. Une polypose adénomateuse familiale doit être exclue pour les CCR.

Annexe 4- Tableau C : Les critères de Bethesda impliquant dans le syndrome de Lynch.

Critères originaux de Bethesda (Rodriguez-Bigas et al., 1997)
<ol style="list-style-type: none">1. Individus avec des cancers dans leur famille qui répondent aux critères d'Amsterdam.2. Individus avec deux tumeurs en relation avec le SL, incluant les CCR synchrones, métachrones ou les cancers extra-coliques associés (ovaire, endomètre, gastrique, intestin grêle, rein, uretère..)3. Individus avec un CCR et un parent au 1^{er} degré avec un CCR et/ou un Cancer extra-colique associés au SL et/ou un adénome colorectal ; un des cancers diagnostiqué avant 50 ans et les adénomes avant 40 ans.4. Individus avec un CCR ou de l'endomètre diagnostiqué avant 50 ans5. Individus avec un CCR du côté droit avec une structure histopathologique indifférenciée diagnostiqué avant 50 ans6. Individus avec un CCR avec un type cellulaire en bague à chaton diagnostiqué avant 50 ans7. Individus avec un adénome diagnostiqué avant 40 ans.
Critères révisés de Bethesda (Umar et al., 2004)
<ol style="list-style-type: none">1. Cancer colorectal diagnostiqué avant l'âge de 50 ans.2. Présence des tumeurs colorectales synchrones, métachrones ou d'autres tumeurs associées au SL (ovaire, endomètre, gastrique, intestin grêle, rein, uretère, cerveau, pancréas...)3. CCR avec une histologie MSI-H (présence de lymphocytes infiltrant la tumeur, réaction immunitaire identique à la maladie du Crohn, croissance médullaire) diagnostiqué chez les patients de moins de 60 ans.4. CCR diagnostiqué chez un ou plusieurs parents au 1^{er} degré avec des tumeurs en relation avec le SL, avec un des cancers diagnostiqué avant 50 ans.5. CCR diagnostiqué chez deux parents, ou plus, du 1^{er} ou 2nd degré avec des tumeurs en relation avec un SL indifféremment de l'âge.

Annexe 5- Tableau D : Avantages et limites de l'immonohistochimie et de la recherche d'instabilité microsatellitaire pour le dépistage du syndrome de Lynch.

	INSTABILITE MICROSATELLITAIRE	IMMUNOHISTOCHEMIE
AVANTAGES	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Sensibilité : 97 à ~100 % (<i>Engel et al., 2006</i>) (<i>Goel et al., 2010</i>). ➤ Hautement reproductible 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Sensibilité : ~ 93 à 94 % (<i>Hampel et al., 2005</i>) (<i>Engel et al., 2006</i>). ➤ Disponible dans de nombreux centres et facilement réalisable techniquement ➤ Oriente vers le gène responsable, donc réduit le coût de l'analyse moléculaire des gènes MMR ➤ Fiable même quand faible pourcentage de cellules tumorales.
LIMITES	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Nécessité d'être équipé pour la réalisation d'analyse moléculaire ➤ Problèmes des tumeurs mucineuses non macrodissécables ➤ Difficulté d'identifier les défaillances du système MMR liées à des mutations du gène <i>MSH6</i> car l'instabilité est plus faible ➤ N'identifie pas le gène défectueux donc augmentation du coût de l'analyse moléculaire des gènes MMR ➤ Peu fiable quand faible pourcentage de cellules tumorales (<15-20%) ➤ Difficulté d'identifier les défaillances du système MMR dans certains tissus (endomètre, urothélium) car instabilité plus faible 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Problème de bruit de fond des tumeurs mucineuses et de fixation tissulaire ou autres problème techniques résultant en un marquage faible ou hétérogène ➤ Mutations ne modifiant pas l'épitope sont reconnues par l'anticorps ➤ Moins fiable sur des échantillons de petite taille ➤ Difficulté d'interprétation pour certaines tumeurs (endomètre, urothélium, système nerveux central) ➤ Variabilité d'interprétation entre observateurs.

Annexe 6: Questionnaire

Fiche de renseignements du patient

Année	N° de Dossier.....
Nom	Prénom:.....
Date et lieu de naissance	Age :.....
Etat civil.....	Nbre d'Enfants:.....
Adresse :.....	Tel.....
Origine ethnique:.....	Fonction :.....

Caractéristiques cliniques au diagnostic:

Diagnostic de la maladie :.....	
Age au moment du diagnostic:	Année de diagnostic.....
Diabète : oui <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/>	Dyslipidémies : oui <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/>
Maladies cardiovasculaires : oui <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/>	Type de maladie.....
Autres ATCD personnels.....	

Analyses biologiques

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

Examens cliniques:

Endoscopie:

Echo/ Scanner :.....

Thérapie et traitements:

Chirurgie seule

Chirurgie + CT

CT seule :.....

Chirurgie +CT+ RT:.....

RT seule :

Durée du traitement.....

Nbre de cures:.....

Caractéristiques tumorales

A- Données macroscopique :

- Localisation tumorale : rectum colon sigmoïde colon gauche
colon transverse colon droit

- Aspect : bourgeonnant infiltrant plan

- Polypes synchrones : Absents présents

- Métastases synchrones : Absentes présentes

Localisations :.....

B- Données histologiques :

- Type d'adénocarcinomes : bien moyennement peu différencié

- Envahissement en profondeur : Intramuqueux (Tis)

Limité à la sous muqueuse (T1) Limité à la musculuse (T2)

Envahissement à la sous séreuse (T3)

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

- Extension ganglionnaire :

Nombre de ganglions prélevés Nombre de ganglions envahis

- Stades pTNM :

Antécédents tumoraux personnels:

- -
- -

Antécédents familiaux :

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

Type de C du frère :..... Type de C de la sœur :.....
Age de diagnostic..... Age de diagnostic.....

Collatéraux:

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

Arbre généalogique :

Nom de l'investigateur

Lieu d'investigation :.....

Date :.....

Annexe 7: Extraction de l'ADN

1- Préparation des leucocytes

1. Dans un tube Flacon de 50 ml ; mettre le sang et compléter à 25 ml avec du TE 20 :5.
Laisser le mélange 10 min dans la glace.
2. Centrifuger 10 min à 3900g (3800 rpm).
3. Aspirer le surnageant avec la trompe à vide.
4. Rajouter le TE 20:5 au culot et le remettre en suspension avec une pastette sterile.
5. Completer à 25 ml avec du TE 20:5 et laisser 10 min dans la glace
6. Centrifuger dans les mêmes conditions que la première fois.

7. Aspirer le surnageant avec la trompe à vide: Obtention d'un culot des leucocytes (si on veut s'arrêter à ce niveau les mettre dans une nunc de 1.5 ml avec du TE 10:1 et les conserver à -20°C dans le frigo).

2- Extraction de l'ADN

1. Transvaser le culot des leucocytes dans un tube falcon de 15 ml.
2. Ajouter 3 ml de tampon de lyse (Na Cl 400 mM, EDTA 2mM, Tris 10mM, PH 8.2) en jilacérant le culot avec une pastette sterile.
3. Ajouter 200 µl de SDS à 10%.
4. Ajouter 100 µl de protéinase K à 10 mg/ ml.
5. Agiter le tube sur une roue rotative à 37°C une nuit.
6. Le lendemain ; refroidir dans la glace.
7. Ajouter 1 ml de Na Cl 4M et agiter vigoureusement à la main.
8. Remettre 5 min dans la glace (précipitation des protéines).
9. Centrifuger 15 min à 2500 rpm.
10. Transvaser le surnageant dans un tube Falcon de 50 ml, ajouter 2 fois son volume d'éthanol absolu préalablement refroidi (environ 8 ml) et agiter en tournant le tube plusieurs fois: la pelote d'AND se forme.
11. Laisser éventuellement 30 min à -20°C si la pelote ne se forme pas.
12. Récupérer la pelote d'ADN par une pipette pasteur et la rincer 2 fois dans l'éthanol à 70%.
13. Mettre la pelote dans un tube nunc.

3- Solubilisation de l'AND

1. Ajouter entre 300 et 1000 µl de TE 10 :1 selon la grosseur de la pelote et la concentration souhaitée.
2. Laisser une nuit sur agitateur rotateur à 37°C, puis à température ambiante jusqu'à dissolution complète (de 1 à 3 jour).

Annexe 8: préparation du TBE 1X

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

Résumé

Le cancer colorectal (CCR) constitue actuellement un problème majeur de santé publique en Algérie. Parmi les formes héréditaires de ce cancer, le syndrome de Lynch (SL) ou Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer (HNPCC) qui est une maladie autosomique, l'une des principales formes de prédisposition génétique au cancer.

Le syndrome de Lynch est suspecté dès qu'on diagnostique un cancer colorectal avant 50 ans. Le SL est lié aux mutations germinales dans les gènes de réparation des mésappariements (MMR) de l'ADN.

Le travail que nous avons accompli a été consacré à l'étude moléculaire de la corrélation cas / témoin de 30 sujet atteints de CCR et 37 témoin.

Le génotypage du polymorphisme de l'ECA a été réalisé par PCR. La comparaison des fréquences alléliques et génotypiques entre les deux groupes a été établie par le calcul de l'odds ratio avec un intervalle de confiance à 95%.

Des statistique ont montré une nette prédominance du génotype DD (60%) chez les sujets CCR par rapport aux témoins (41.93%) mais il n'existe aucune différence significative de distribution des fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme exploré entre les témoins et les cas CCR. Pour cela, il serait intéressant d'étudier une cohorte de plus grand effectif de sujets pour pouvoir retirer de conclusions concernant la corrélation de ce polymorphisme et le risque de CCR .

Mots-clés : Syndrome de Lynch, CCR, Polymorphisme de l'ECA, PCR.

ملخص

سرطان القولون والمستقيم هو حاليا يمثل مشكلة صحية رئيسية في الجزائر من بين الاشكال الموروثة لهذا السرطان، تعتبر متلازمة لينش او سرطان القولون الوراثي الذي يعتبر مرض جسي سائد، أحد الاشكال الرئيسية للتأهب الجيني للسرطان. يشتبه في متلازمة لينش عندما يتم تشخيص سرطان القولون والمستقيم قبل سن الخمسين.

ترتبط متلازمة لينش بطفرات وراثية في المورثات الجينية المسؤولة عن اصلاح عدم تطابق الحمض النووي.

تم تكريس العمل الذي قمنا به للدراسة الجزيئية بين الحالات / الشواهد ل 30 شخص مصاب بسرطان القولون والمستقيم و، 37 شاهد.

تم اجراء التنميط الجيني لتعدد اشكال انزيم محول الانجيوتنسين بواسطة ال PCR. قمنا بمقارنة الترددات الاليلية الوراثة بين المجموعتين من خلال حساب نسبة الارجحية مع فاصل الثقة 95%.

أظهرت الإحصائيات اغلبية واضحة للنمط الوراثة DD في الأشخاص المصابين بسرطان القولون و المستقيم مع الشواهد (41.93%)، لاكن لا يوجد فرق كبير في توزيع الترددات الاليلية و الوراثة من تعدد الاشكال التي تم استنتاجها بين الشواهد و الحالات المصابة بالسرطان.

لهذا سيكون من المثير للاهتمام دراسة أكبر للحالات القدرة على استخلاص استنتاجات حول العلاقة بين تعدد الاشكال ادراج/ حذف وخطر سرطان القولون والمستقيم.

الكلمات الرئيسية: متلازمة لينش-سرطان القولون والمستقيم-التغير الجيني-تعدد الأشكال.

Abstrat

Colorectal cancer (CRC) is considered as one of the major health problems in Algeria. Among the inherited forms of this cancer, Lynch Syndrome (LS) or Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer (HNPCC) which is an autosomal disease, one of the main forms of genetic predisposition to cancer.

Lynch syndrome is suspected when colorectal cancer is diagnosed before age 50. LS is linked to germline mutations in DNA mismatch repair genes (MMRs).

The work we have done has been devoted to the molecular study of the case-control correlation of subjects with CCR 30 and 37control.

Genotyping of the ACE polymorphism was performed by PCR. The comparison of allelic and genotypic frequencies between the two groups was established by calculating the odds ratio with a 95% confidence interval.

Statistics showed a clear predominance of the DD genotype (60%) in the CCR subjects compared to the controls (41.93%), but there is no significant difference in the distribution of allelic and genotypic frequencies of the polymorphism explored between the controls and the cases. JRC. For this, it would be interesting to study a large cohort of subjects to be able to draw conclusions about the correlation of this polymorphism and the risk of CRC

Keywords: Lynch syndrom, CRC, polymorphism of ECA, PCR.

Année universitaire : 2018 - 2019

Présenté par : ZEGHIB Sabrina
TELILANI Amira

Polymorphisme I/D du gène ECA et syndrome de lynch

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Génétique

Le cancer colorectal (CCR) constitue actuellement un problème majeur de santé publique en Algérie. Parmi les formes héréditaires de ce cancer, le syndrome de Lynch (SL) ou Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer (HNPCC) qui est une maladie autosomique, l'une des principales formes de prédisposition génétique au cancer.

Le syndrome de Lynch est suspecté dès qu'on diagnostique un cancer colorectal avant 50 ans. Le SL est lié aux mutations germinales dans les gènes de réparation des mésappariements (MMR) de l'ADN.

Le travail que nous avons accompli a été consacré à l'étude moléculaire de la corrélation cas / témoin de 30 sujet atteints de CCR et 37 témoin.

Le génotypage du polymorphisme de l'ECA a été réalisé par PCR. La comparaison des fréquences alléliques et génotypiques entre les deux groupes a été établie par le calcul de l'odds ratio avec une intervalle de confiance à 95%.

Nos résultats ont montré une nette prédominance du génotype DD (60%) chez les sujets CCR par rapport aux témoins (41.93%) mais il n'existe aucune différence significative de distribution des fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme exploré entre les témoins et les cas CCR. Pour cela, il serait intéressant d'étudier une cohorte de plus grand effectif de sujets pour pouvoir retirer de conclusions concernant la corrélation de ce polymorphisme et le risque de CCR .

Mots-clefs : Syndrome de Lynch, CCR, Polymorphisme de l'ECA, PCR.

Laboratoires de recherche :

Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire (Université des Frères Mentouri, Constantine 1).

Président du jury : REZGOUNE Mohamed Larbi (MCA - Université des Frères Mentouri, Constantine 1).

Encadreur : ZIADA-BOUCHAR Hadia (MCB - Université des Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur : SEMMAME Ouarda (MCB - Université des Frères Mentouri, Constantine 1).

