

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 :

**Etude statistique et génétique de l'association de polymorphisme
rs1800734 du gène *MLH1* et le cancer colorectal**

Présenté et soutenu par : Bousemghoun Meriem Ines.

Le : 21/06/2022

Meradji Amira.

Djerrad Iheb

Jury d'évaluation :

Encadreur : ZIADA-Bouchaar H (MCB- Université Frères Mentouri, Constantine1).

Président: SATTA .D (Pr – Université Frères Mentouri, Constantine1).

Examineur : SEMMAME- Bensakesli O (MCB- - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Année universitaire
2021 - 2022**



Remerciements

اللهم لك الحمد حتى ترضى و لك الحمد اذا رضيت و لك الحمد بعد الرضى و لك الحمد حتى يبلغ الحمد منتهاه

“Nos premiers remerciements vont à « ALLAH » Qui nous a honorés d’être parmi ceux qui savent lire et écrire, et a guidé nos pas sur le chemin de la science, ce qui nous a permis de réaliser ce travail. Notre plus sincère gratitude va à Sa Majesté pour nous avoir donné le courage et la patience de mener à bien ce travail.”

Remerciements

Nos premiers remerciements iront à notre encadreur Dr. Ziada-Bouchaar H pour la confiance qu'elle nous a accordé en acceptant d'encadrer ce travail. Nous lui sommes reconnaissantes pour sa patience, ses encouragements, sa sympathie et sa disponibilité à tout moment, ses conseils, ses commentaires, ses corrections et ses qualités scientifiques ont été très précieux pour mener à bien ce travail.

Nous remercions Pr. SATTA D pour sa précieuse aide et de n'avoir ménagé aucun effort pour nous apporter soutien et conseils et déployé pour réussir et mener à bien notre formation de génétique avec toute l'équipe de nos enseignants. Nous sommes très honorées de vous avoir comme président du jury.

Nous remercions Dr. SEMMAME O pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant d'examiner ce travail.

Nous remercions chaleureusement Dr. Rezgoun ML et Dr. Sedrati K pour leur soutien et responsabilité pour la réussite de notre promotion de génétique

Merci à tous les enseignants de la spécialité génétique moléculaire pour les connaissances qu'ils nous ont transmises durant ces trois ans du parcours.

Nous remercions également Mme Dadsy Y pour son aide dans notre partie pratique.

Nous remercions Dr. Zennour S pour son accueil chaleureux au laboratoire de la biologie moléculaire au niveau du CRBT. Merci docteur pour ton aide, ta gentillesse, et surtout ton encouragement durant ces quelques mois.

Un grand merci aussi à Dr. MENNOURA R pour son aide, son temps, ses encouragements, et son soutien.

Enfin, Nous remercions tous ce qui nous ont aidés à réaliser notre partie pratique au laboratoire de biologie moléculaire à l'université des frères Mentouri, et au laboratoire de CRBT.

Dédicaces

A ma très chère maman

Je ne trouve pas les mots pour traduire ce que je ressens envers une mère exceptionnelle. Et si j'en suis arrivée là, ce n'est que grâce à toi, tu m'as toujours conseillé et orienté, tu as toujours su être à mon écoute, me reconforter, calquer mes humeurs... : Je te dédie ce travail, à toi, l'être le plus cher, dont j'ai la fierté d'être la fille. Puisse dieu tout puissant, préserve ton sourire et t'assure une bonne santé et une longue vie afin que je puisse te combler de mon amour.

A mon très cher papa

Aucun mot ne saurait exprimer tout mon amour et toute ma gratitude. Tu es pour moi l'exemple de la réussite et du grand cœur. Tu as toujours été pour moi le père idéal, la lumière qui me guide dans les moments les plus obscurs. Ce travail qui est avant tout le tien, n'est que la considération de tes efforts et de tes immenses sacrifices. J'espère réaliser ce jour un de tes rêves et être digne de ton nom, ton éducation, ta confiance et des hautes valeurs que tu m'as inculquée. Puisse dieu, le tout puissant, te protège et t'accorde meilleure santé et longue vie afin que je puisse te rendre un minimum de ce que je te dois.

A mes frères

Yasser, Younes, Walid, et Iyed quoique je dise, je ne saurais exprimer l'amour et la tendresse que j'ai pour vous. Je vous remercie, pour votre support, votre dévouement et indéfectible soutien.

A ma meilleure amie Hadjer, mon deuxième moi, un grand merci à toi d'avoir toujours été à mes côtés, de m'avoir soutenu dans les moments les plus difficiles de ma vie, merci pour tes conseils. Je t'aime énormément.

A mes chér(e)s ami(e)s

Merci pour les agréables moments qu'on a passés ensemble. Merci pour la sympathie et l'affection que vous m'avez toujours portées, qu'elles demeurent éternelles. Puisse Dieu vous procurer bonheur, santé et réussite.

A toi Amira, mon binôme, on a vécu des moments inoubliables ensembles. Merci pour ton attention, ta patience et tes encouragements. Puisse DIEU te préserver du mal, te combler de santé et de bonheur.

Ines.

Je dédie mon travail à :

Ma chère maman Houria, qui est ma seule raison d'être là. Toute une vie ne suffira pas à lui rendre ce grand amour et ce dévouement. C'est une énorme fierté d'être la fille de cette idéale mère. Je t'aime très fort.

A mon précieux papa Djemal qui m'a donné la chance d'être sa fille et qui a fait de moi une fille très forte, je t'adore papa.

Je prie Dieu le tout puissant d'accorder santé et bonheur pour mes deux parents.

A ma seule sœur Imene ainsi que son mari Lamine qui n'ont pas cessé de me conseiller, m'encourager tout au long de mes années d'étude. Que Dieu les protège et leur offre la quiétude dans leur vie.

A mon grand frère Ramzi et sa femme Asma. Merci pour m'avoir soutenu tout le long de mon cursus. Que Dieu vous garde.

A mon cher frère Simo Oussama en témoignage de la tendresse et de l'amour que je porte pour lui. Je te souhaite tout le bonheur, beaucoup de succès, gaieté dans ta vie inshallah.

A mes neveux Adem Mohamed Khallil, Anes Abd Elrahman et mes nièces Illine Tasnim, Talya Ranim et la petite Ilya noor qui vient d'être parmi nous. Que Dieu les garde.

A tous les membres de ma famille et toutes personnes portant le nom Meradji et Dellioua.

A mes chères amies Aya, Assala. Merci pour tout. Je vous souhaite tout le bonheur dans votre vie.

A toutes les personnes occupant une place spéciale dans mon cœur.

A notre encadreur madame Ziada Hadia pour son aide et ses précieux conseils.

Sans oublier mon binôme Ines Meriem pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension dans les moments les plus difficiles encourus le long de notre travail.

AMIRA.M

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS ET DÉDICACES

LISTE DES ABRÉVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

Introduction 1

Etude bibliographique

I. Cancer colorectal

1. Anatomie colorectale.	3
1.1 Colon	3
1.2 Rectum	3
2. Histologie du colon	4
2.1 La séreuse	4
2.2 La musculuse	4
2.3 La sous muqueuse	4
2.4 La muqueuse	4
3. Fonction du colon et rectum	5
4. Epidémiologie	5
5. Facteurs de risque	7
6. Classification TNM	9
7. Les stades du cancer colorectal	9
8. Les formes du CCR	10
8.1 Formes sporadiques	10
8.2 Formes familiales (Génétiques, Héréditaires)	13

II. Syndrome de lynch

1. Introduction	14
2. Historique	14
3. Spectre du SL	15
4. Critères de sélection	15
4.1 Critères d'Amsterdam I &II	15
4.2 Critères de Bethesda	16
5. Génétique et mécanisme moléculaire du SL	16
6. Système de réparation des mésappariements d'ADN	17

7. Fonctions associées aux protéines MMR	18
7.1 Réparation post-réplivative des mésappariements de l'ADN	19
7.2 Signalisation apoptotique de certains dommages d'ADN	19
7.3 Autres fonctions portées par les protéines MMR	19
7.4 Domaines fonctionnels des protéines MMR	19
8. Gènes MMR	20
9. Mutations du système MMR	22
10. Diagnostic	22
11. Analyse génétique	23
12. Traitement	24
13. Dépistage	24

III. Polymorphisme génétique

1. Introduction	26
2. Polymorphisme dans les parties régulatrices	26
2.1 Polymorphisme c. -93G>A (rs1800734)	26
2.2 Polymorphisme c. -118 T>C (rs1800734)	27
3. Polymorphisme dans les parties exoniques	27
3.1 Le polymorphisme MSH2 Gly322Asp	28
4. Association polymorphisme rs1800734 et CCR	28
5. Association polymorphisme rs1800734 et autres cancers	29

Partie pratique

I. Patients et témoins

1. Recrutement des patients.....	30
1.1. Critères d'inclusion.....	30
1.2. Critères d'exclusion	31
2. Recrutement des témoins	31
3. Collecte des données	31

II. Etude moléculaire

1. Extraction d'ADN	31
1.1. Prélèvement sanguin	31
1.2 Principe de l'extraction d'ADN	31
1.3 conservation d'ADN	32
1.4 Evaluation de la pureté et quantification de la concentration d'ADN	32
2. Amplification par la PCR	32
3. Polymorphisme de longueur de fragment de restriction (RFLP).....	35

III. Résultats et discussion

1. Etude épidémiologique	37
2. Etude statistique	40
3. Résultats de l'étude génétique	47
4. Arbres généalogiques de quelques patients	48

Conclusion et perspectives 49

Références bibliographique..... 50

Annexes

Résumés

Liste des abréviations

APC	Polypose Coli Adénomateuse
ASR	<i>Age-Standardized incidence Rate</i>
ATCD	Antécédents
BET	Bromure d'éthidium
CCR	Cancer colorectale
CCRm	CCR métastatique
CIMP	<i>CpG Island Methylator Phenotype</i>
CIN	<i>Chromosomal Instability</i>
CIRC	Centre International de Recherche sur le Cancer.
EDTA	éthylènediaminetétraacétique
EGF	<i>Epidermal Growth Factor</i>
EGFR	<i>Epidermal Growth Factor Receptor</i>
EPCAM	<i>ECell Adhesion Molecule</i>
FSIG	flexible sigmoidoscopy
HDL	Lipoprotéines de Haute Densité
HNPCC	<i>Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer</i>
INCa	Institut National Français du Cancer
MICI	Maladies Inflammatoires Chroniques de l'intestin
MLH1	<i>MutL Homolog 1</i>
MLH3	<i>MutL Homolog 3</i>
MMR	<i>Mis Match Repair</i>
MSH2	<i>MutS Homolog 2</i>
MSH6	<i>MutS Homolog 6</i>
MSI	Microsatellite Instability
NCBI	<i>National Center for Biotechnology Information</i>
PAF	Polypose aénomateuse familiale
PMS1	<i>Postmeiotic Segregation Increased 1</i>
PMS2	<i>postmeiotic segregation increased 2</i>
RER	<i>Replicative error</i>

RFLP	<i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i>
SL	syndrome de Lynch
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
TNM	<i>Tumor/Node/Metastasis</i>

Liste des figures

Figure 1 :	Anatomie de colon et de rectum.....	Page 4
Figure 2 :	Histologie du colon et du rectum	Page 5
Figure 3 :	Incidence du cancer colorectal dans le monde des deux sexes.....	page 6
Figure 4 :	Mortalité du cancer colorectal dans le monde des deux sexes.....	Page 6
Figure 5 :	Classification du CCR selon la classification TNM	Page 9
Figure 6:	Tumorigenèse par étape dans les CCR	Page 10
Figure 7 :	Schéma illustrant les altérations épigénétiques du CCR et leur association avec le mécanisme moléculaire du CCR	Page 13
Figure 8 :	Proportion des différents types de cancers colorectaux.....	Page 13
Figure 9 :	Mécanisme moléculaire du premier coup dans le cancer associé au SL par rapport au cancer CCR MSI sporadique	Page 17
Figure 10 :	Mécanisme correspondants du deuxième hit	Page 17
Figure 11 :	Les étapes du fonctionnement du système MMR	Page 18
Figure 12 :	Représentation schématique des gènes et des domaines fonctionnels des protéines MMR	Page 20
Figure 13 :	Localisation du gène MLH1	page 20
Figure 14 :	Localisation du gène MSH2	Page 21
Figure 15 :	Localisation du gène MSH6	Page 21
Figure 16 :	Localisation du gène PMS2	Page 21
Figure 17 :	Stratégie du diagnostic en cas de suspicion de syndrome de Lynch	Page 23
Figure 18 :	Courbe de température du termocycleur	Page 34
Figure 19 :	Répartition de l'atteinte des cancers du côlon et du rectum chez les hommes et les femmes dans l'année 2017.	Page 36
Figure 20 :	Evolution des taux de cancer colorectal chez les hommes dans l'année 2017	Page 37
Figure 21 :	Evolution des taux de cancer colorectal chez les femmes dans l'année 2017	Page 37

Figure 22 :	Taux d'incidence des cancers colorectaux par âge et par sexe à Constantine dans l'année 2018	Page 38
Figure 23 :	Répartition des témoins selon le sexe.	Page 39
Figure 24 :	Répartition des témoins selon l'âge et le sexe	Page 40
Figure 25 :	répartition des patients selon le sexe	Page 40
Figure 26 :	Répartition des patients selon l'âge	Page 41
Figure 27 :	Répartition des patients selon la localisation.	Page 42
Figure 28 :	Répartition des patients selon le stade dévolution de la tumeur	Page 43
Figure 29 :	Répartition des sujets selon les antécédents familiaux.	Page 44
Figure 30 :	Répartition des sujets CCR selon les critères d'Amsterdam I et II et Bethesda.	Page 45
Figure 31 :	Profil d'électrophorèse de la PCR de fragment de 387 pb pour deux patients P1 et P2	Page 46
Figure 32 :	profil RFLP de digestion par l'enzyme de restriction AvaII	Page 46
Figure 33 :	Arbre généalogique de la famille F1.	Page 47
Figure 34 :	Arbre généalogique de la famille F2.	Page 48

Liste des tableaux

Tableau 1 : Spectre du SL et risque cumulés de cancer	Page 15
Tableau 2 : Amorces utilisées pour l'amplification	Page 33
Tableau 3: les quantités de chaque constituant du milieu réactionnel de la PCR	Page 33
Tableau 4 : programme PCR de SNP -93A>G du gène MLH1	Page 33



Introduction

Le cancer colorectal est un cancer qui se développe dans le gros intestin. Il regroupe le cancer du côlon et le cancer du rectum (Belov *et al.*, 2016).

Les cancers colorectaux (CCR) sont parmi les cancers les plus répandus dans le monde (Mármol *et al.*, 2017) avec environ 1,8 millions de nouveaux cas et 860 000 décès en 2018 (Huyghe *et al.*, 2019). En Algérie, et dans la wilaya de Constantine, l'incidence des CCR égale à 15.7 (registre de cancer de Constantine, 2018). En effet, les CCR sont devenus les premiers cancers digestifs chez les deux sexes, surclassant le cancer de l'estomac, et comptent parmi les cancers les plus fréquents, occupant ainsi la troisième place de l'ensemble des cancers (Abbes *et al.*, 2018).

Les facteurs de risque associés à l'incidence des CCR comprennent des facteurs environnementaux et génétiques. L'accumulation de nombreuses mutations génétiques ou de changements épigénétiques est nécessaire pour stimuler la progression cancérogène. Le développement du CCR suit plusieurs étapes ; il commence comme un polype adénomateux bénin sur la paroi interne du côlon et du rectum, qui se développe progressivement en un adénome et un carcinome avancés (Boussios *et al.*, 2019).

Dans les CCRs, il existe les formes sporadiques et les formes héréditaires. Les formes sporadiques sont fréquentes et peuvent être liées à une combinaison de facteurs génétiques et environnementaux. Cependant les cancers héréditaires sont souvent dus à une prédisposition génétique héréditaire. La forme la plus fréquente des CCR héréditaires est le syndrome de Lynch (SL) également connu sous le nom HNPCC (*Hereditary Non-polyposis Colorectal Cancer*) (Boussios *et al.*, 2019). Il s'agit d'une pathologie génétique de prédisposition aux cancers MSI (instabilité des microsatellites) engendrée par une mutation germinale mono-allélique d'un gène du système MMR. *MLH1* (*MutL Homolog 1*) et *MSH2* (*MutS Homolog 2*) sont ciblés dans 90% des cas, *MSH6* (*MutS Homolog 6*) et *PMS2* (*Postmeiotic Segregation Increased 2*) dans seulement 10% des cas. Les individus atteints de syndrome de Lynch et porteurs d'une mutation germinale d'un gène MMR sont à haut risque de développer un CCR ou un cancer de l'endomètre à un âge jeune (Knudson, 2001).

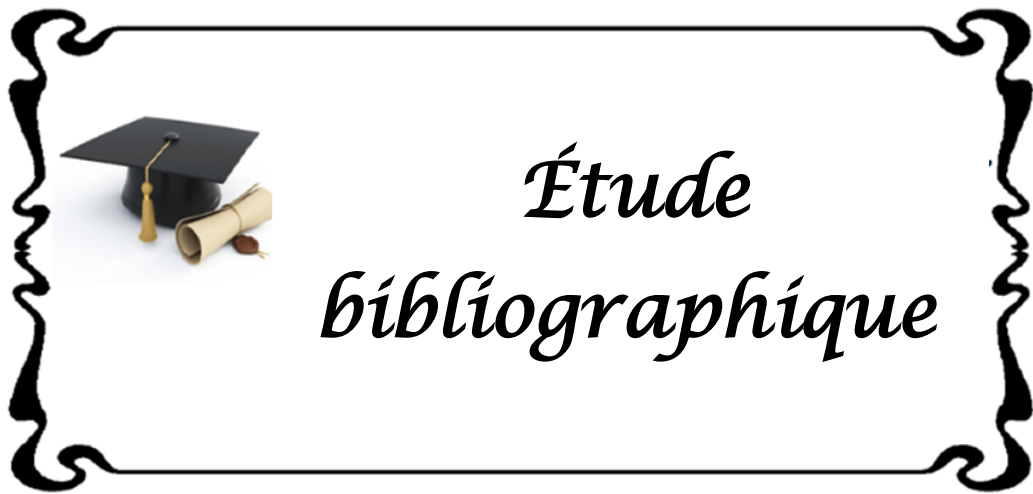
Les mutations germinales de ces gènes MMR étant responsables du cancer colorectal héréditaire sans polypose (HNPCC). Cependant la présence de polymorphismes mononucléotidiques SNP dans ces gènes MMR peut également prédisposer le patient à un cancer colorectal (Mik *et al.*, 2017).

Introduction

Le SNP -93G>A dans le promoteur du gène *MLH1* (rs1800734) semble avoir un effet sur la survenue de ce type de cancer en augmentant le risque de l'atteinte d'un CCR (Mohd Nizam *et al.*, 2013).

Nous sommes assigné comme objectifs de :

- Décrire le profil épidémiologique, clinique, pathologique et génétique du CCR.
- Étudier les différents facteurs de risque génétiques et environnementaux et leur relation avec le CCR.
- Explorer le syndrome de lynch par une étude statistique des caractéristiques cliniques et généalogiques.
- Déterminer le polymorphisme -93G<A sur le promoteur du gène *MLH1* en développant la 1ere fois la mise au point de PCR –RFLP à Constantine.
- Evaluer l'association de ce SNP avec le risque d'atteinte par le CCR et/ou SL dans la population d'étude.



Le cancer colorectal

I. Le cancer colorectal

1. Anatomie colorectale

1.1 Colon

La partie du colon (gros intestin) qui comprend le côlon et le rectum, est une structure tubulaire localisée dans l'abdomen qui mesure de 1,45 à 1,65 mètre selon la taille de l'individu. Il est formé de quatre sections (Waters *et al.*, 2019) :

- **Colon droit**

Appelé aussi colon ascendant qui se situe du côté droit du corps. Il commence par le caecum qui relie le colon à l'intestin grêle (Feng *et al.*, 2020).

- **Colon transverse**

Parcourt la partie supérieure de l'abdomen. Il relie le colon gauche au colon droit (Feng *et al.*, 2020).

- **Colon gauche**

C'est le colon descendant situé dans le côté gauche du corps. Il prolonge du colon transverse vers le colon sigmoïde (Feng *et al.*, 2020).

- **Colon sigmoïde**

C'est la dernière partie du colon qui relie le colon gauche au rectum (Feng *et al.*, 2020).

1.2 Rectum

Le rectum se localise après le côlon sigmoïde et mesure généralement environ 15 cm, il débute en projection de la troisième vertèbre sacrée pour donner l'ampoule rectale. Il comprend deux parties, la première est le rectum périnéal s'appelle aussi le canal anal et la deuxième est le rectum pelvien s'appelle aussi l'ampoule rectale, ce dernier est constitué de deux limites : une limite basse, c'est la limite jonction anorectale et une haute qui est la charnière recto-sigmoïdienne (Mahadevan, 2020).

Le cancer colorectal

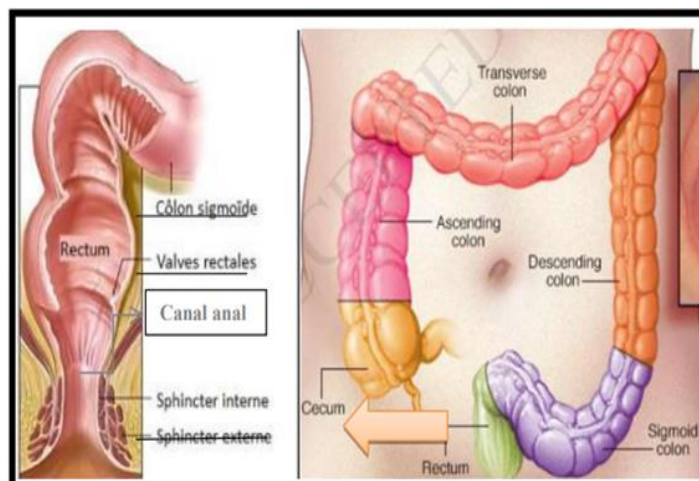


Figure 1 : Anatomie du colon et du rectum (Buccafusca *et al.*, 2019).

2. Histologie du colon

L'observation microscopique d'une coupe du colon nous permet de distinguer quatre différentes couches successives de l'extérieur vers l'intérieur (figure 2) :

2.1 Séreuse

C'est une particularité conjonctive externe propre au colon, formée par le feuillet viscéral du péritoine (Win *et al.*, 2012 ; Giardiello *et al.*, 2014 ; Syngal *et al.*, 2015).

2.2 Musculeuse

Formé de deux couches, une couche longitudinale externe (tenia coli), et une couche circulaire interne. Entre les deux couches se situe le plexus d'Auerbach qui assure l'innervation végétative du tube digestif (Win *et al.*, 2012 ; Giardiello *et al.*, 2014 ; Syngal *et al.*, 2015).

2.3 Sous-muqueuse

Elle est composée d'un tissu conjonctif dense qui contient des vaisseaux sanguins et un réseau de nerfs sympathiques (Win *et al.*, 2012 ; Giardiello *et al.*, 2014 ; Syngal *et al.*, 2015).

2.4 Muqueuse

Elle est délimitée par un épithélium, tapisse la totalité du tube digestif. Elle sécrète le mucus qui assure l'humidité, la lubrification, et la protection de cette muqueuse (Win *et al.*, 2012 ; Giardiello *et al.*, 2014 ; Syngal *et al.*, 2015).

Etude bibliographique

Le cancer colorectal



Figure 2 : Histologie du colon et du rectum (Beaugeri et Sokol, 2014).

3. Fonction du colon et rectum

Le colon a plusieurs fonctions différentes :

Le colon assure une certaine motricité et permet le brassage, l'avancée et le stockage des matières caniques, possède également un rôle protecteur grâce au caecum, peut-être mécanique grâce à la cohésion des cellules entre elles ou bien chimique grâce au mucus synthétisé par les cellules épithéliales de l'estomac.

La fonction principale du rectum est de stocker les selles avant l'évacuation par l'anus (KOHLENER, 2010).

4. Epidémiologie

Le CCR est le troisième cancer le plus répandu au monde .Il s'agit du troisième cancer chez les hommes (après le cancer du poumon et de la prostate) et le deuxième chez les femmes (après le cancer du sein) (Matos *et al.*, 2020). C'est la deuxième cause des décès dans 10 % des cas en Europe, et la quatrième dans le monde entier (Matos *et al.*, 2020).

Selon les estimations du CIRC (Centre International de Recherche sur le Cancer), en 2018, le CCR représentait 10,2% de toute l'incidence dans le monde, avec environ 1 026 215 cas chez les hommes et 823 303 cas chez les femmes. Le CCR était la deuxième cause des décès du cancer en 2018 avec environ 484 224 et 396 568 décès chez les hommes et les femmes, respectivement. Le taux de l'atteinte par CCR est lié aux changements de mode de vie après développement économique et social. Le fardeau des pays développés est généralement plus lourd que les pays en développement, l'incidence dans les pays en développement augmente rapidement (Zhou *et al.*, 2021).

La génétique contribue au risque individuel, mais l'incidence du CCR est largement affectée par des facteurs modifiables liés au régime alimentaire et au mode de vie et les facteurs non

Etude bibliographique

Le cancer colorectal

modifiables tels que l'âge qui a une affection faible inférieurs à 45 à 50 ans, augmentant progressivement avec l'âge (Matos *et al.*, 2020).

En Europe en 2020 on estimait à 520 000 le nombre de nouveaux cas de cancers colorectaux et à 245000 le nombre de décès liés à ce cancer (Zhou *et al.*, 2021).

Selon les séries de GLOBOCAN 2020 le taux d'incidence standardisée varie entre les continents dont on peut remarquer que l'Asie se trouve en premier avec 52.3% dans 1 009 400 cas (figures 3 et 4).

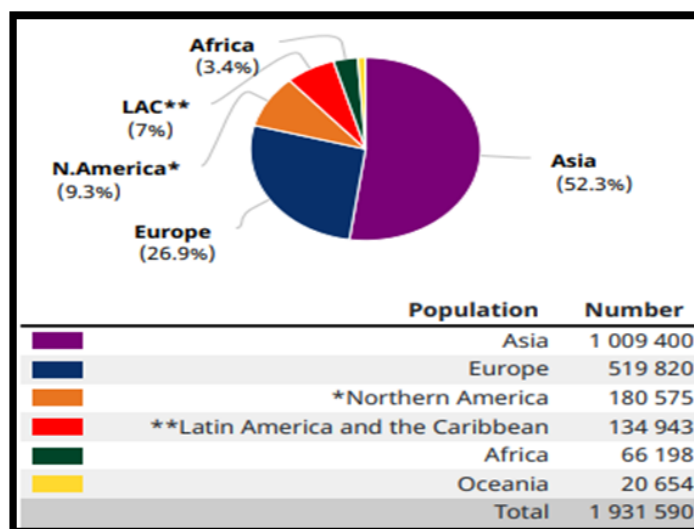


Figure 3 : Incidence du cancer colorectal dans le monde des deux sexes (GLOBOCAN 2020).

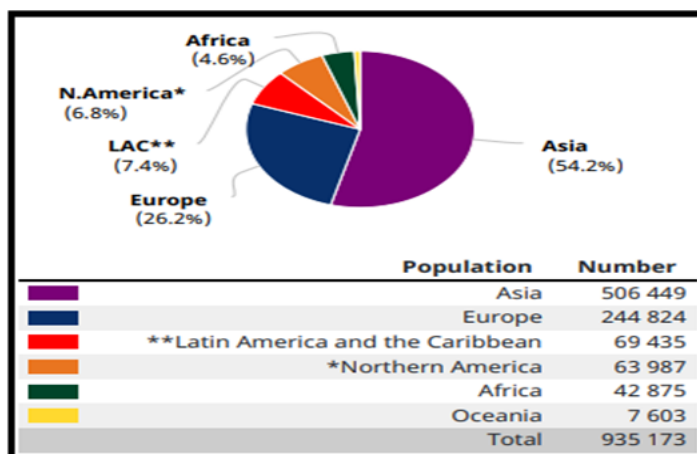


Figure 4 : Mortalité du cancer colorectal dans le monde des deux sexes (GLOBOCAN 2020).

➤ En Algérie

L'Algérie a enregistré en 2018, 5 537 nouveaux cas de cancer du côlon et du rectum partagé entre 2 910 hommes et 2 627 pour femme, et 3 027 de décès partagé entre 1 684 hommes et 1 343 femmes (Jiachen *et al.*, 2021).

Etude bibliographique

Le cancer colorectal

➤ A Constantine

En 2020 selon le centre international de recherche contre le cancer (CIRC), on estimait le nombre de nouveaux cas de cancer à plus de 19 millions et le nombre de décès à 10 millions (Le registre du cancer de la wilaya de Constantine, 2018).

En 2018, chez les femmes le cancer du sein est suivi par les cancers colorectaux avec un pourcentage de 12,1% et une incidence standardisée (ASR) égale à 17.3 cas.

Pour les hommes les localisations les plus fréquentes, sont les cancers du côlon et du rectum (19.1%) avec un ASR égale à 18.2 cas.

L'âge médian de survenue du cancer colorectal des deux sexes est proche de 63 ans (Homme : 65 ans ; Femme : 61 ans) (Le registre du cancer de la wilaya de Constantine, 2018).

5. Facteurs de risques

Il existe deux types de facteurs :

5.1 Les facteurs modifiables

Ces facteurs ont la capacité à moduler favorablement le développement des CCR. Il y a les facteurs environnementaux qui sont associés à un cancer sporadique et sont responsables d'environ 83% de tous les CCR. Le syndrome métabolique est en relation étroite avec ces facteurs conséquence d'un régime alimentaire et d'un mode de vie incorrects, qui incluent la consommation élevée de viande rouge et de la viande transformée, des repas gras, des céréales raffinées qui augmentent le risque des CCR. Les régimes comportant une consommation élevée de fibres, fruits, légumes, céréales complètes, poissons, viandes blanches, dérivés de soja, la vitamine D, le calcium et les acides gras oméga-3 diminuant le risque des CCR (Witold *et al.*, 2018).

De plus, l'activité physique est un facteur important dans la prévention contre les CCR. Le syndrome métabolique est associé à une prise de poids, à de faibles niveaux de lipoprotéines de haute densité (HDL), à une hypertriglycémie, à une hyperglycémie et à une hypertension (Yusof, 2012 ; Sur *et al.*, 2019).

L'alcoolisme est également capable d'augmenter le risque d'adénome avancé et joue un rôle dans la cancérogenèse colorectale. Ainsi, le tabagisme qui favorise une apparition précoce de CCR et engendre des mutations au niveau de l'ADN de la muqueuse digestive (Witold *et al.*, 2018 ; Imad *et al.*, 2019).

5.2 Les facteurs non modifiables

On estime que 90% des cas des CCR surviennent chez des personnes âgées plus de 50 ans.

Etude bibliographique

Le cancer colorectal

Le sexe masculin aussi est un facteur de risque important pour les CCR par rapport au sexe féminin, en raison du mode de vie associé à une exposition accrue à des facteurs de risque qui favorise la formation d'adénomes à haut risque (Regula *et al.*, 2006).

A partir de ces différentes données, une évaluation de niveaux de risque a été proposée :

A- La population « à risque moyen »

Regroupe des patients asymptomatiques âgés de 50 à 74 ans et représente 80 % des CCR. Cette population est la cible éligible au programme national de dépistage organisé du CCR. Le risque de développer un CCR dans cette population a été estimé à 3,5 % à l'âge de 75 ans (Henrikson *et al.*, 2015 ; Tarancón-Diez *et al.*, 2019).

B- La population « à risque élevé »

Représentent 15 à 20 % des CCR. Regroupe des patients qui ont un antécédent personnel d'adénome ou de CCR, ou un antécédent familial au premier degré de CCR ou d'adénome supérieur à 10 mm de diamètre à un âge moins de 65 ans, plus de deux antécédent familiaux au premier degré de CCR quel que soit l'âge de survenue, une maladie inflammatoire chronique et d'autant plus qu'il existe une pancolite ou une atteinte inflammatoire ancienne. Dans cette population, le risque de développer un CCR est évalué à environ 10 %. Le dépistage doit être réalisé par coloscopie (Henrikson *et al.*, 2015 ; Tarancón-Diez *et al.*, 2019).

C- La population « à risque très élevé »

Le risque de développer un CCR est évalué entre 40 et 100 %, regroupe des patients ayant une prédisposition génétique, notamment un SL. Ces patients doivent bénéficier d'un dépistage individuel par coloscopie (Sportes *et Benamouzig*, 2017).

Les antécédents familiaux sont un facteur de risque connu pour le CCR et englobent à la fois les risques génétiques (SL et PAF) et environnementaux (Henrikson *et al.*, 2015 ; Tarancón-Diez *et al.*, 2019).

5.3 Antécédents personnels

Facteur de risque lié à une maladie inflammatoire du côlon. Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) regroupent deux maladies qui se caractérisent par une inflammation de la paroi d'une partie du tube digestif évoluant par poussées : la maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique. Ces maladies touchent environ une personne sur mille (incidence de 5 cas/100 000 habitants/an) à un âge compris entre 20 et 30 ans. Elles seraient

Etude bibliographique

Le cancer colorectal

secondaires à une prédisposition génétique à laquelle peuvent s'associer des cofacteurs immunologiques et environnementaux (Terzić *et al.*, 2010 ; Beauchemin, 2011).

6. La classification TNM

Plusieurs classifications de CCR sont disponibles, elles permettent ainsi de spécifier des caractéristiques biologiques et cliniques distinctes (Smeby *et al.*, 2018).

La classification TNM (tumor/node/metastasis) qui a été publiée en 2018 pour permettre la différenciation des polypes hyperplasiques, des adénomes et des cancers (Djinbachian *et al.*, 2019). Ce système peut améliorer la communication entre les prestataires et permet un meilleur partage d'informations et une meilleure recherche entre les populations. Il repose sur trois critères essentiels : l'évaluation de la tumeur, des ganglions lymphatiques régionaux et des métastases à distance (Rosen et Sapra, 2020). Les classifications de CCR sont liées à des observations anatomopathologiques pour le but de définir une stratégie thérapeutique efficace et moins invasive pour le malade (Besson, 2013) (figure 5).

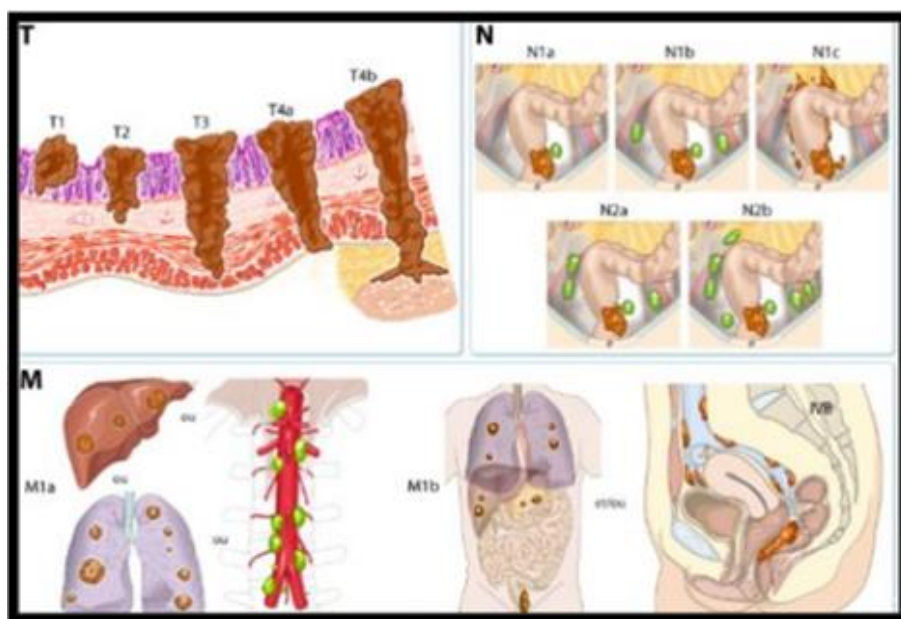


Figure 5 : Classification du CCR selon la classification TNM (Verret, 2014).

7. Les stades du cancer colorectal

Le stade des cancers colorectaux au moment du diagnostic est généralement exprimé par un chiffre romain allant de 0 à IV. La signification de ces cinq stades est expliquée ci-dessous :

- **Stade 0** : la tumeur est in situ, ce qui signifie qu'elle est très superficielle et qu'elle n'envahit pas la sous-muqueuse, que les ganglions lymphatiques ne sont pas atteints et qu'il n'y a pas de métastase à distance.

Etude bibliographique

Le cancer colorectal

- **Stade I** : la tumeur envahit la deuxième couche (sous-muqueuse) ou la couche musculaire (muscleuse) de la paroi du côlon ou du rectum, les ganglions lymphatiques ne sont pas atteints et il n'y a pas de métastase à distance.
- **Stade II** : les cellules cancéreuses ont traversé plusieurs couches de la paroi du côlon ou du rectum, mais aucun ganglion n'est atteint et il n'y a pas de métastase.
- **Stade III** : les cellules cancéreuses ont envahi les ganglions lymphatiques proches de la tumeur.
- **Stade IV** : le cancer s'est propagé au-delà du côlon ou du rectum, vers des emplacements ou des organes éloignés, généralement le foie ou les poumons (Bosman *et al.*, 2010 ; Brierley *et al.*, 2017).

8. Les formes du CCR

8.1 Les formes sporadiques

Surviennent suite à des mutations somatiques spontanées génétiques ou à des altérations épigénétiques impliqués dans la carcinogénèse colorectale (Li *et al.*, 2017).

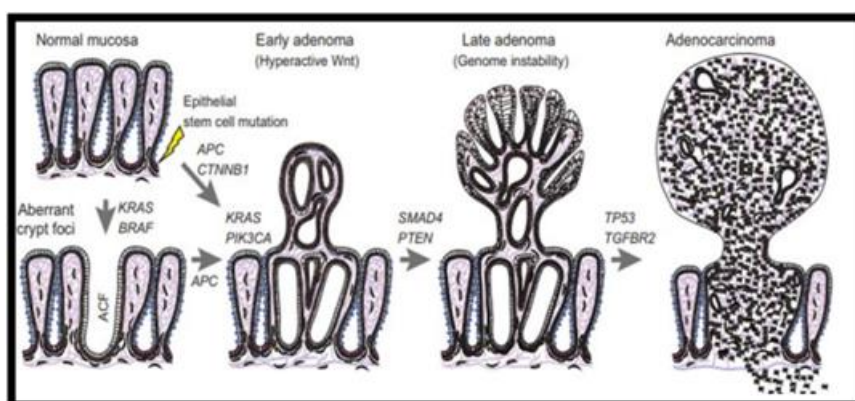


Figure 6 : Tumorigénèse par étape dans les CCR (Strubberg et Madison, 2017).

La carcinogénèse colique est un processus d'initiation et de transformation de cellules normales. Il est constitué de multiples étapes nécessitant l'accumulation d'anomalies génétiques héritées et acquises suite à des modifications génétiques et épigénétiques de l'ADN (Banday *et al.*, 2021). L'instabilité génétique est une caractéristique des cellules cancéreuses. Les déterminants de cette instabilité génétique sont en majorité liés à des mécanismes cellulaires fondamentaux, comme le cycle cellulaire, la réplication ou la réparation de l'ADN. A ces mécanismes s'ajoutent les modifications épigénétiques qui sont transmises de cellules mères à cellules filles. Trois mécanismes différents ont été individualisés dans la cancérogénèse colorectale :

Etude bibliographique

Le cancer colorectal

- **L'instabilité chromosomique (CIN)**

L'instabilité génomique dans la tumorigenèse colorectale se produit principalement par la voie suppressive CIN (Chromosomal instability) qui représente la cause sous-jacente de 80 à 85 % de tous les cas de tumeurs coliques.

La voie de la CIN se caractérise par des changements dynamiques et continus dans non seulement la structure et le nombre de chromosomes mais aussi les mutations génétiques qui affectent le fonctionnement normal des gènes importants impliqués dans des processus cellulaires critiques et conduisant au développement des tumeurs colorectales.

Les modifications de la structure chromosomique sont dues à la perte de régions chromosomiques (délétions sub-chromosomiques) ou au gain de régions chromosomiques (amplifications sub-chromosomiques) et les modifications du nombre de chromosomes sont dues à la perte ou au gain des chromosomes entiers.

Les mutations de gain de fonction dans les proto-oncogènes et les mutations de perte de fonction dans les gènes suppresseurs de tumeurs déclenchent le plus souvent la voie de la CIN.

Les mutations génétiques provoquent le dysfonctionnement d'un certain nombre de voies de signalisation, ce qui favorise différents processus cellulaires qui décrivent la voie de la CIN. Parmi ces événements, les plus importants sont les défauts de ségrégation chromosomique, le nombre atypique de centromères, les défauts de la fonction des centromères, de la fonction des télomères et de la réponse aux lésions de l'ADN, ainsi que la perte d'hétérozygotie.

La perte d'hétérozygotie (LOH), qui se caractérise par la perte d'un allèle à un certain emplacement chromosomique qui est un événement initiateur important dans la tumorigenèse colorectale. La LOH impliquant des loci chromosomiques, qui portent des gènes suppresseurs de tumeurs. C'est l'un des événements les plus fréquents et les plus critiques de la tumorigenèse colorectale. La LOH résulte de divers les événements moléculaires ou chromosomiques : les délétions chromosomiques, la non-disjonction mitotique et la recombinaison entre chromosomes homologues. Des LOH de fréquence variable ont été rapportées sur différents loci chromosomiques à travers le génome dans la plupart des cas de cancer colorectal sporadique. (Banday *et al.*, 2021).

- **L'instabilité des microsatellites (MSI) ou (RER) Replicative error**

Les microsatellites (MS), sont des répétitions de séquences simples et courtes d'ADN de 1 à 6 nucléotides répétées habituellement de 05 à 50 fois. Les MS sont dispersés dans l'ensemble du

Etude bibliographique

Le cancer colorectal

génomique et se trouvent dans les régions codantes (exons) ainsi que dans les régions non codantes (promoteurs, introns et régions non traduites/UTR) du génome.

Les microsatellites sont très sensibles aux erreurs de réplication de l'ADN, le plus souvent sous la forme d'insertion ou de délétion. La boucle insertion-délétion modifie la longueur des MS et conduit à l'instabilité des microsatellites (MSI). Le système de réparation des mésappariements de l'ADN (MMR) joue un rôle essentiel dans le maintien de la stabilité des microsatellites en reconnaissance et la correction des erreurs introduites pendant la réplication de l'ADN. Le mauvais fonctionnement du système de réparation des mésappariements dû à un défaut dans l'un des gènes ou des protéines impliquées entraîne des mutations de cadre de lecture. L'accumulation de ces mutations dans le génome, et en particulier dans les gènes qui contiennent des microsatellites, entraîne une instabilité des microsatellites (MSI). La voie de l'instabilité des microsatellites (MSI) (voie du mutateur) est un autre facteur important d'instabilité génomique dans la tumorigenèse colorectale après la voie CIN représente la cause sous-jacente de 15 à 20 % de tous les cas de cancer colorectal (Banday *et al.*, 2021).

- **Méthylation des îlots CpG**

La méthylation de l'ADN est un mécanisme épigénétique essentiel pour la régulation de l'expression des gènes. La méthylation de l'ADN implique l'ajout enzymatique d'un groupe méthyle à la base cytosine et se produit le plus souvent sur le dinucléotide d'îlots CpG (5'-C-phosphate-G-3'). Les îlots CpG se trouvent le plus souvent dans les régions promotrices des gènes, en amont et à proximité du site de début de transcription dans environ 70 % de tous les gènes humains. La méthylation des îlots CpG inhibe la liaison des facteurs de transcription et module les modifications des histones, en particulier l'acétylation. La voie du phénotype méthylateur des îlots CpG (CIMP) résulte principalement de l'hyperméthylation de l'ADN des îlots CpG, ce qui entraîne l'extinction de gènes ou de classes de gènes importants. Il s'agit notamment des gènes régulateurs comme les gènes régulateurs du cycle cellulaire (dans les cancers colorectaux), des gènes suppresseurs de tumeurs (polypose adénomateuse colique), des gènes de réparation de l'ADN (*MLH1*) et des antagonistes de la signalisation. La voie CIMP représente la cause sous-jacente de 15 à 20 % de tous les cas de cancer colorectal sporadique (Banday *et al.*, 2021) (figure 7).

Etude bibliographique

Le cancer colorectal

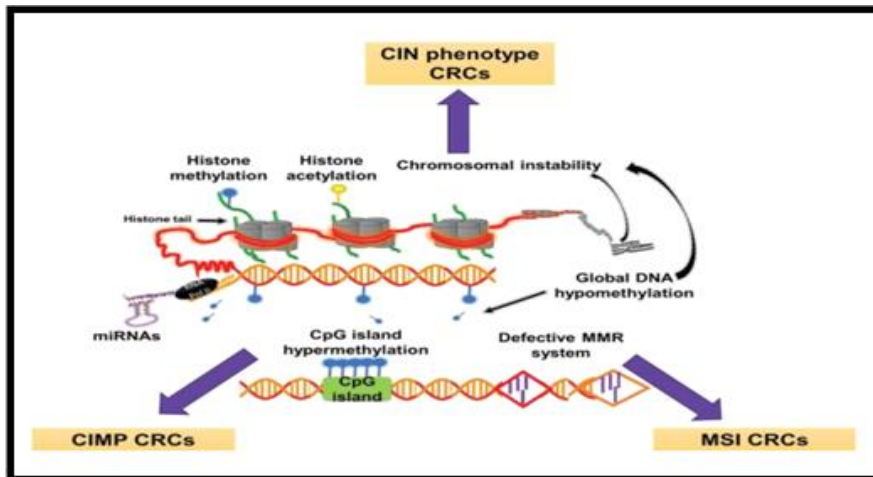


Figure 7 : Schéma illustrant les altérations épigénétiques du CCR et leur association avec le mécanisme moléculaire du CCR (Hartley *et al.*, 2019).

8.2 Les formes familiales (génétiques, héréditaires)

Elles sont dues à des mutations germinales dans un gène du système MMR cas de syndrome de Lynch et dans les gènes de la polypose coli adénomateuse (APC) ou MUTYH on cas de la polypose adénomateuse familiale (PAF). Les descendants des personnes atteintes par ces cancers présentent un risque plus important de développer des CCR (Tarancón-Diez *et al.*, 2019).

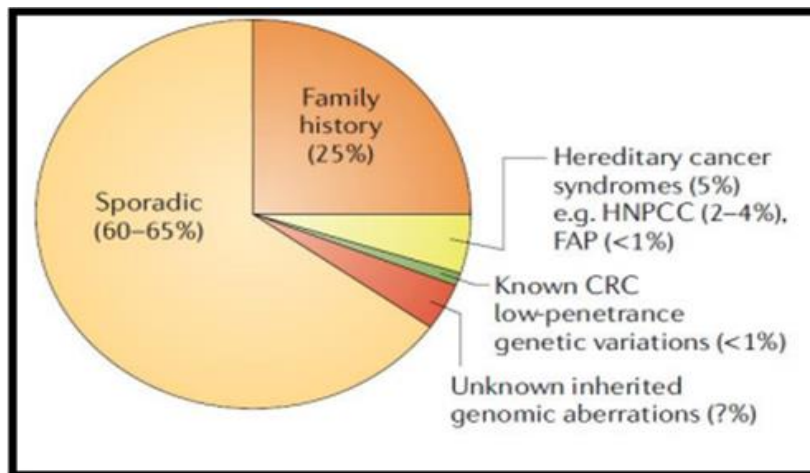


Figure 8 : Proportion des différents types de cancers colorectaux (Keum et Giovannuci, 2019).

II. Syndrome de lynch

1. Introduction

Le syndrome cancéreux familial le plus courant c'est le SL qui est autosomique dominant apparait à un âge très précoce. Il représente 3% de tous les CCR causé par des mutations qui touchent les gènes du système MMR ou des délétions d'EPCAM qui entraîne des méthylations du gène *MSH2* (Martinez-Roca *et al.*, 2022).

Le syndrome de Lynch, auparavant dénommé syndrome *Hereditary Non Polyposis Colorectal Cancer* (HNPCC), correspond à la forme la plus fréquente de prédisposition héréditaire au cancer colorectal (Bibeau *et al.*, 2020).

Il se caractérise par un risque très élevé de développer de façon précoce non seulement des CCR, mais aussi des cancers extra-coliques (endomètre, ovaires, voies urinaires hautes), s'intégrant aux cancers dits du « spectre étroit ». Il présente un moindre risque de développer d'autres cancers (estomac, intestin grêle, voies biliaires, pancréas, glioblastome) appelés cancers du « spectre large ». Ce syndrome, de transmission autosomique dominante, est lié à des mutations de gènes impliqués dans la réparation des mésappariements de l'ADN survenant lors de la réplication. L'altération de la fonction des gènes MMR conduit à une instabilité du génome dans les cellules tumorales, visible au niveau des loci de type microsatellites (instabilité micro-satellitaire ou Microsatellite Instability MSI). Elle s'accompagne le plus souvent d'une perte d'expression d'une des protéines du système MMR identifiable en immunohistochimie (Bibeau *et al.*, 2020).

2. Historique

L'histoire du SL commence en 1895, après observation clinique de cancers réalisée par Aldred Scott Warthin dans une famille « G » dont il publia la généalogie en 1913 (Warthin AS, 1913). C'est en 1971 que Lynch et Krush ont réétudié cette même famille et ont décidé d'appeler ce syndrome « HNPCC » acronyme pour Hereditary Non Polyposis Colorectal Cancer (Lynch et Krush, 1971). Dès les années 1960, cette pathologie avait été déterminée comme étant transmise selon le mode autosomique dominant (Lynch *et al.*, 1966). Le nom, HNPCC, de ce syndrome a été soumis à de nombreux débats, car ce nom évoque trop l'absence de polypes, ce qui ne correspond pas à la réalité clinique de cette pathologie. Il est rebaptisé : Syndrome de Lynch.

Etude bibliographique

Syndrome de lynch

3. Le spectre du syndrome de lynch

Le syndrome de lynch est défini selon un spectre étroit ou large. Le premier regroupe les tumeurs du côlon, rectum, l'endomètre, l'intestin grêle et les voies urinaires. Le deuxième spectre regroupe les tumeurs de l'estomac, des ovaires, des voies biliaires et certaines tumeurs cutanées. Les études ont permis d'exclure du SL le cancer du sein et de la prostate (Frémont et Tougeron, 2016) (Tableau 2).

Tableau 2 : Spectre du SL et risque cumulés de cancer (Frémont et Tougeron, 2016).

	Type de cancer	Risque cumulé de cancer(%)
Spectre étroit	ADK colorectal	20–70
	ADK de l'endomètre	10–70
	ADK de l'intestin grêle	1–10
	Carcinome des voies urinaires supérieures	1–20
Spectre large	ADK de l'estomac	1–15
	ADK de l'ovaire (le plus souvent endométrioïde)	2–20
	ADK des voies biliaires (cholangiocarcinome)	1–7
	Glioblastome	1–3

4. Critères de sélections

C'est en 1997 que les chercheurs ont publiés les premiers critères des élections qui sont nommés (les critères de Bethesda) et sont par la suite révisés en 2004 (Umar *et al.*, 2004). Les deuxièmes critères utilisés et publiés en 1991 (Vasen *et al.*, 1991) puis élargis en 1999 pour intégrer les cancers extracoliques, donc ils sont devenus les critères d'Amsterdam II Au lieu d'Amsterdam I. Ces derniers sont trop restrictifs et conduisent à un taux important de faux négatifs (Vasen *et al.*, 1999).

4.1 Critères d'Amsterdam II

≥ 3 apparentés atteints d'un cancer du spectre étroit ou élargi (tous les critères sont nécessaires)

1. L'un d'entre eux doit être un parent au premier degré des deux autres.
2. Au moins deux générations successives doivent être touchées
3. Au moins une personne doit avoir été diagnostiquée avant l'âge de 50 ans.
4. La polypose adénomateuse familiale doit être exclue.
5. Le diagnostic de la tumeur doit être confirmé par un examen histopathologique (Coffin *et al.*, 2019) (Annexe 1).

4.2 Critères de Bethesda

Critères de Bethesda révisés (un seul critère suffit) :

1. CCR diagnostiqué chez un patient de moins de 50 ans.
2. Présence de tumeurs colorectales synchrones, métachrones ou d'autres tumeurs associées au syndrome de Lynch quel que soit l'âge du patient.
3. Cancer colorectal < 60ans avec histologie MSI-H
4. CCR diagnostiqué chez un patient ayant un ou plusieurs parents au premier degré atteints d'une tumeur associée au LS, l'un des cancers ayant été diagnostiqué avant l'âge de 50 ans dont l'un des cancers a été diagnostiqué avant l'âge de 50 ans.
5. CCR diagnostiqué chez deux ou plusieurs parents au premier ou au second degré avec une tumeur associée au LS, quel que soit l'âge (Coffin *et al.*, 2019) (Annexe 3).

5. Génétique et mécanisme moléculaire du SL

Dans les années 1990 ont été un tournant décisif dans l'identification moléculaire des gènes responsables de SL. Il a été constaté la présence des séquences anormalement répétées pouvant correspondre à un mécanisme de carcinogénèse des cancers colorectaux associés à une MSI. Par la suite, ils ont identifié les gènes responsables du SL ; les gènes *MSH2*, *MLH1*, *PMS2*, *PMS1*, et finalement *MSH6*

Le Syndrome de lynch est lié à la présence d'une mutation sur un seul exemplaire des deux gènes des chromosomes homologues. La personne prédisposée à ce syndrome est hétérozygote. Elle hérite un gène muté de l'un des deux parents (allèle muté inactif) et un gène normal de l'autre parent (allèle sauvage fonctionnel). La mutation étant portée par un autosome. Le SL se transmet donc sur un mode autosomique dominant. La mutation est également qualifiée de constitutionnelle car elle est présente dans toutes les cellules de l'individu y compris les cellules reproductrices, ce qui explique que cette mutation puisse être transmise à la descendance (Boukir *et al.*, 2016).

Etude bibliographique

Syndrome de Lynch

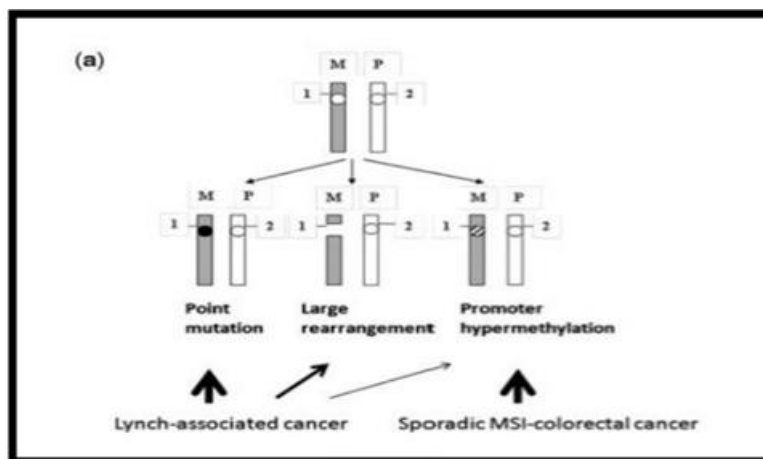


Figure 9 : Mécanismes moléculaires du premier coup dans le cancer associé au syndrome de Lynch par rapport au CCR MSI sporadique (Peltomäki, 2014).

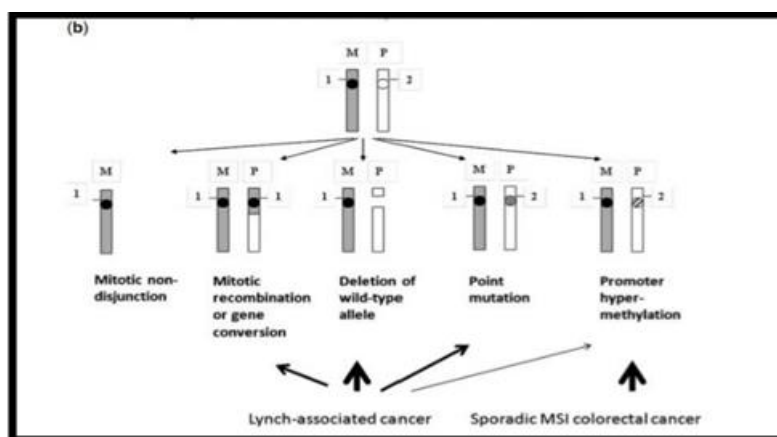


Figure10 : Les mécanismes correspondants du deuxième hit (Peltomäki, 2014).

Le premier hit est marqué d'un cercle noir respectif des types de mutation.

Aucune flèche ne pointe vers la non-disjonction mitotique, car ce mécanisme est généralement associé à une instabilité chromosomique et est rare dans les cancers MST.

L'épaisseur des flèches représente l'importance relative des différents mécanismes. M désigne le chromosome maternel et P le chromosome paternel (dans ce cas, le chromosome 3), et 1 et 2 désignent les deux allèles d'un gène prédisposant (M7). Un lieu mutant est indiqué par un cercle plein et un lieu normal non affecté par un cercle vide. Le chromosome maternel a été arbitrairement choisi comme cible du premier coup dans ce diagramme.

6. Système de réparation des mésappariements de l'ADN

Le système de réparation des mésappariements de l'ADN, dit système MMR (*Mis Match Repair*) reconnaît et répare les erreurs d'insertion, de délétion ou de mésappariements de bases qui surviennent lors de la réplication de l'ADN. Malgré la haute-fidélité des ADN

Etude bibliographique

Syndrome de lynch

polymérase, le processus de réplication peut en effet être source d'erreurs. Le système MMR est un mécanisme hautement conservé, qui assure l'intégrité du génome. Le système MMR fait intervenir un complexe protéique comprenant notamment *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* et *PMS2* qui fonctionnent sous la forme d'hétérodimères (*MLH1/PMS2*, *MSH2/MSH6*) au travers ces grandes étapes (figure 11) (Li, 2008 ; Frémont et Tougeron, 2016).

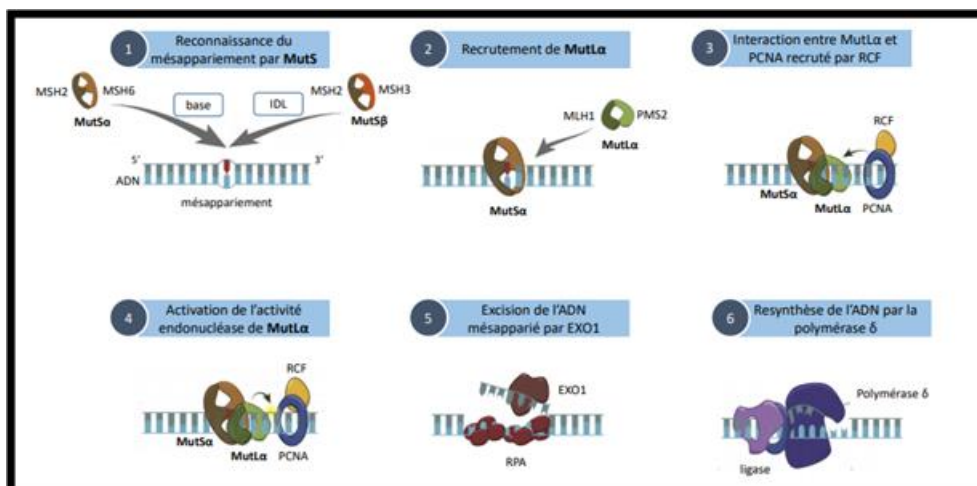


Figure 11 : Les étapes du fonctionnement du système MMR (Li et Martin, 2016).

1- L'ADN mésapparié peut être un mésappariement base/base ou une boucle d'insertion/délétion (IDL). Selon la nature du mésappariement, il est reconnu par le complexe *MutS* α (*MSH2-MSH6*) ou *MutS* β (*MSH2-MSH3*).

2- *MutL*α (*MLH1-PMS2*) est recruté au site du mésappariement.

3- PCNA interagit avec *MutL*α après avoir été chargé sur l'ADN par RCF.

4- Ce qui active l'activité endonucléasique de *MutL*α.

5- EXO1 réalise l'excision du fragment d'ADN contenant le mésappariement, pendant que RPA se lie à l'ADN simple brin pour le protéger.

6- Un nouveau brin d'ADN est synthétisé par l'ADN polymérase qui est lié à la molécule d'ADN initiale par la ligase (Li & Martin, 2016).

7- Fonctions associées aux protéines MMR

Les gènes MMR codent des protéines qui interviennent dans le maintien de l'intégrité d'ADN au cours des divisions cellulaires. Les fonctions essentielles du système MMR sont :

7.1 Réparation post-répliquative des mésappariements de l'ADN

Cette voie de réparation permet de détecter et d'exciser précisément le mésappariement avant de resynthétiser correctement le brin néoformé. Grâce à ce système, le taux d'erreurs de la réplication diminue de 1000 à moins d'une erreur par génome diploïde.

Chez l'homme, deux principaux complexes peuvent être distingués :

Syndrome de lynch

- le complexe *MutS* qui est à l'origine de la reconnaissance du mésappariement.
- le complexe *MutL* qui sert d'interface entre le premier complexe et les acteurs de la réparation de l'erreur de réplication (Reyes *et al.*, 2015).

7.2 Signalisation apoptotique de certains dommages de L'ADN

Le système MMR intervient dans la réponse cellulaire à certains agents génotoxiques car les hétéro duplexes *MutS* sont capables de reconnaître des altérations de l'ADN induites par des agents chimiques qui cause l'arrêt du cycle cellulaire et l'apoptose de la cellule (Jiricny, 2006 ; O'brien et Brown, 2006 ; Hsieh et Yamane, 2008 ; Gupta et Heinen, 2019).

7.3 Autres fonctions portées par les protéines MMR

Les protéines MMR interviennent également au sein d'autres voies de réparation de l'ADN. Toute altération de la conformation hélicoïdale de l'ADN constitue une cible potentielle pour les composants du système MMR (Jiricny, 2006 ; Gupta et Heinen, 2019).

7.4 Domaines fonctionnels des protéines MMR

Les protéines majeures du système MMR présentent des domaines fonctionnels spécifiques importants pour leurs activités de réparation de l'ADN. Les protéines *MSH2* et *MSH6* portent des domaines d'interaction qui permettent la formation de l'hétéro dimère *MutSa*. Ces protéines possèdent chacune un domaine de liaison à l'ADN pour la fixation de l'hétéro dimère *MutSa* au brin d'ADN porteur du mésappariement. Le domaine «connecteur» permet la connexion entre le brin d'ADN et une troisième région, le domaine «levier» séparé en deux zones distinctes par le domaine «pince». La combinaison de ces trois domaines assure le maintien de l'hétéro dimère sur l'ADN endommagé favorisant l'activation du domaine ATPase.

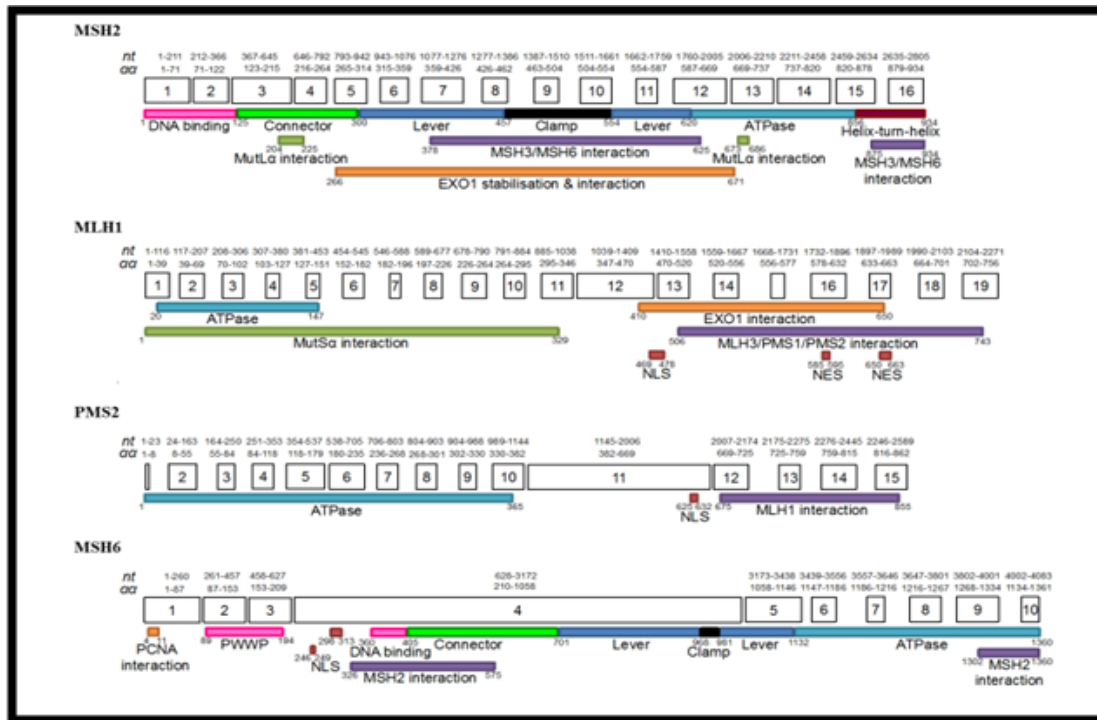


Figure 12: Représentation schématique des gènes et des domaines fonctionnels des protéines MMR.

https://www.insightgroup.org/content/uploads/2018/08/2018-06_InSiGHT_VIC_v2.4.pdf

8. Gènes MMR

- *MLH1*

Le gène *MLH1* localisé sur le chromosome 3 en position 3p21.3, comprend 19 exons. Il code pour une protéine de 84 kDa constituée de 756 acides aminés. La protéine est constituée de domaines très conservés et indispensables dans la fonction de coordination du système MMR, dont un domaine ATPase, un domaine de liaison aux homologues *MutS* (*MSH2* et *MSH6*), ainsi qu'un domaine d'interaction avec la protéine partenaire constituant le dimère MutL (*PMS2* ou *MLH3*) (Miyabe *et al.*, 2020).

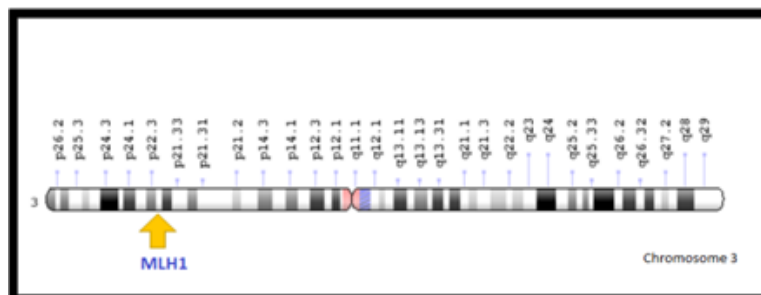


Figure 13 : Localisation du gène *MLH1* (Peltomäki et Vasen, 2004).

- *MSH2*

Le gène *MSH2* localisé sur le chromosome 2 en position p22-p21, comprend 16 exons codant pour une protéine de 104 kDa constituée de 934 acides aminés. C'est le premier gène MMR

Etude bibliographique

Syndrome de lynch

identifié par analyse de liaison dans les familles où les tumeurs colorectales ont un profil MSI I (Miyabe *et al.*, 2020).

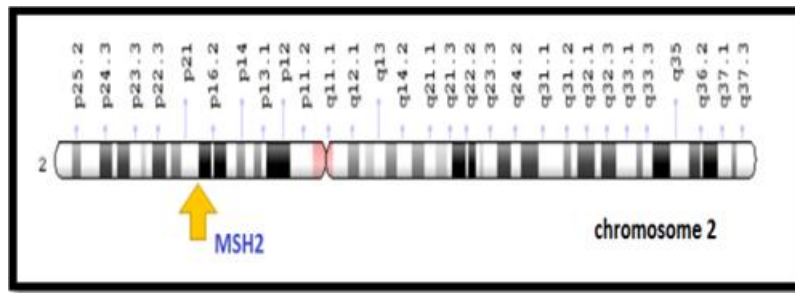


Figure 14 : Localisation du gène *MSH2* (Peltomäki et Vasen, 2004).

- ***MSH6***

Le gène *MSH6* localisé sur le chromosome 2 en position 2p16, comprend 10 exons, codant pour une protéine de 1360 acides aminés. Il est constitué d'un domaine ATPase, un domaine de liaison à la protéine PNCA, un domaine de liaison aux mésappariements et un domaine d'interaction avec la protéine *MSH2* (Miyabe *et al.*, 2020).

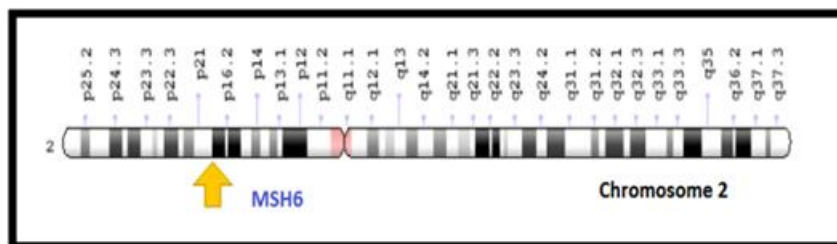


Figure 15 : Localisation du gène *MSH6* (Peltomäki et Vasen, 2004).

- ***PMS2***

Le gène *PMS2* localisé sur le chromosome 7 en position 7p22, comprend 15 exons codant pour une protéine de 862 acides aminés. Le gène *PMS2* comporte de nombreux pseudo-gènes (environ 15 sur le même chromosome), dont le pseudo-gène *PMS2CL* très proche du gène fonctionnel (Miyabe *et al.*, 2020).

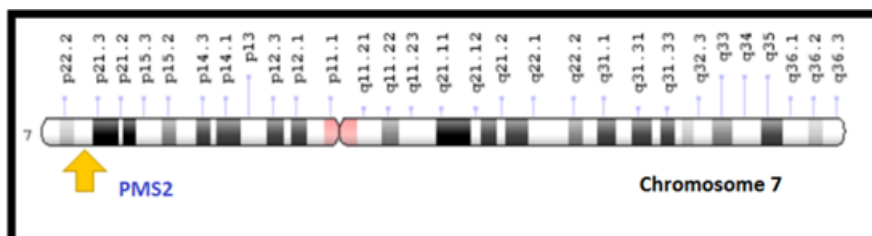


Figure 16 : Localisation du gène *PMS2* (Peltomäki et Vasen, 2004).

9. Mutations du système MMR

L'inactivation du système MMR n'est pas un événement transformant en soi : c'est l'instabilité génomique qu'elle engendre qui constitue un processus oncogénique. Le raccourcissement des microsatellites, qui a donné son nom au phénotype MSI, provoque des décalages du cadre de lecture et l'apparition de codons stop prématurés sur l'ARNm si la séquence est transcrite. Par ailleurs, le système MMR est également impliqué dans la réparation des bases mésappariées et l'inactivation du système MMR provoque donc également des mutations ponctuelles. Ainsi, les cancers MSI sont associés à un taux de mutations (décalage du cadre de lecture et mutations faux-sens) de 100 à 1000 fois plus important que les cancers non MSI (Baretti M et Le, 2018). Les microsatellites sont dispersés sur l'ensemble du génome, et 20% des gènes humains contiennent un microsatellite de 7 nucléotides ou plus au sein de leur région codante (El-Bchiri *et al.*, 2008). Tous ces gènes sont de potentiels gènes cibles de l'instabilité microsatellitaire.

Les conséquences de cette instabilité sur les protéines issues de ces gènes sont une perte (totale ou partielle) de la fonction, un effet dominant négatif ou une haplo-insuffisance. Ces gènes sont impliqués dans différentes fonctions cellulaires, telles que la réparation de l'ADN (*MSH3*, *MSH6*, *MRE11A*), la régulation épigénétique (*HDAC2*, *ARID1A*), la signalisation (*TGFBR2*, *IGFR2*, *ACVR2A*), l'apoptose (*BAX*) et le traitement des ARNm (*TARBP2*, *XPO5*) (Baretti et Le, 2018 ; Duval et Hamelin, 2002a ; Duval et Hamelin, 2002b ; Yamamoto et Imai, 2015). Il est intéressant de noter que tous les gènes MMR, à l'exception de *MLH1*, contiennent une ou plusieurs séquences répétées dans leur région codante (Chang *et al.*, 2001).

10. Diagnostic

Le diagnostic de certitude du syndrome de Lynch repose sur l'identification de la mutation d'un gène MMR. Toutefois, le séquençage des gènes MMR est difficile et coûteux. D'où plusieurs approches incluant des critères cliniques, des modèles statistiques et des tests moléculaires tumoraux ont été établis afin de sélectionner les candidats potentiels aux tests génétiques.

Plusieurs systèmes de classification clinique reposant sur les antécédents personnels et familiaux ont été développés pour qualifier le risque de syndrome de Lynch. Les critères d'Amsterdam II n'identifient qu'environ la moitié des patients avec syndrome de Lynch et environ la moitié des familles qui valident ces critères n'ont pas de syndrome de lynch. Chez

les familles qui valident les critères d'Amsterdam sans mutation MMR avec un CCR ayant une stabilité microsatellitaire. Il s'agit d'une nouvelle entité caractérisée par un risque accru de CCR mais sans sur risque pour les autres cancers. Les critères de Bethesda révisés ont été développés pour améliorer la sensibilité des critères d'Amsterdam. Néanmoins, au sein des familles qui valident les critères de Bethesda sans valider les critères d'Amsterdam, une mutation d'un gène MMR n'est identifiée que dans 15-30% des cas (Mnif *et al.*, 2018).

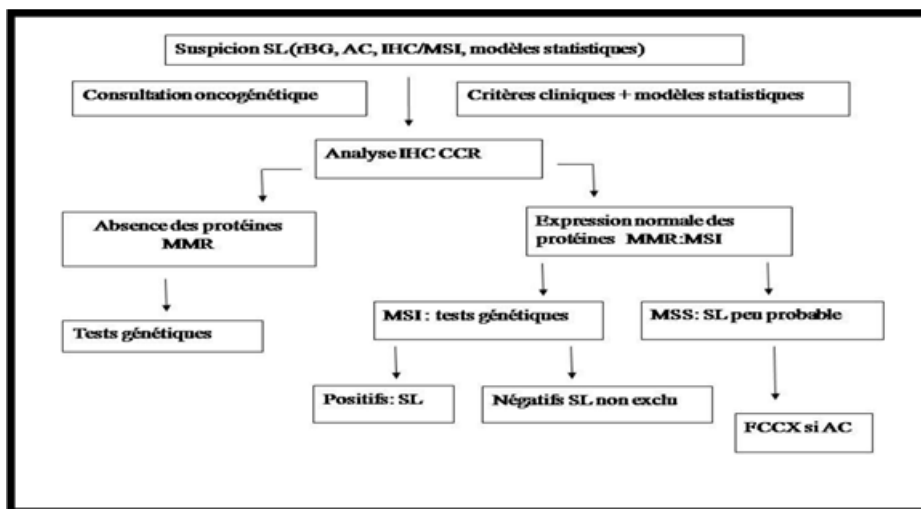


Figure17 : Stratégie du diagnostic en cas de suspicion de syndrome de Lynch (Mnif *et al.*, 2018).

11. Analyse génétique

Les gènes associés au syndrome de Lynch sont pour la plupart identifiés, il est possible de savoir si une personne porte une mutation sur l'un d'entre eux. Une analyse génétique est proposée aux personnes des familles dans lesquelles il existe un syndrome de Lynch, soit parce qu'une mutation a déjà été identifiée chez une personne atteinte de la famille, soit parce que l'histoire familiale des cancers est très évocatrice d'un syndrome de Lynch.

La première étape d'une analyse génétique est de trouver la mutation chez une personne atteinte d'un cancer colorectal ou de l'endomètre, appelée le « cas index » de la famille, en explorant les gènes MMR. On peut identifier une mutation dans 70% des cas grâce à la sensibilité des techniques d'analyse. Lorsqu'une mutation associée au syndrome de Lynch a été identifiée dans une famille, il est proposé aux personnes à risque de cette famille de savoir si elles ont hérité de la mutation familiale, en réalisant un test génétique ciblé sur la mutation identifiée on parle de « test présymptomatique » ou « test prédictif ».

Si la mutation est présente chez une personne, elle a un risque de développer un cancer colorectal avant l'âge de 70 ans de 40 à 50 %, en moyenne. Si la personne est une femme, elle a également un risque spontané de 30 à 40 % en moyenne de développer un

cancer de l'endomètre avant 70 ans, ainsi qu'un risque de 10 à 20 % de développer un cancer des ovaires.

Ces personnes ont également un risque de développer d'autres cancers en relation avec le syndrome de Lynch, mais avec une fréquence très inférieure. Il est donc essentiel de savoir que ce n'est pas par ce qu'on porte une mutation associée au syndrome de Lynch qu'on développera avec certitude un cancer au cours de sa vie. Une personne sans mutation a un risque de développer un cancer colorectal ou de l'endomètre identique à celui de la population générale, c'est à dire de l'ordre de 5 % et de 3% avant 70 ans, respectivement.

Une personne qui n'a pas hérité de la mutation familiale ne peut pas la transmettre à ses enfants (Vivre avec un syndrome de lynch ou HNPCC, 2014 www.hnpcc-lynch.com).

12. Traitement

Le traitement du cancer colorectal doit être multidisciplinaires, à côté de la chirurgie qui est considérée comme le principal traitement (Aparicio, 2018), la chimiothérapie est utilisée afin de réduire la taille du CCR avant une chirurgie, en complément à la chirurgie pour éliminer les cellules cancéreuses restantes utiliser afin d'augmenter la survie et d'assurer le confort du patient (Correard et Estéve, 2020).

La radiothérapie est également un traitement essentiel pour guérir les patients, elle consiste à détruire la totalité des cellules cancéreuses à l'aide de rayons X ou de particules de haute énergie (Chatignoux *et al.*, 2019).

Les thérapies ciblées sont aujourd'hui des molécules de base dans le traitement du CCR métastatique (CCRM) avec le ciblage de la voie du récepteur de l'EGF par des anticorps monoclonaux anti-récepteurs de l'EGF (EGFR). La liaison de l'EGF à son récepteur active des voies de signalisation intracellulaires conduisant à la prolifération des cellules tumorales (Piawah et Venook, 2019).

13. Dépistage

Un pourcentage important de décès par CCR est dû à l'absence de dépistage. L'amélioration des procédures de diagnostic ont contribué à réduire le nombre de cas des CCR (Sur, 2019).

Parmi les méthodes actuelles de dépistage des CCR :

-la coloscopie (Lee *et al.*, 2019).

-la radiographie structurelle du côlon (Simon *et al.*, 2016).

-la sigmoïdoscopie flexible (FSIG) (Moore et Aulet, 2017).

Il existe d'autres méthodes de diagnostic :

Syndrome de lynch

-les tests ADN des selles à plusieurs cibles, tests immunochimiques fécaux et les MT et imagerie (Das *et al.*, 2017).

III. Polymorphismes génétiques

1. Introduction

Les polymorphismes génétiques sont le support de variations phénotypiques mineures mais peuvent aussi expliquer les différences entre les individus dans la prédisposition héréditaire à certaines pathologies ou la sensibilité à certains médicaments. La variabilité génétique peut être présente sous multiples formes, incluant les séquences répétées en tandem, les insertions/délétions, les variations du nombre de copies et les polymorphismes mononucléotidiques ou SNP (single nucleotide polymorphism) (Frazer *et al.*, 2009 ; Robert, 2010).

Plusieurs altérations génétiques ont été identifiées sous la forme de SNP dans les gènes *MMR*, mais la fonction de ces polymorphismes est largement inconnue.

2. Polymorphisme dans les parties régulatrices

2.1 Polymorphisme c. -93G>A (rs1800734)

Environ 50 % des malades atteints du SL portent plusieurs centaines de gènes *MLH1* mutés ce qui va conduire à un fonctionnement incorrect de la protéine *MLH1* produite par le gène *MLH1*. Ce dysfonctionnement est traduit par une hyperméthylation des îlots CpG du promoteur *MLH1* et cela va considérablement réduire la fonction primaire qui est de réparer les mésappariement, ce qui va conduire au développement de cancers et d'après cela l'apparition du SL (Whifn *et al.*, 2011). *MLH1* -93G> A (rs1800734) est un polymorphisme (du grec « poly » plusieurs et « morphe » forme) localisé dans le noyau promoteur de gène *MLH1*, 93 bases en amont du site de démarrage de la transcription dans une région requise pour une activité transcriptionnelle maximale (Ito *et al.*, 1999 ; Arita *et al.*, 2003). La variation polymorphe dans cette région devrait affecter l'expression de la protéine. En effet, la mutagenèse dirigée de résidu adénine 2 bases en aval du polymorphisme -93G>A en position 91 qui va réduire l'activité du promoteur à 75% (Arita *et al.*, 2003). Ce polymorphisme produit fréquemment une hyperméthylation qui affecte la propension du promoteur du gène qui va réduire au silence transcriptionnel d'une manière spécifique à l'allèle. Plusieurs chercheurs comme Chen et ses collègues ont signalé une association entre l'allèle *MLH1* -93A et la méthylation du promoteur *MLH1* dans certains cancers comme le CCR et le cancer de l'endomètre (Chen H *et al.*, 2007), et le risque élevé de leucémie myéloïde aiguë induit par le traitement (t-AML) (Worrillow *et al.*, 2008).

Etude bibliographique

Polymorphismes génétiques

2.2 Polymorphisme c. -118 T>C (rs1800734)

C'est un polymorphisme qui touche les régions régulatrices du gène *MSH2* qui pourrait causer une transition T>C au niveau du codon -118.

La plupart des études ont étudié la relation entre ce polymorphisme, rs2303425 sur le gène *MSH2* et la susceptibilité à ces types de cancers : Il a été constaté que ce SNP pourrait être associé à la susceptibilité au cancer colorectal (Mrkonjic *et al.*, 2007), cancer de la vésicule biliaire (Srivastava *et al.*, 2010), cancer gastrique et récemment au cancer du sein d'apparition précoce (Xiao *et al.*, 2012). Cependant aucune preuve ne conclut l'association entre le polymorphisme rs2303425 et le risque de cancer du poumon (Lo *et al.*, 2011).

3. Polymorphisme dans les parties exoniques

Les SNP se produisant au niveau des exons mais qui ne semblent avoir aucun effet modulateur sur la fonction de la protéine tels :

- Le SNPc.198C>T, (p.Thr 66 Thr) (*rs61751642*) situé sur l'exon 2 du gène *MLH1*. Ce polymorphisme portant une variation synonyme dans la position 66 de la protéine *MLH1* a été considéré comme un variant probablement non pathogène (classe 2) selon la classification InSiGHT (www.insight-database.org).

Il a été pourtant décrit chez des patients présentant un CCR avec MSI ou un cancer du pancréas dans le cadre du SL (Ghimenti *et al.*, 1999 ; Borràs *et al.*, 2012).

- Le SNPc.637G>A, (p.Val213Met) (*rs2308317*) sur l'exon 8 du gène *MLH1*. Il a été classé comme variant non pathogène (classe 1) selon InSiGHT (www.insight-database.org).

Il est rapporté par plusieurs études concernant le CCR et le cancer de l'endomètre parmi les sujets présentant un SL (Cravo *et al.*, 2002 ; Hampel *et al.*, 2006 ; Takahashi *et al.*, 2007).

- Le SNP c.1787A>G (p.Asn596Ser) (*rs41295288*) sur l'exon 12 du gène *MLH1*. Le variant (*rs41295288*) a été décrit dans plusieurs populations (Mangold *et al.*, 2005 ; Betz *et al.*, 2010) et il a été classé comme un variant de signification inconnue (classe 3) selon InSiGHT (www.insight-database.org).
- Le polymorphisme c.1666T>C (p.Leu556Leu) (*rs61756466*) sur l'exon 11 du gène *MSH2*. L'analyse fonctionnelle de l'ARNm a démontré que ce variant n'a eu aucun effet sur l'épissage (Tournier *I et all*, 2008), il a été rapporté comme une variation de signification inconnue (classe 3) (Hansen *et al.*, 2014).

Etude bibliographique

Polymorphismes génétiques

3.1 Le polymorphisme *MSH2* Gly322Asp

Le polymorphisme *MSH2* Gly322Asp (1032G>A, rs4987188) est un SNP faux-sens qui entraîne un passage de la glycine à l'acide aspartique au codon 322 également connu sous le nom de MutS.

protéine homologue 2, est un gène suppresseur de tumeur qui code pour une protéine jouant un rôle crucial dans la réparation des mésappariements de l'ADN, mais qui a aussi une activité dans d'autres types polyvalents de réparation de l'ADN tels que la recombinaison homologue, la réparation couplée à la transcription ou encore la réparation par excision de bases. L'instabilité des microsatellites est également une caractéristique de l'axe du cancer colorectal héréditaire sans polypose HNPCC.

La recherche de pointe se concentre sur l'analyse des aspects génétiques polyvalents et sur la tentative de les associer aux manifestations cliniques de la carcinogenèse. Des efforts considérables ont été déployés récemment pour étudier les polymorphismes d'un seul nucléotide SNP, qui peuvent souligner les différences de susceptibilité et d'histoire naturelle des maladies. Selon le NCBI plus de 150 millions de SNP ont déjà été découverts chez l'homme et jusqu'à 380 SNP uniquement dans le gène *MSH2*. Une corrélation positive entre les polymorphismes du gène *MSH2* et l'apparition du cancer a été signalée dans le cancer colorectal, du cancer gastro œsophagien, du cancer du poumon ou même de la vésicule biliaire. (Romanowicz *et al.*, 2016)

4. Association polymorphisme rs1800734 et CCR

L'importance de *MLH1* dans le CCR et sa propension à l'hyperméthylation sont connues depuis un certain temps (Jones et Laird, 1999), et il existe une littérature abondante sur l'utilisation de la méthylation de *MLH1* et/ou du MSI comme biomarqueur dans la classification du CCR. dans des lignées cellulaires cancéreuses les mutations oncogènes BRAF médiant le phénotype de méthylation des îlots CpG (CIMP) entraînant une hyperméthylation au niveau de *MLH1* et d'autres gènes marqueurs CIMP, via le répresseur transcriptionnel (Fang *et al.*, 2014).

Une meilleure compréhension de l'acquisition de la méthylation du promoteur *MLH1* est venue de l'étude d'un polymorphisme nucléotidique unique SNP, rs1800734, qui se trouve dans la région 5' non traduite de *MLH1*. Dans plusieurs études candidates, le polymorphisme rs1800734 augmentait d'un facteur 1,68 IC95% (1-2,83), $p=0,05$ le risque de CCR (Whifn *et al.*, 2011), cette forte association est limitée aux cancers MSI+ et est faible ou absente dans les ensembles de données non stratifiés.

Etude bibliographique

Polymorphismes génétiques

5. Association polymorphisme rs1800734 et autres cancers

Ce polymorphisme affecte non seulement le développement du CCR, mais aussi des cancers de l'endomètre et de l'ovaire, 12% de tous les cancers invasifs sont dus à l'hérédité d'une mutation *BRCA1* ou *BRCA2* (Risch *et al.*, 2001), et moins fréquents de 1 à 2 % des cas de cancer de l'endomètre et de l'ovaire sont dus à des mutations dans le gène de réparation des mésappariements MMR. (Rubin *et al.*, 1996 ; Malander *et al.*, 2006). Un polymorphisme unique SNP est identifié dans la région promotrice de gène *MLH1* (nt-93) associée à un risque 1,5 fois plus élevé de développer un cancer de l'endomètre pour les porteuses, avec un risque vie de 2,3 % à l'âge 74 ans (Herman *et al.*, 1998 ; Beiner *et al.*, 2006) .les chercheurs willner et al sont montrés que 20% des carcinome épithéliaux de l'ovaire présenté une hyperméthylation du promoteur *MLH1* (Willner *et al.*, 2007).



I. Patients et témoins

1. recrutement de patients

Dans un premier temps, nous avons entrepris une étude rétrospective descriptive. Pour cela, nous avons inclut les patients ayant les cancers du côlon et/ou du rectum admis au CHU de Constantine durant les années 2017, 2018 et 2019.

Le recensement a été effectué au service de l'épidémiologie sous forme de registre de cancer afin de dénombrer tous les malades et calculer l'incidence de l'atteinte de chacun de ces deux types de cancers sur le territoire constantinois.

Ensuite, dans un deuxième temps, nous avons réalisé une étude prospective transversale. Il s'agit d'une étude de type cas-témoin, Elle a duré trois mois et a porté sur deux populations, l'une témoins et l'autre patients.

La collecte de nos patients a été effectué au niveau de : services d'oncologie médicale Centre Anti Cancéreux (CAC), la chirurgie B, le service de gastroentérologie sur une période de 2 mois (avril et mai 2022) dont l'objectif était d'identifier les différents facteurs de risque environnementaux (âge, sexe, habitudes de vie) et génétique (antécédents familiaux) et enfin, évaluer l'association du polymorphisme -93A>G du gène *MLH1* avec le cancer colorectal.

Le volet moléculaire de notre travail pratique a été réalisé au sein du laboratoire de Biologie et Génétique Moléculaire au CHU Constantine et au laboratoire de biologie moléculaire (Université Constantine 1) et le centre de recherche de la biotechnologie CRBT Constantine.

Population des patients

Ce groupe de patients comprend 30 malades des deux sexes atteints de cancer du côlon et/ou du rectum, âgé de 17 à 75 ans, habitant l'Est Algérien.

1.1 Critères d'inclusion

Tous les patients affectés d'un cancer du côlon sporadique ou présentant une polypose adénomateuse familiale sont inclus.

Pour les sujets des deux sexes syndrome de Lynch ont été classés selon les groupes de patients

- 1- Répondants aux critères complets d'Amsterdam I ou II (1999).
- 2- Répondants aux critères de Bethesda (2004) avec antécédents familiaux (comprenant les critères 4 et/ou 5).
- 3- Répondants aux critères de Bethesda (2004) sans histoire familiale tumorale mais le diagnostic établi avant l'âge de 45 ans (comprenant le critère 1).

1.2 Critères d'exclusion

- Sujet déshydraté, difficile à piquer.
- Sujet refusant de faire le prélèvement.
- Sujet aux veines fragilisées par la chimiothérapie.

Population des témoins

Les témoins de la population générale de référence, sujets sains des deux sexes (présumés en bonne santé) habitants à Constantine durant la période de l'étude.

3. Recueil des données

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

II. Etude moléculaire

1. Extraction de l'ADN

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

1.1 Prélèvement sanguin

Le prélèvement sanguin préconisé pour l'étude génétique dont l'extraction de l'ADN est recueilli stérilement dans un tube de type vacutainer à EDTA (*anticoagulant et un inhibiteur des nucléases*) en quantité de 8 à 10 ml. Les prélèvements du sang ont été réalisés au niveau du pli du coude après la pose d'un garrot. Le prélèvement sera conservé à une température de +4°C jusqu'au moment des manipulations (une semaine au maximum). Les tubes de prélèvement sont étiquetés et numérotés.

1.2 Principe de l'extraction de l'ADN

L'extraction de l'ADN consiste en :

- L'isolement de leucocytes du sang total par une lyse hypotonique des globules rouges.
- Le traitement par un détergent (*SDS*) et une protéinase K dans le lysat.
- L'ADN nucléaire ainsi libéré est associé aux différentes protéines qui seront digérées et éliminées par précipitation au NaCl.

- Le surnagent récupéré est traité par de l'éthanol pur dans lequel une pelote d'ADN se forme par précipitation.
- L'ADN est solubilisé en phase aqueuse (Tris-EDTA 10 :1) (Annexe Protocole).

1.3 Conservation de l'ADN

Dans une boîte identifiée « ADN CCR » pour cancers colorectaux, les tubes d'ADN sont rangés et classés selon le numéro et la date du premier jusqu'au dernier échantillon. Ils sont conservés à + 4°C jusqu'à utilisation (moins de 6 mois). La conservation des ADN purifiés lorsque les analyses sont terminées, se fait à -20°C. Les dilutions de travail (100µg/ml) à partir de nos ADN purifiés sont conservés à +4°C dans une boîte identifiée « ADN dilués ».

1.4 Evaluation de la pureté et quantification de la concentration d'ADN

La pureté de l'ADN et sa concentration sont estimées par spectrophotométrie à UV.

La pureté de l'ADN est déterminée par le rapport de DO_{260nm}/ DO_{280nm}. La densité optique ou DO à 260 nm des solutions diluées au 1/100 est utilisée également pour le dosage de l'ADN, ce qui permet de calculer sa concentration, sachant que 1 unité DO correspond à 50 mg/ml d'ADN (Bienvenu *et al.*, 1999).

La pureté de l'ADN est essentielle. Dans le cas où l'ADN est contaminé (par des protéines ou de l'ARN), ce dernier ne laisserait pas aboutir à un bon résultat dans les étapes suivantes de son analyse par PCR. Il est donc indispensable de procéder à une réextraction de la pelote de l'ADN afin d'obtenir la pureté souhaitée.

Dans notre étude, nous avons procédé à un dosage de l'ADN par un nanodrope afin de préparer une dilution de travail à 100 ng/µl.

2. Amplification par la PCR

C'est une technique de biologie moléculaire, mise au point en 1985 par KarryMullis. Il s'agit d'une technique d'amplification d'ADN in vitro. Elle permet d'obtenir un très grand nombre de copies d'une séquence d'ADN choisie. Chaque cycle de PCR est constitué de trois étapes :

- Une dénaturation de l'ADN.
- Une hybridation des amorces aux extrémités de la séquence recherchée.
- Une élongation grâce à l'action d'une ADN polymérase, Taq polymérase.

Ce cycle est répété de 30 à 40 fois pour obtenir une multiplication exponentielle de la séquence d'ADN cible.

Methodologie

2.1 Préparation du milieu réactionnel (mix) de PCR :

Nous avons procédé à amplifier un fragment de 387 pb de taille se situe sur le promoteur du gène *MLH1* et qui encadre le SNP -93 A<G.

Pour préparer le milieu réactionnel ou mix de PCR, il faut multiplier la quantité de chaque composant par le nombre de tubes voulu + un. Un milieu réactionnel de PCR d'un volume final de 20 µl a été préparé.

Le mix comprend des désoxyribonucléotides triphosphates (dNTP) une enzyme d'amplification in vitro (Taq polymérase), un environnement réactionnel (Tampon, MgCl₂ et, H₂O) et deux amorces Oligo nucléotidiques (tableau 3).

Tableau 2 : Amorces utilisées pour l'amplification.

Sens des amorces	Séquence nucléotidique	Enzyme de restriction
MLH1 -93G<A	Sens : 5'-CCGAGCTCCTAAAAACGAAC-3'	Ava II (37°C)
	Antisens : 5'-CTGGCCGCTGGATAACTTC-3'	

Après avoir préparé le mix de la PCR (tableau 4), selon le nombre d'échantillon, nous avons pris 19µl de ce mélange avec 1µl d'ADN dans chaque tube de PCR pour chaque sujet.

Tableau 3 : Les quantités de chaque constituant du milieu réactionnel de la PCR.

Mix de PCR	Concentration finale	Quantité en µl
Tampon 10X	1x	2
MgCl ₂	1.87 mM	1.5
dNTP	0.375 mM	0.75
Taq polymérase	0.05 unité	0.2
Eau distillé ultrapure	-	13.75
Amorce. F	0.4 pmol/ µl	0.4
Amorce. R	0.4 pmol/ µl	0.4
ADN	100ng/ µl	1

2.2 Déroulement des cycles de la PCR

Tableau 4 : programme PCR de SNP -93A>G du gène *MLH1*

Les étapes de la PCR	MLH1-93G>A
La dénaturation initiale	95°C pendant 10 minutes

Methodologie

La dénaturation	95°C pendant 30 secondes	} 30 cycles
L'hybridation	56°C pendant 45 secondes	
L'élongation	72°C pendant 45 secondes	
L'élongation finale	72°C pendant 10 minutes	

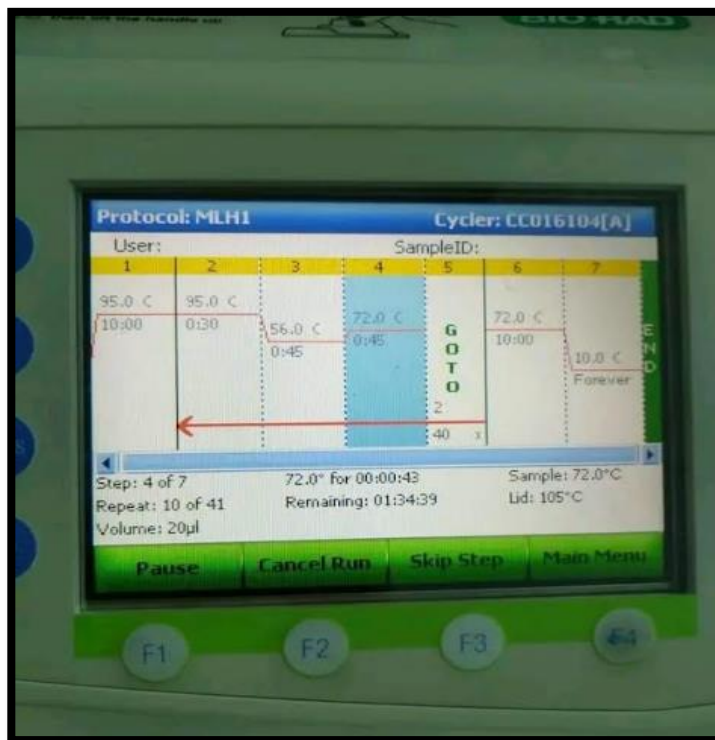


Figure 18 : Courbe de température du thermocycleur.

2.3 Contrôle des produits de la PCR

➤ Préparation du gel d'agarose à 2%

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

Nous avons déposé dans chaque puits du gel 10 µl de produit amplifié mélangé avec 2 µl du tampon de charge, (bleu de bromophénol), ce dernier permet de suivre le front de migration.

Un échantillon sans ADN (blanc : témoin négatif), est inclus dans la série à amplifier et sert de control négatif. La migration se fait en parallèle avec un marqueur de taille (100 Pb LADDER). Le dépôt se fait du côté cathode (-) soumis sous un courant de 100 volts pendant 15 à 20 minutes. Après la migration, le gel est soumis au rayon UV dans un Transilluminateur. Les molécules de bromure d'éthidium fixées à l'ADN émettent une lumière visible (fluorescence) et photographiable et permettent de visualiser les fragments amplifiés sous forme de bandes fluorescentes. Ce contrôle permet aussi de confirmer l'amplification de notre ADN et d'exclure toute contamination d'ADN survenue au cours de la PCR grâce au puits contenant le témoin blanc.

3. Polymorphisme de longueur de fragment de restriction (RFLP)

3.1 Digestion par l'enzyme de restriction Ava II

L'enzyme AvaII est une enzyme de restriction qui reconnaît le site 5'G GNCC3' et coupe entre les deux G pour donner des bouts cohésifs. Lorsque la G en position -93 est substituée par une A en raison de polymorphisme, le site de restriction est abolit et l'enzyme ne coupe pas.

➤ Préparation de milieu de digestion

Préparer le milieu de digestion de l'enzyme Ava II pour le nombre de tubes voulu + 1 témoin. En ajoutant 15 µl de produits de PCR + 1 µl de l'enzyme et 50 µl de Buffer.

Les produits de la PCR sont soumis à une digestion enzymatique par AvaII. Ils sont incubés pendant une nuit dans une étuve à 30°C.

La digestion de notre fragment amplifié produit 3 fragments :

-Le clivage de l'allèle de type sauvage (G) donne deux fragments 180 pb et 207 pb, tandis que le clivage l'allèle (A) et donne un seul fragment de 387 pb. Par conséquent le génotype homozygote AA présente une seule bande non coupée est celle de 387pb, l'hétérozygote AG contient trois fragments 387 pb, 207 pb et 180 pb. Alors que le génotype AA homozygote ne contient que les deux bandes 207pb et 180pb.

3.2 Profil électrophorétique

L'identification des génotypes GG, AA, GA du gène *MLH1 a* été faite par migration électrophorétique des produits de PCR sur gel d'agarose à 3%, pendant 45 min à un voltage 100 volts.

3.3 Révélation des produits de digestion RFLP

Le BET fluorescent aux UV s'est fixé sur l'ADN va permettre de visualiser les fragments de restriction dans le gel placé sur la table à UV.



III. Résultats et discussion

1. Etude épidémiologique

Cette partie des résultats de notre travail consiste en une étude statistique épidémiologique qui présente un état de lieux de l'atteinte des cancers de colon et du rectum durant les années 2017 et 2018. C'est ce qui nous a été possible de retirer du service de l'épidémiologie de CHU Constantine.

1.1 Fréquence des cancers colorectaux dans la région de Constantine

1.1.1 Cancer du côlon et du rectum en 2017

Selon le registre du service épidémiologie de CHU de Constantine durant l'année 2017, on a enregistré 146 cas des cancers de colon et du rectum d'une façon confondue. On remarque que l'atteinte par le cancer du côlon prédomine celle du rectum elle représente 60%.

Cependant il n'existe pas de différence significative entre le taux de l'atteinte entre homme et femmes : on a noté la présence de cancer du côlon répartis entre 47.18 % de sexe masculin et 52.81% de sexe féminin avec un sexe ratio F/H de 1,12.

Le cancer du rectum, de sa part, a touché 52,42% des hommes et 47,57% des femmes dans la même année (figure 19).

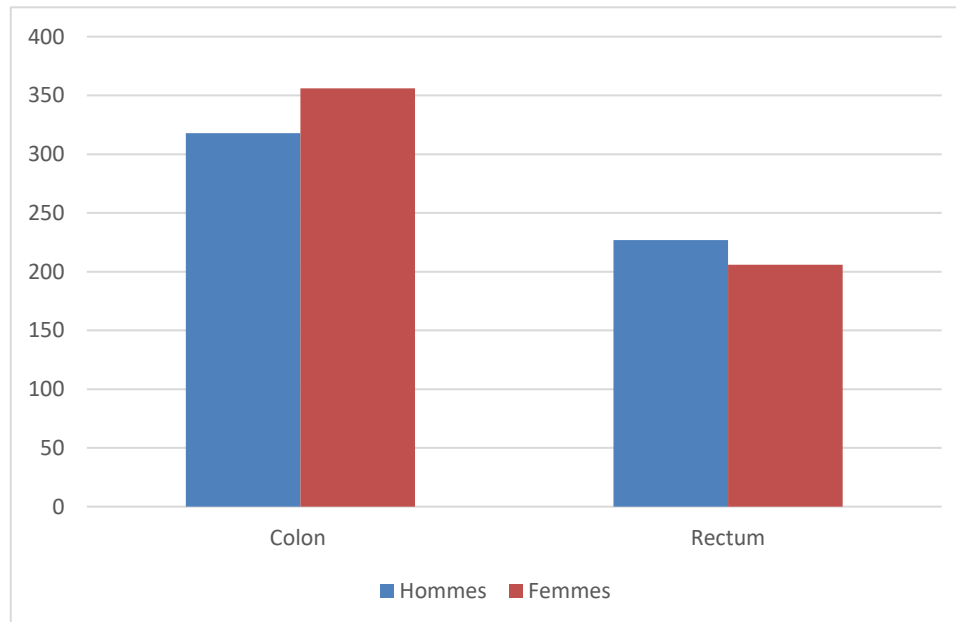


Figure 19: Répartition de l'atteinte des cancers du côlon et du rectum chez les hommes et les femmes dans l'année 2017.

Résultats et discussion

Les figures 20 et 21 représentent l'évolution de la survenue de CCR avec l'âge dans les sexes masculin et féminin respectivement. On observe que le taux de cancer colorectal est presque nul 0% avant l'âge de 20 ans et rare jusqu'à 30 ans chez les deux sexes bien qu'il est à noter que l'apparition de cette pathologie est précoce dans le sexe féminin.

Une Légère augmentation de la survenue de ce cancer a caractérisé la tranche d'âge de 30 à 50 ans. A partir de 50 ans, le taux de cancer du côlon et du rectum enregistre une augmentation de manière significative parallèlement chez les deux sexes, mais elle apparait plus importante pour le cancer du côlon par rapport à celui du rectum.

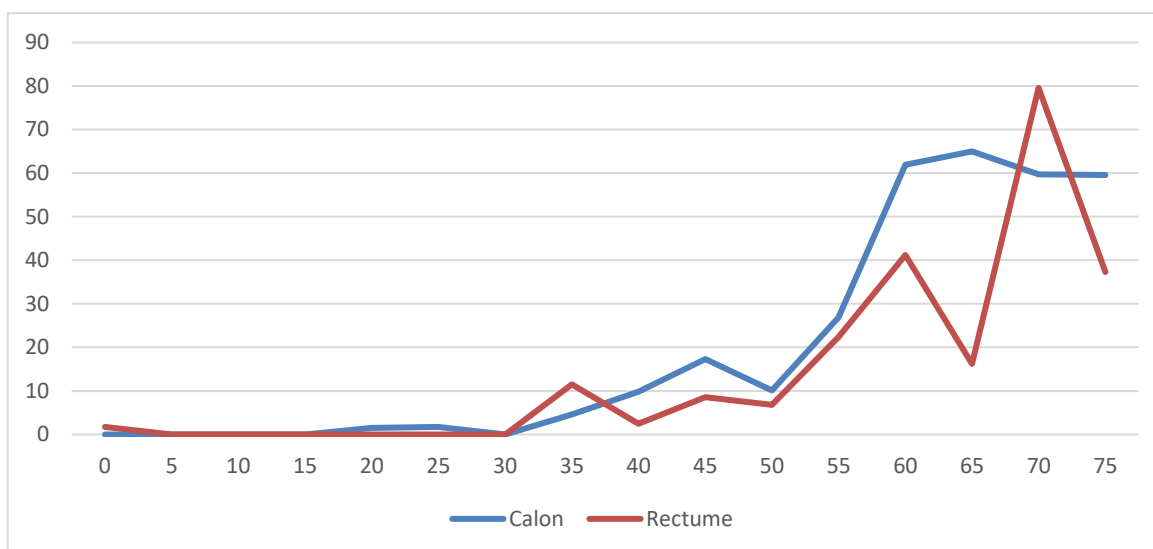


Figure 20 : Evolution des taux de cancer colorectal chez les hommes dans l'année 2017 (registre du Cancer Constantine 2017).

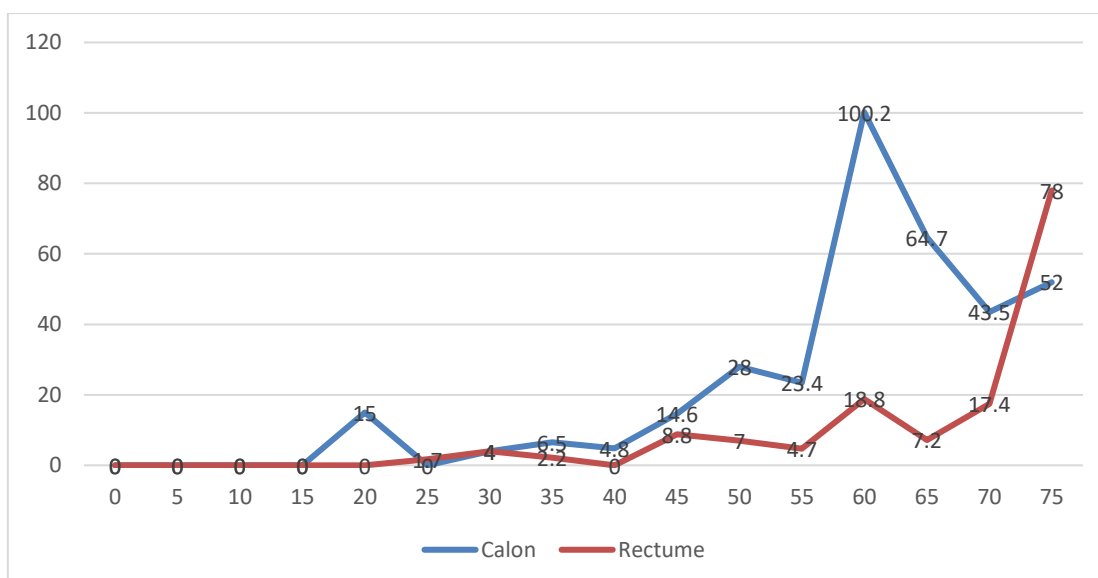


Figure 21 : Evolution des taux de cancer colorectal chez les femmes dans l'année 2017 (registre du Cancer Constantine 2017).

1.1.2 Cancer du côlon et du rectum en 2018

Le rapport annuel du service épidémiologie de CHU de Constantine durant l'année 2018 a enregistré 207 cas des cancers de colon et du rectum d'une façon confondue repartis entre 100 femmes soit 48,3% et 107 Hommes soit 51.7% avec un sexe ratio de 1.07. L'âge moyen de l'atteinte par ce type de cancer est 65 et 61 ans respectivement. Entre les deux sexes, il n'existe pas de différence significative de survenue.

L'incidence de cancer colorectal de l'année 2018 est illustrée dans la (figure 22).

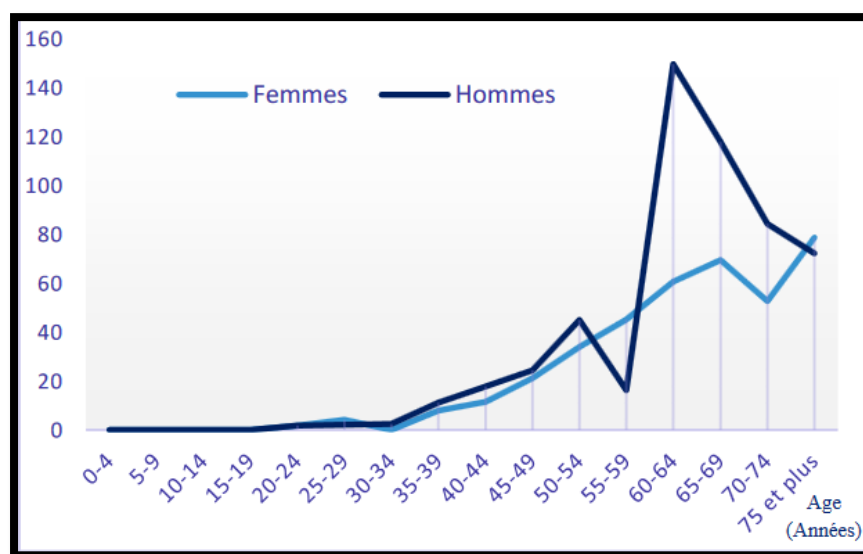


Figure 22 : Taux d'incidence des cancers colorectaux par âge et par sexe à Constantine dans l'année 2018 (Registre de Cancer de Constantine, 2018).

En France, dans la période 2007-2016, le taux d'incidence du CCR est comparable à la moyenne des 28 pays de l'union européenne. Il touche en moyenne 22 828 hommes et 19 174 femmes chaque année. La mortalité est en constante baisse depuis les années 1980 (Binder-Foucard, 2014). Le CCR a engendré près de 17 000 décès par an dans la même période, 10 % des décès par cancer chez l'homme et 12 % chez la femme (Maynadié *et al.*, 2019).

Au Canada, le *Canadian Cancer Statistics Advisory Committee* enregistré en 2022, 24300 nouveaux cas dont 13500 sont des hommes et 10800 femmes. Le nombre de décès représente 11% (9 400 Canadiens, dont 4200 sont des femmes) de tous les décès par cancer. En moyenne, chaque jour, 26 Canadiens mourront d'un cancer colorectal (*Canadian Cancer society*, 2022).

2. Etude statistique

2.1 Répartition des sujets selon le sexe et l'âge

2.1.1 Les sujets témoins

- **Selon le sexe**

Les sujets témoins sont au nombre de 37 répartis entre (Figure 23) :

- 14 du sexe masculin soit 37.83%.
- 23 du sexe féminin soit 62.16%.

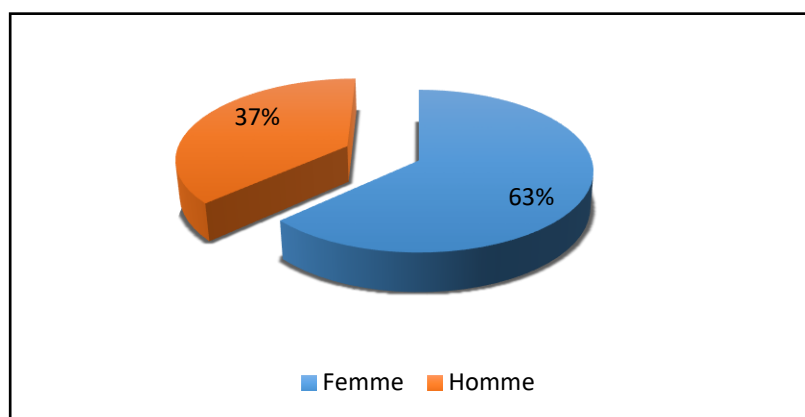


Figure 23 : Répartition des témoins selon le sexe.

- **Selon l'âge**

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 24).

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

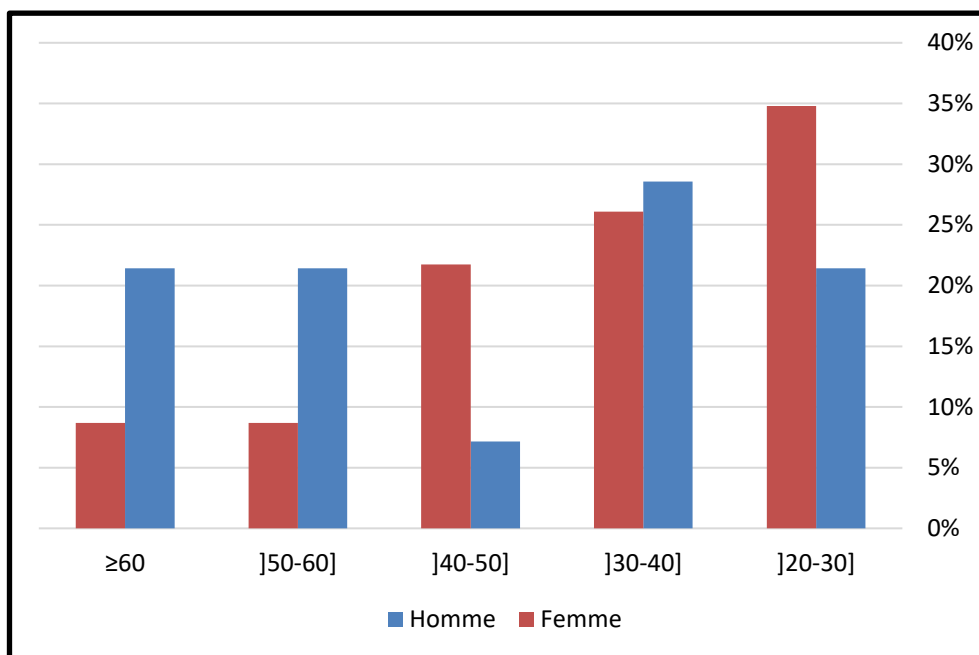


Figure 24: Répartition des témoins selon l'âge et le sexe.

2.1.2 Répartition des patients CCR

- Selon le sexe

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

- 19 de sexe masculin soit 59 %.
- 13 de sexe féminin soit 41 %.

Cette répartition est illustrée dans la figure 25.

Dans notre série, le nombre de cas de cancer colorectal des hommes dépasse le nombre de cas femmes. Ce qui a été retrouvé dans l'étude épidémiologique réalisée au niveau de la willaya de Constantine en 2018 où l'échantillonnage comporte 32 patients atteints de cancer colorectal (19 hommes, soit 59 % et 13 femmes, soit 41 %) (Registre de cancer de Constantine 2018).

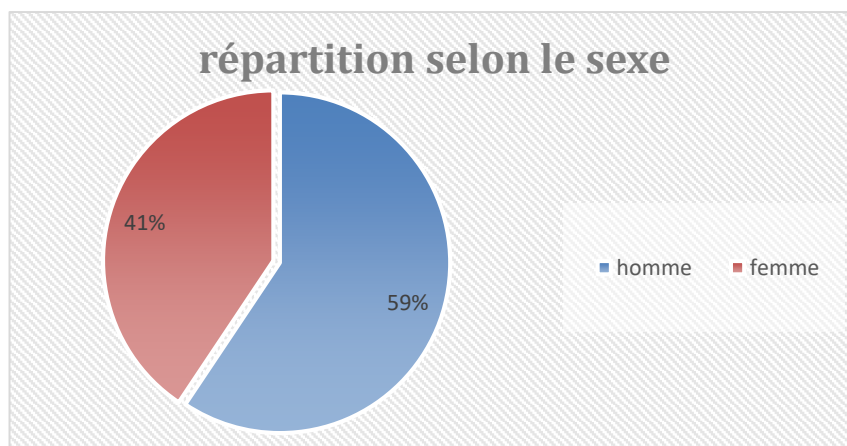


Figure 25: répartition des patients selon le sexe de la population

Résultats et discussion

Cette prédominance masculine a été également observée dans l'étude épidémiologique réalisée par le service des cancers colorectaux à Tlemcen de janvier 2011 au décembre 2017 où le nombre de cas comporte 160 patients atteints de cancer du côlon (94 hommes, soit 58.75% et 66 femmes, soit 41.25 %) avec une sex-ratio de 1,42 (Benbekhti et Meguenni, 2020). Une autre étude au Maroc a démontré que le sex-ratio égale à 1.17 avec un pourcentage de 54% pour les hommes et 46% pour les femmes dans la période janvier au décembre 2015 (Imad *et al.*, 2019). D'après l'INCa en 2018 dans 43 300 nouveaux cas 23 200 sont des hommes avec un pourcentage de 53.6% et 46.4% pour 20 100 femmes (Ifrah et Breton, 2021). En Belgique une prédominance masculine dans la tranche d'âge 50-75 ans avec 62% et avec un sex-ratio égale à 1.53 (Benbekhti et Meguenni, 2020).

- **Selon l'âge**

Nos résultats montrent que la tranche d'âge la plus représentative est celle de 40-60 ans avec 50 % (figure 26).

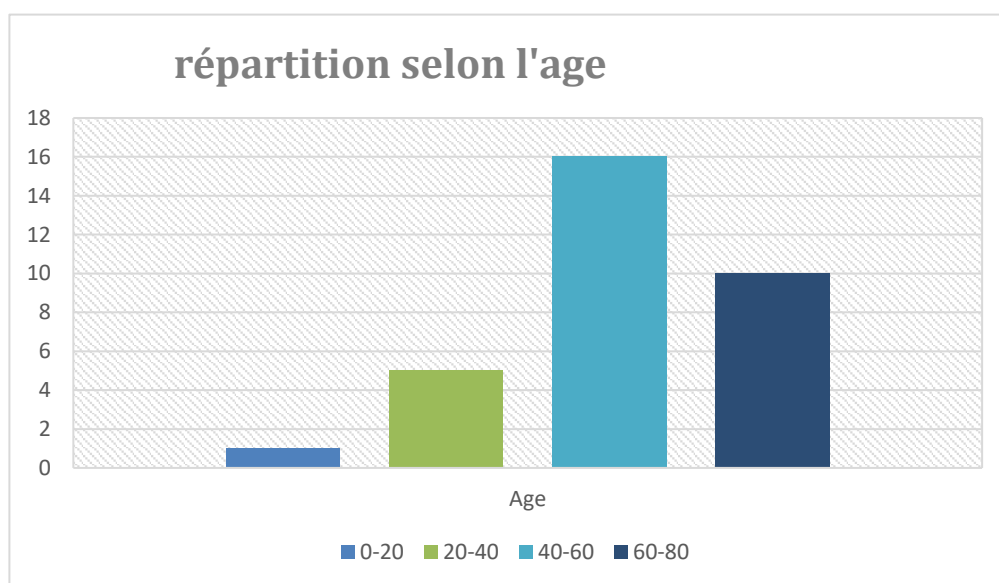


Figure 26 : Répartition des patients selon l'âge de notre population.

Au Maroc la tranche d'âge la plus touchée était comprise entre 60-65 ans avec un âge moyen de 56.6 ans, donc le risque du CCR augmentait avec l'âge quel que soit le sexe (Imad *et al.*, 2019). Dans l'étude de l'ouest algérien, Tlemcen, l'âge moyen au diagnostic est de 60 ans, 90% des cas des CCR sont survenus chez le sujet de plus de 45 ans (Benbekhti et Meguenni, 2020). Ainsi, une étude réalisée en Belgique, compte 95 % des CCR qui survenaient après l'âge de 50 ans (Benbekhti et Meguenni, 2020). Ces études démontrent que le pic de l'atteinte par ce cancer est entre 40-60 ans.

2.2 Répartition des sujets selon la localisation de la tumeur

Les cancers du côlon et du rectum sont deux entités que l'on étudie souvent ensemble, il n'est en effet pas toujours évident de les distinguer. En outre, leur origine physiopathologique est assez similaire (Benbekhti S et all, 2020).

La figure 27 montre la distribution des individus cancéreux selon la localisation de la tumeur.

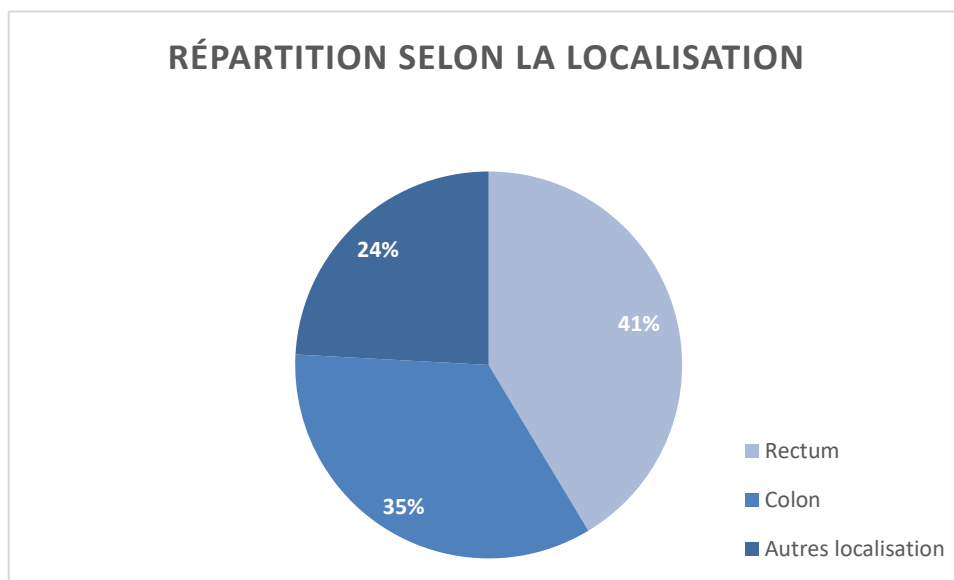


Figure 27 : Répartition des patients selon la localisation.

Concernant la localisation de ce type de cancer, nos résultats montrent que le rectum est le site tumoral le plus fréquent, il touche 41 % des cas, suivi par le côlon avec 35 % des cas et 24 % pour les autres localisations extracoliques (pancréas, col utérin, cerveau, et cavum). Nous pouvons donc conclure que le rectum est la partie la plus affectée par le CCR dans notre population d'étude chez les deux sexes en accord avec plusieurs études :

À Tlemcen, Le cancer du côlon a constitué 53,1% des cas face à 43,1% pour le cancer du rectum (Benbekhti *et al.*, 2020). En littérature, les cancers du côlon représentent globalement 2/3 et le cancer du rectum 1/3 (Imad *et al.*, 2019). Une étude marocaine a révélé que le cancer colorectal touche le côlon dans 52% des cas et le rectum dans 48% (Imad FE et all, 2019). Selon les registres occidentaux une étude de 57847 patients dont 25181 (43,5%) avec un colon droit , 21791 (37,7%) avec un colon gauche , et 10875 patients (18,8%) avec un cancer du rectum (Yang *et al.*, 2016).

2.3 Répartition des sujets CCR selon le stade d'évolution de la tumeur

La classification TNM a fait l'objet d'un consensus international, le stade doit donc être donné selon la classification pTNM, qui distingue quatre stades (Edge et Compton, 2010 ;

Résultats et discussion

Scoazec et Sabourin, 2010). La distribution de nos patients selon ces stades est illustrée dans la figure 28.

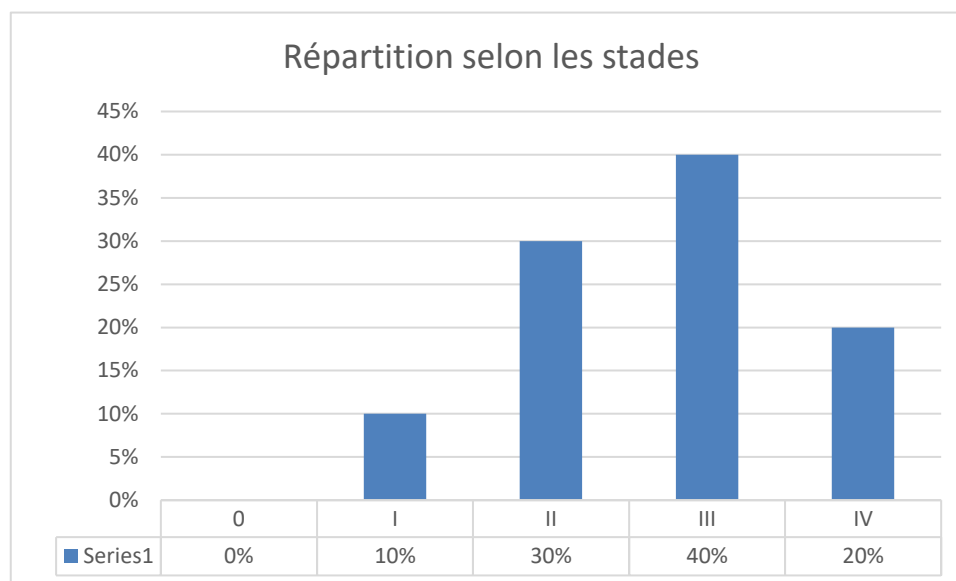


Figure 28 : Répartition des patients selon le stade d'évolution de la tumeur.

D'après cette classification, la population étudiée présente une prédominance du stade III avec une fréquence de 40% suivi du stade II avec un pourcentage 30% en suit 20% du stade IV finalement le stade I avec une fréquence 10%, on note qu'aucun de nos patients étudiés n'appartient au stade 0.

Ces résultats s'expliquent par plusieurs causes :

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

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

2.4 Répartition des sujets selon les antécédents familiaux

Notre travail de tri des patients a porté sur l'analyse des questionnaires et du diagnostic. En ce qui concerne les antécédents familiaux de cancer colorectaux et d'autres types de cancer, nous avons noté que les sujets de notre étude soient sporadiques dans 80 % des cas, alors que 20% surviennent dans un contexte familial. Dans notre étude, les antécédents familiaux de cancer colorectaux chez nos patients sont retrouvés dans 57% des cas familial et 43% des cas sporadique (figure 29).

En se basant sur les données du questionnaire de la population marocaine étudié par Imad et al., les antécédents familiaux de cancer colorectal ont été retrouvés chez 7% des patients. Les antécédents familiaux d'autres types de cancer ont été notés chez 16% des patients. Concernant les antécédents familiaux de cancers rentrant dans le spectre du syndrome de Lynch, les cancers du sein 42%, des poumons 15%, du foie 12%, de l'estomac 12%, et 4% pour le pancréas et l'ovaire (imad *et al.*, 2019).

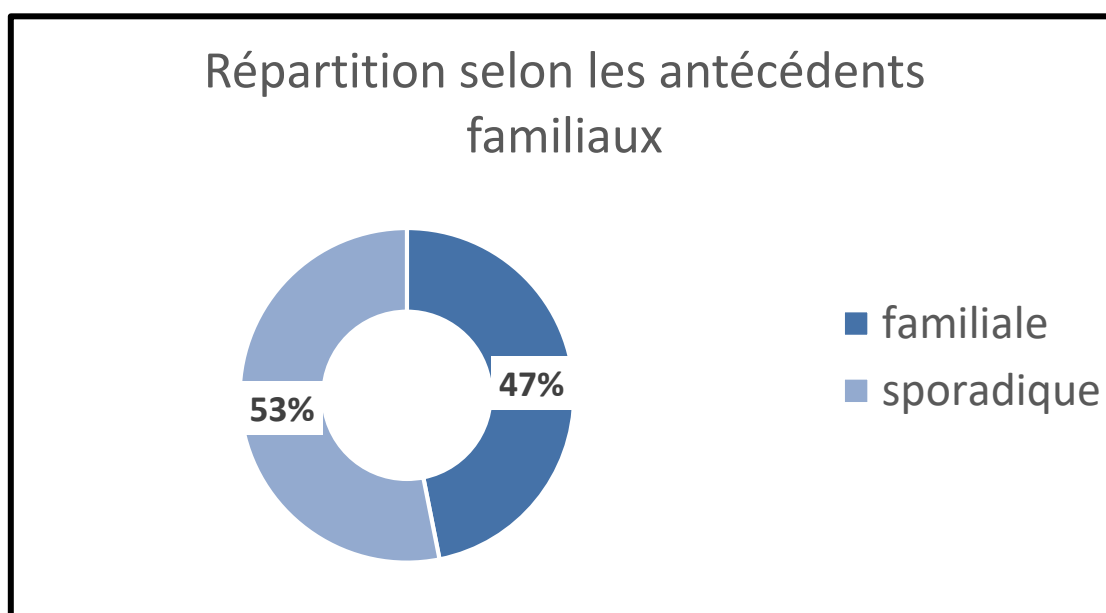


Figure 29 : Répartition des sujets selon les antécédents familiaux.

2.5 Répartition des sujets selon les critères de sélection Amsterdam et Bethesda

D'après les questionnaires qu'on a fait avec nos patients et en consultant leurs dossiers nous avons réparti ces patients selon deux critères de sélection, Amsterdam et Bethesda (Annexe II & III), en deux groupes :

- 1- Patients répondants aux critères complets d'Amsterdam I ou II 1999.
- 2- Patients répondants aux critères de Bethesda révisé 2004.

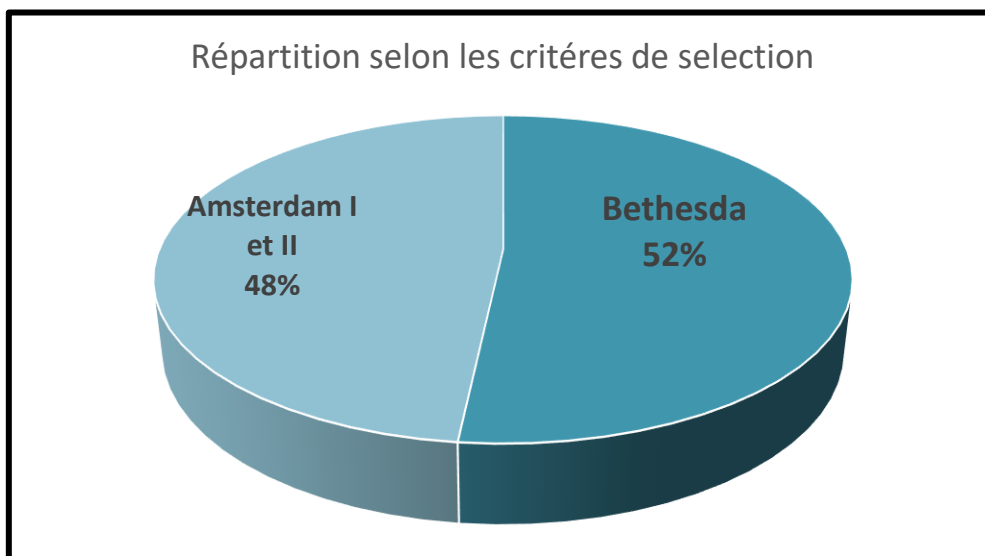


Figure 30: Répartition des sujets CCR selon les critères d'Amsterdam I et II et Bethesda.

D'après nos résultats, les critères Bethesda sont présents pour la majeure partie de notre population d'étude avec un pourcentage de 52 % et les critères de d'Amsterdam I/II représentent 48 %.

Les critères d'Amsterdam II ont initialement été rédigés avant la découverte du phénotype MSI et se basent sur des critères cliniques pour identifier les patients suspectés d'être atteints du SL (Richman, 2015). Malheureusement, les critères d'Amsterdam et de Bethesda ne permettent pas d'identifier à coup sûr les personnes atteintes du LS (Ryan *et al.*, 2017). Les critères de Bethesda sont plus sensibles, mais échouent à mettre en évidence 12 à 28 % des cas de LS (Ryan *et al.*, 2017).

Donc il est recommandé que tous les CCR développés avant 70 ans chez un individu remplissant un des critères de Bethesda soient testés pour le phénotype MSI (Balmaña *et al.*, 2013).

En France les tests somatiques recherchant une déficience du système MMR (par biologie moléculaire et/ou IHC) sont recommandés chez toute personne ayant développé un CCR avant 60 ans ou un cancer de l'endomètre avant 50 ans (INCa, 2016).

3. Résultats de l'étude génétique

Dans la partie moléculaire de notre étude, nous avons réussi à mettre au point pour la première fois la PCR concernant le polymorphisme -93A >G sur le promoteur du gène *MLH1*. Les résultats de contrôle de PCR dans la figure 31 montrent une bonne amplification de bandes appartenant à l'ADN des patients (P1 et P2). Ces amplifiants mesurent 387pb de taille.

Résultats et discussion

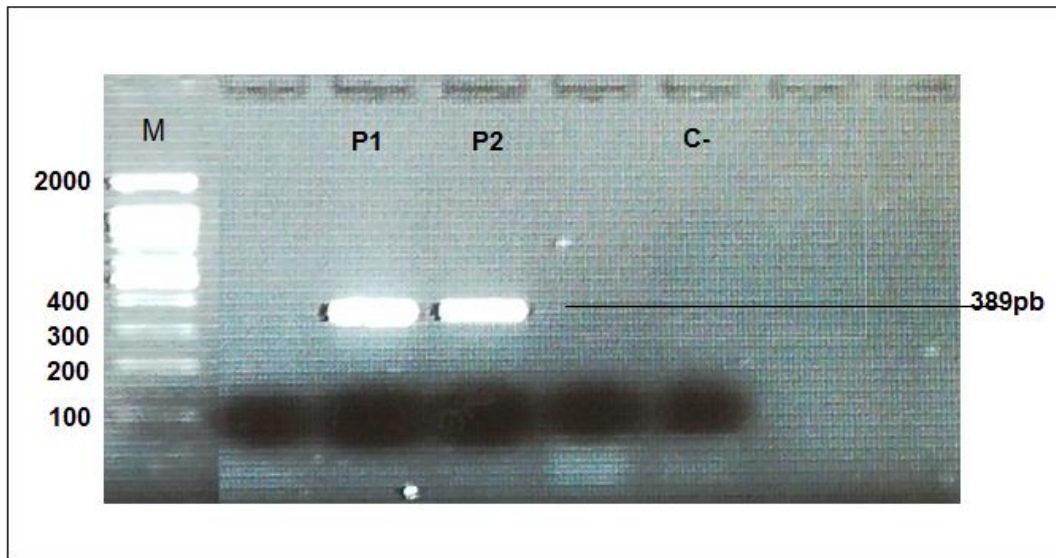


Figure 31 : Profil d'électrophorèse de la PCR de fragment de 387 pb pour deux patients P1 et P2
Dans un deuxième temps, nous avons procédé à la digestion de nos produits de PCR par l'enzyme Ava II qui donnerait trois bandes : l'hétérozygote AG et les homozygotes AA et GG. Un modèle de séparation de fragments RFLP sur gel 3% est illustré sur la photo de profil électrophorétique sur la figure 31.

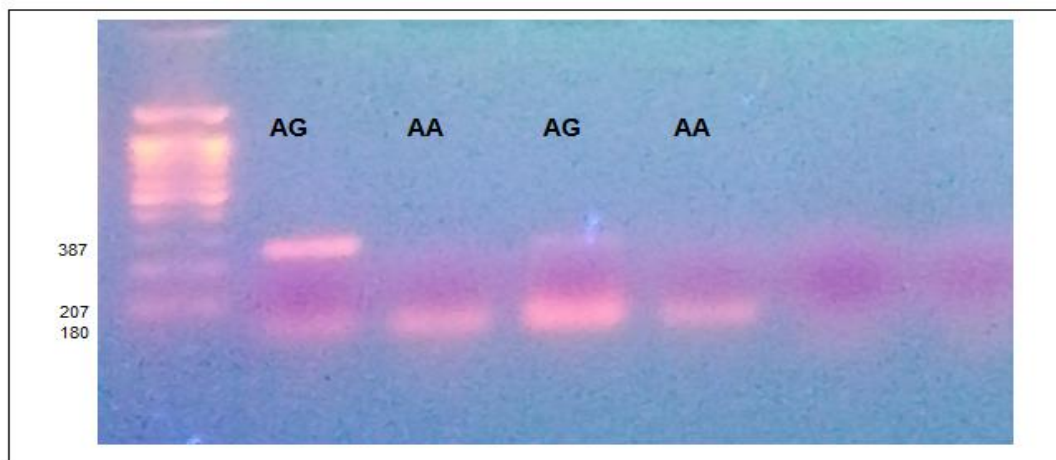


Figure 32 : profil RFLP de digestion par l'enzyme de restriction Avall

Nous avons voulu, par la suite réaliser le travail selon notre objectifs, Malheureusement, tous les essais de PCR qui suivaient la mise au points ont échoué à avoir encore ce résultat positif en faveur de la PCR et la digestion et cela pour des contraintes techniques qui sont dues aux changements de conditions de travail et déplacement dans un autre laboratoire. En outre, le temps très limité et la période courte accordée à la réalisation de tels travaux ne permettait pas la continuation afin de réaliser les analyses d'un effectif intéressant pour l'étude statistique de type cas-témoins.

Résultats et discussion

Cependant, au cours de la période du déroulement de notre travail pratique aux différents laboratoires de biologie moléculaire (CHU, Université1 et CRBT), nous avons appris les bon gestes de manipulation de l'ADN et acquis une expérience dans le coté du travail pratique.

4. Les Arbres généalogiques de quelques patients

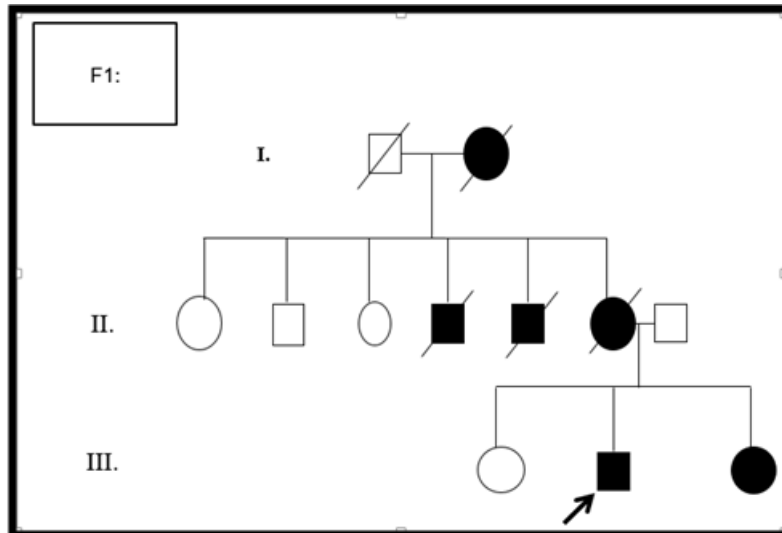


Figure 33 : Arbre généalogique de la famille F1.

- cas index : III 2

- Types de cancers:

III.2: Colon, I.1: Colon, II.4: Colon, II.5: Rectum, II.6: Colon, III.3: Colon.

- L'âge de diagnostic : 25 ans

- Nombre des sujets atteints dans la famille : 6

On remarque que la maladie dans cette famille est transmise selon le mode autosomique dominant avec une fréquence de prédisposition de 50%.

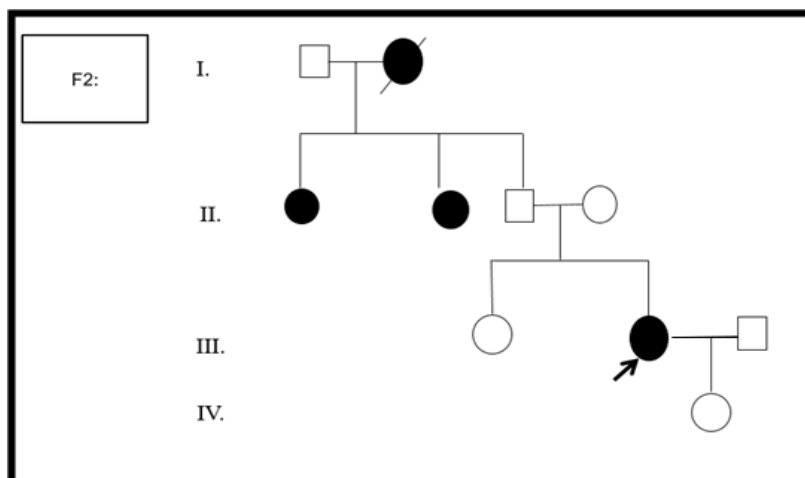


Figure 34 : Arbre généalogique de la famille F2.

Résultats et discussion

- cas index : III 2

- Types de cancers :

III.2: Cerveau, I.2: Colon, II.1: Utérus, II.2: Poumons.

- L'âge de diagnostic : 23 ans

- Nombre des sujets atteints dans la famille : 4

La maladie dans cette famille est transmise selon le mode autosomique dominant avec une pénétrance incomplète.



Conclusion

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

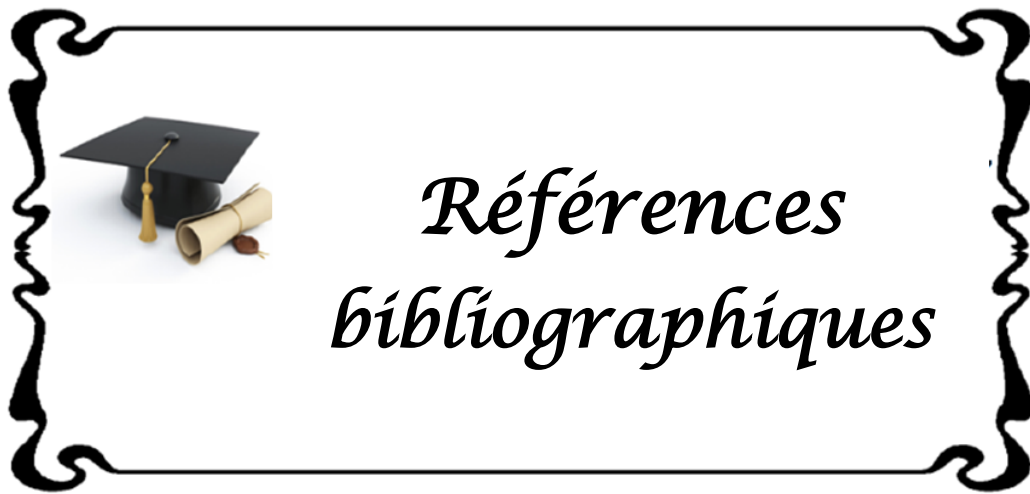
L'étude des facteurs de risque et les marqueurs génétiques impliqués dans l'étiologie du cancer colorectal a fait l'objet de plusieurs études et travaux de recherches dans le monde. Notre travail avait pour objectif de déterminer l'association de CCR avec le polymorphisme des gènes MMR (MLH1 et MSH2).

Pour cela, nous avons réalisé une étude cas-témoin comprenant 32 cas CCR, A l'instar de nos résultats, le CCR augmente considérablement avec l'âge chez les deux sexes avec une prédominance masculine de 59 %.

Concernant la localisation de la tumeur, une fréquence plus élevée au niveau du rectum par rapport au colon et ses différentes parties. Une prédominance de stade III par rapport aux autres stades, ceci peut être expliqué par un diagnostic qui est souvent tardif.

Malheureusement pour l'étude du polymorphisme MLH1-93G>A : malgré que nous avons réalisé l'application de tout le protocole du génotypage, nous avons été confronté à la fin, à un problème technique (nous dépassant) ce qui a mis impossible de réussir la révélation des résultats des différents génotypes attendus. Pour cela nous n'avons pas pu atteindre l'un des objectifs majeurs de notre étude.

Pour cela nous envisageons, dans l'avenir, d'effectuer une étude réussite afin d'apporter des conclusions méritant un intérêt scientifique pour la compréhension des mécanismes moléculaires de cancer colorectal.



-A-

Abbes A, Rechreche1 H, Brinet R. 2018. Retrospective study of epidemiological, clinicopathological and biological profiles of 62 colorectal cancers cases in Jijel province (Algeria). *J. Fundam. Appl. Sci.*, 10, 59-82.

Aparicio T. 2018. Traitement personnalisé du cancer colorectal. *Côlon& Rectum*, 12, 137.

Arita M, Zhong X, Min Z et al. 2003. Multiple sites required for expression in 50'-flanking region of the hMLH1 gene. *Gene*, 306, 57-65.

-B-

Baretti M & Le DT. 2018. DNA Mismatch Repair in Cancer. *Pharmacology & Therapeutics*, 189, 45-62.

Beauchemin N. 2011. The colorectal tumor microenvironnement : the next decade. *Cancer Microenviron. Off. J. Int. Cancer Microenviron. Soc.*, 4, 181-185.

Beaugeri L & Sokol H. 2014. Les fondamentaux de la pathologie digestive. CDU-HGE/Editions Elsevier-Masson-Octobre.

Beiner ME, Rosen B, Fyles A et al., 2006. Endometrial cancer risk is associated with variants of the mismatch repair genes MLH1 and MSH2. *Cancer Epidemiol Biomark Prev.*, 15, 1636-1640.

Belhamidi MS, Sinaa M, Kaoukabi A et al. 2018. Profile épidémiologique et anatomopathologique du cancer colorectal : à propos de 36 cas. *Pan African Medical journal*, 30.

Benbekhti S & Meguenni K. 2020. Survie sur 05 ans des cancers colorectaux dans la wilaya de Tlemcen. *AJHS*, 2, S28-S37.

Besson D. 2013. Étude du protéome de tumeurs colorectales (Doctoral dissertation, Université d'Angers)

Betz B, Theiss S, Aktas M et al. 2010. Comparative in silico analyses and experimental validation of novel splice site and missense mutations in the genes MLH1 and MSH2. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 136, 123-134.

Bibeau F, Léger A, Bazille C, Selves J. 2020. Les cancers colorectaux héréditaires vus par le pathologiste. *Annales*, 40, 105-113.

Binder-Foucard F, Bossard N, Delafosse P et al. 2014. "Cancer incidence and mortality in France over the 1980–2012 period : Solid tumors". *Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique*, 62, 95-108.

Références bibliographique

Borràs E, Pineda M, Brieger A, et al. 2012. Comprehensive functional assessment of MLH1 variants of unknown significance. *Hum. Mutat.*, 33, 1576-1588.

Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH & Theise ND. 2010. Who classification of tumours of the digestive system. Lyon : international agency for research on cancer (IARC). 4e ed.

Brierley JD, Gospodarowicz MK, Wittekind C. 2017. Tnm classification of malignant tumours. Wiley Blackwell. 8e ed.

Buccafusca GPP, Antonino T, Sebastiano RG & Paolo T. 2019. Cancer colorectal précoce: diagnostic, traitement et soins de survie. Examens critiques en oncologie / hématologie.

-C-

Canadian Cancer Statistics Advisory Committee. Canadian Cancer Statistics 2022. Canadian Cancer Society.

Chang DK, Metzgar D, Wills C & Boland CR. 2001. Microsatellites in the Eukaryotic DNA Mismatch Repair Genes as Modulators of Evolutionary Mutation Rate. *Genome Research*, 11, 1145-1146.

Chatignoux E, Remontet L, Colonna M et al. 2019. Estimations régionales et départementales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France, 2007–2016. Matériel et Méthodes. Saint-Maurice : Santé Publique France.

Chen H, Taylor NP, Sotamaa KM et al. 2007. Evidence for heritable predisposition to epigenetic silencing of MLH1. *Int J Cancer*, 120, 1684-1688.

Coffin E, Dhooge M, Abou Ali E, et al. 2019. Syndrome de LYNCH : identification et prise en charge. *La Presse Médicale*, 48, 904-914.

Correard F & Estève M A. 2020. Les thérapeutiques du cancer. *Pharmacie Clinique Pratique en Oncologie*, 36, pagination

Cravo M, Afonso AJ, Lage P et al. 2002. Pathogenicity of missense and splice site mutations in hMSH2 and hMLH1 mismatch repair genes: implications for genetic testing. *Gut*, 50, 405-412.

-D-

Das V, Kalita J & Pal M. 2017. Biomarqueurs prédictifs et pronostiques du cancer colorectal : revue systématique des avancées et des défis récents. *Biomedicine et Pharmacotherapy*, 87, 8-19.

Djinbachian R, Dubé AJ & von Renteln D. 2019. Diagnostic optique des polypes colorectaux: développements récents. Options de traitement actuelles en gastroentérologie.

Références bibliographique

Duval A & Hamelin R. 2002a. Mutations at Coding Repeat Sequences in Mismatch Repair deficient Human Cancers : Toward a New Concept of Target Genes for Instability. *Cancer Research*, 62, 2447-2454.

Duval A & Hamelin R. 2002b. Genetic Instability in Human Mismatch Repair Deficient Cancers. *Annales De Genetique*, 45, 71-75.

-E-

Edelbrock MA, Kaliyaperumal S & Williams KJ. 2013. Structural, molecular and cellular functions of MSH2 and MSH6 during DNA mismatch repair, damage signaling and other noncanonical activities. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 743-744:53-66.

El-Bchiri J, Guilloux A, Dartigues P *et al.* 2008. Nonsense-Mediated mRNA Decay Impacts MSI Driven Carcinogenesis and Anti-Tumor Immunity in Colorectal Cancers. *PloS One*, 3, e2583.

-F-

Fang M, Ou J, Hutchinson L, *et al.* 2014. Te BRAF oncoprotein functions through the transcriptional repressor MAFG to mediate the CpG Island Methylator phenotype. *Molecular cell.*, 55, 904-915.

Feng K, Wei YS, Hu TG *et al.* 2020. Systèmes d'administration ciblés sur le côlon pour les nutraceutiques : examen des véhicules actuels, des méthodes d'évaluation et des perspectives d'avenir. *Tendances en science et technologie alimentaires*, 102 , 203-222.

Frémont E & Tougeron D. 2016. Syndrome de lynch. *EMC Gastro-entérologie*, 11.

-G-

Ghimenti C, Tannergård P, Wahlberg S *et al.* 1999. Microsatellite instability and mismatch repair gene inactivation in sporadic pancreatic and colon tumours. *Br. J. Cancer*, 80, 11-16.

Giardiello FM *et al.* 2014. Guidelines on genetic evaluation and management of Lynch syndrome : a consensus statement by the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer. *Gastroenterology*, 147, 502-526.

GLOBOCAN 2020 consulté le 10.05.2022 à 08 :15

Gupta D & Heinen CD. 2019. The mismatch repair-dependent DNA damage response: Mechanisms and implications. *DNA Repair*, 78, 60-69.

-H-

Références bibliographique

Hampel H, Frankel W, Panescu J *et al.* 2006. Screening for Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer) among endometrial cancer patients. *Cancer Res*, 66, 7810-7817.

Hansen MF, Neckmann U, Lavik LAS *et al.* 2014. A massive parallel sequencing workflow for diagnostic genetic testing of mismatch repair genes. *Mol Genet Genomic Med.*, 2, 186-200.

Hartley AV, Martin M & Lu T. 2019. Les biomarqueurs épigénétiques et leurs applications thérapeutiques dans le cancer colorectal. Dans *Les Progrès Dans La Compréhension Moléculaire Du Cancer Colorectal*. IntechOpen.

Henrikson NB, Webber EM, Goddard KA. 2015. Antécédents familiaux et antécédents naturels de cancer colorectal : revue systématique. *Génétique en médecine*, 17, 702.

Herman JG, Umar A, Polyak K, *et al.* 1998. Incidence and functional consequences of hMLH1 promoter hypermethylation in colorectal carcinoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95, 6870-6875.

Hsieh P & Yamane K. 2008. DNA mismatch repair: Molecular mechanism, cancer, and ageing. *Mechanisms of Ageing and Development*, 129, 391-407.

-I-

Ifrah N & Breton T. 2019 *Panorama des cancers en France*. INCa. Edition 2021. Page 14.

Imad FE, Drissi H, Tawfiq N *et al.*. Aspects épidémiologiques, nutritionnels et anatomopathologiques des cancers colorectaux dans la région du grand Casablanca. *Pan African Medical Journal*, 32.

Ito E, Yanagisawa Y, Iwahashi Y *et al.* 1999. core promoter and a frequent single-nucleotide polymorphism of the mismatch repair gene hMLH1. *Biochem Biophys Res Commun*, 256, 488-494.

-J-

Jiricny J. 2006. The multifaceted mismatch-repair system. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 7,335-346.

Jones PA & Laird PW. 1999. Cancer epigenetics comes of age. *Nat Genet*, 21, 163-167.

-K-

Keum N & Giovannucci E. 2019. Global burden of colorectal cancer: emerging trends, risk factors and prevention strategies. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 16, 713–32.

Références bibliographique

Knudson A. Deux coups génétiques (plus ou moins) au cancer. *Nat Rev Cancer* , 1, 157-162.
KOHLER C. 2010. Les épithéliums.

-L-

Le registre du cancer de la wilaya de Constantine en 2018 .

Lee SY, Kim DW, Kang SI *et al.* 2019. Impact des antécédents familiaux sur le pronostic des patients atteints d'un cancer colorectal sporadique. *Annales d'oncologie chirurgicale*, 1-9.

Les guidelines v.2.4. 2018 de l'organisation InSIGHT, https://www.insightgroup.org/content/uploads/2018/08/2018-06_InSiGHT_VIC_v2.4.pdf.

Li GM. 2008. Mechanisms and Functions of DNA Mismatch Repair. *Cell Research* ,18 ,85-98.

Li H, Zhang L, Jiang Q *et al.* 2017. Identification d'une mutation non-sens du gène APC chez des patients chinois atteints de polypose adénomateuse familiale. *Médecine expérimentale et thérapeutique*, 13, 1495-1499

Li SKH & Martin A. 2016. Mismatch Repair and Colon Cancer : Mechanisms and Therapies Explored. *Trends in Molecular Medicine*, 22, 274-289.

Lo YL, Hsiao CF, Jou YS *et al.* 2011. Polymorphisms of MLH1 and MSH2 genes and the risk of lung cancer among never smokers. *Lung Cancer*, 72, 280-286.

Lynch HT & Krush AJ. 1971. Cancer family "G" revisited: 1895-1970. *Cancer*, 27, 1505-1511.

Lynch HT, Shaw MW, Magnuson CW *et al.* 1966. Hereditary factors in cancer. Study of two large midwestern kindreds. *Arch. Intern. Med*, 117, 206-212.

-M-

Mahadevan V. 2020. Anatomie du rectum et du canal anal. *Chirurgie (Oxford)*, 38 ,7-11.

Malandar S, Rambech E, Kristoffersson U *et al.* 2006. The contribution of the hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome to the development of ovarian cancer. *Gynecol Oncol.*, 101, 238-243.

Mangold E, Pagenstecher C, Friedl W *et al.* 2005. Spectrum and frequencies of mutations in MSH2 and MLH1 identified in 1,721 German families suspected of hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Int. J. Cancer*, 116, 692-702.

Martinez-Roca A *et al.* 2022. Lynch-like Syndrome : Potential Mechanisms and Management. *MDPI*, 14, (pagination) LLC

Références bibliographique

Matos MB, Barbosaa LE, Teixeirab JP, 2020. Narrative review comparing the epidemiology, characteristics, and survival in sporadic colorectal carcinoma/Lynch syndrome. *Journal of Coloproctology*, 40, 73-78.

Maynadié M, Arveux P, Bouvier AM et al. 2019. Estimations régionales et départementales d'incidence et de mortalité par cancers en France, 2007-2016. BourgogneFrancheComté Saint-Maurice : Santé publique France, 40-46.

Miyabe I, Tanaka K & Akagi K. 2020. Genetic Analysis for Lynch Syndrome. *Molecular Mechanism and Current Clinical Practice*. 53-70. 1e ed.

Mnif L, Chtourou L, Abid F & Gdoura H. 2018. Le cancer colorectal héréditaire non polyposique (syndrome de lynch). *J.I.M. Sfax*, 30, 1-6.

Moore JS & Aulet TH. 2017. Dépistage du cancer colorectal. *Cliniques chirurgicales de l'Amérique du Nord*, 97, 487-502.

Mrkonjic M, Raptis S, Green RC et al. 2007. MSH2 118T>C and MSH6 159C>T promoter polymorphisms and the risk of colorectal cancer. *Carcinogenesis*, 28, 2575-2580.

-N-

Naohiro T. 2020. Lynch Syndrome. *Molecular Mechanism and Current Clinical Practice*.

O'Brien V & Brown R. 2006. Signalling cell cycle arrest and cell death through the MMR System. *Carcinogenesis*, 27, 682-692.

-P-

Peltomäki P & Vasen H. 2004. Mutations associated with HNPCC predisposition-update of ICG-HNPCC/INSiGHT mutation database. *Dis. Markers*, 20, 269-276.

Piawah S & Venook AP. 2019. Targeted therapy for colorectal cancer metastases : A review of current methods of molecularly targeted therapy and the use of tumor biomarkers in the treatment of metastatic colorectal cancer. *Cancer*, 125, 4139-4147.

-R-

Regula J, Rupinski M, Kraszewska E et al. 2006. Colonoscopie en dépistage du cancer colorectal cancer pour la détection d'un néoplasie avancé. *N. Engl. J. Med.*, 355, 1863-1872.

Reyes GX, Schmidt TT, Kolodner RD & Hombauer H. 2015. New insights into the mechanism of DNA mismatch repair. *Chromosoma*, 124, 443-462.

Références bibliographique

Risch HA, McLaughlin JR, Cole DE *et al.* 2001. Prevalence and penetrance of germline BRCA1 and BRCA2 mutations in a population series of 649 women with ovarian cancer. *Am J Hum Genet.*, 68, 700-710.

Rosen RD & Sapr A. 2020. TNM Classification. StatPearls [site].

Rubin SC, Blackwood MA, Bandera C *et al.* 1996. BRCA1 and BRCA2 And hereditary non polyposis colorectal cancer gene mutations in an unselected ovarian cancer population : relationship to family history and implications for genetic testing. *Am J Obstet Gynecol.*, 178, 670-677.

-S-

Simon K. 2016. Développement du cancer colorectal et progrès dans le dépistage. *Interventions cliniques dans le vieillissement*, 11, 967.

Smeby J, Sveen A, Merok MA. 2018. Impact pronostique dépendant de la CMS des mutations de KRAS et BRAF V600E dans le cancer colorectal primaire. *Annals of Oncology*, 29, 1227-1234 .

Sportes A, & Benamouzig R .2017. Évaluation du risque de cancer colorectal : peut-on s'aider de scores ?. *Côlon & Rectum*, 11, 73-77.

Srivastava K, Srivastava A & Mittal B. 2010. Polymorphisms in ERCC2, MSH2, and OGG1 DNA repair genes and gallbladder cancer risk in a population of Northern India. *Cancer*, 116, 3160-3169.

Strubberg AM & Madison BB. 2017. Les microARN dans l'étiologie du cancer colorectal : voies d'accès et implications cliniques. *Modèles et mécanismes de la maladie*, 10, 197-214.

Sur D, Colceriu M, Sur G *et al.* 2019. Cancer colorectal : évolution des stratégies de dépistage. *ClujulMedical*, 92, 21-24.

Syngal S *et al.* 2015. ACG clinical guideline : Genetic testing and management of hereditary gastrointestinal cancer syndromes. *Am. J. Gastroenterol*, 110, 223-262.

-T-

Takahashi M, Shimodaira H, Andreutti-Zaugg C *et al.* 2007. Functional analysis of human MLH1 variants using yeast and in vitro mismatch repair assays. *Cancer Res*, 67, 4595-4604.

Tam SY & Wu VW. 2019. Une revue des techniques spéciales de radiothérapie du cancer colorectal. *Frontières en oncologie*, 9.

Références bibliographique

Tarancón-Diez M, Büttner R & Friedrichs N. 2019. L'expression accrue de MLH1 tumorale dans le cancer du côlon déficient en MLH1 / PMS2 indique un cancer du côlon sporadique et non HNPCC. *Recherche en pathologie et en oncologie*, 1-5.

Tarancón-Diez M, Büttner R & Friedrichs N. 2019. L'expression accrue de MLH1 tumorale dans le cancer du côlon déficient en MLH1 / PMS2 indique un cancer du côlon sporadique et non HNPCC. *Recherche en pathologie et en oncologie*, 1-5.

Terzić J, Grivennikov S, Karin E et al. 2010. Inflammation and colon cancer. *Gastroenterology*, 138, 2101-2114. e5.

Tournier I, Vezain M, Martins A, et al. 2008. A large fraction of unclassified variants of the mismatch repair genes MLH1 and MSH2 is associated with splicing defects. *Hum Mutat*, 29, 1412-1424.

-U-

Umar A, Boland CR, Terdiman JP et al. 2004. Revised Bethesda guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J Natl Cancer Inst*, 96, 261-268.

-V-

Vasen HF, Watson P, Mecklin JP & Lynch HT. 1999. New clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the international collaborative group on HNPCC. *Gastro enterology*, 116, 1453-1456

Verret JM. 2014. Apport d'un capteur endoluminal pour l'observation de la paroi colorectale par imagerie et spectrométrie de résonance magnétique (Doctoral dissertation, Université Claude Bernard Lyon 1).

Vivre avec un syndrome de lynch ou HNPCC.HNPCC Lynch, www.hnpcc-lynch.com . date de consultation : 08/12/2021. 5e ed aout 2014.

-W-

Warthin AS. 1913. Hereditary with reference to carcinoma. *Arch Intern Med*, 12, 546-555.

Waters KM, Kim SA & Guindi M. 2019. The Anatomy and Development of the Colon and Rectum. *Encyclopedia of Gastroenterology*, 2nd Edition.

Whifn N, Broderick P, Lubbe SJ et al. 2011. MLH1-93G > A is a risk factor for MS colorectal cancer. *Carcinogenesis*, 32, 1157-1161.

Références bibliographique

Willner J, Wurz K, Allison KH, et al. 2007. Alternate molecular genetic pathways in ovarian carcinomas of common histological types. *Hum Pathol.*, 38, 607-613.

Win A K et al. 2012. Colorectal and other cancer risks for carriers and noncarriers from families with a DNA mismatch repair gene mutation : a prospective cohort study. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.*, 30, 958-964.

Witold K, Anna K, Maciej T & Jakub J. 2018. Adénomes - Facteurs génétiques dans la prévention du cancer colorectal. *Reports of Practical Oncology & Radiotherapy*, 23, 75-83.

Worrillow LJ, Smith AG, Scott K et al. 2008. Polymorphic MLH1 and risk of cancer after methylating chemotherapy for Hodgkin lymphoma. *J. Med. Genet.*, 45, 142-146.

-X-

Xiao XQ, Gong WD, Wang SZ et al. 2012. Polymorphisms of mismatch repair gene hMLH1 and hMSH2 and risk of gastric cancer in a Chinese population. *Oncol. Lett.*, 3, 591-598.

-Y-

Yamamoto H & Imai K. 2015. Microsatellite Instability : An Update. *Archives of Toxicology*, 89, 899-921.

Yusof AS, Isa ZM & Shah SA. 2012. Modèles alimentaires et risque de cancer colorectal : revue systématique des études de cohortes (2000-2011). *AsianPac J Cancer Précédent*, 13, 4713-4717.

-Z-

Zhou J, Zheng R, Zhang S et al. 2021. Colorectal cancer burden and trends : Comparison between China and major burden countries in the world. *Chinese Journal of Cancer Research*, 33, 1-10.



ANNEXE I

Tableau 1: Les stades du CCR selon la classification TNM.

Tumeur primitive (T)	
Tx	il n'est pas possible de statuer sur la tumeur primitive.
T0	pas de tumeur primitive évidente
Tis	cancer <i>in situ</i> : atteinte intra-épithéliale ou membrane basale.
T1	atteinte limité à la muqueuse ou la sous muqueuse
T2	atteinte de la musculature muqueuse, sans dépassement
T3	atteinte de toute l'épaisseur de la paroi
T4	atteinte des organes adjacents ou perforation dans le péritoine
Ganglion régionaux (N)	
N0	pas de métastase ganglionnaire
N1	métastase dans 1 à 3 ganglion lymphatique régionaux
N2	métastase dans 4 ou plus ganglion lymphatique régionaux
Nx	statut ganglionnaire non évaluable
Métastase (M)	
M0	pas de métastase
M1	métastase à distance (l'atteinte des ganglions iliaques externes ou iliaques communs est considère comme M1)
Mx	statut métastatique inconnu.

Stade 0 : la tumeur est in situ, ce qui signifie qu'elle est très superficielle et qu'elle n'envahit pas la sous-muqueuse, que les ganglions lymphatiques ne sont pas atteints et qu'il n'y a pas de métastase à distance.

- Stade I : la tumeur envahit la deuxième couche (sous-muqueuse) ou la couche musculaire (musculature) de la paroi du côlon ou du rectum, les ganglions lymphatiques ne sont pas atteints et il n'y a pas de métastase à distance.

- Stade II : les cellules cancéreuses ont traversé plusieurs couches de la paroi du côlon ou du rectum, mais aucun ganglion n'est atteint et il n'y a pas de métastase.

- Stade III : les cellules cancéreuses ont envahi les ganglions lymphatiques proches de la tumeur.

Annexes

- Stade IV : le cancer s'est propagé au-delà du côlon ou du rectum, vers des emplacements ou des organes éloignés, généralement le foie ou les poumons (Bosman FT *et al*, 2010 ; Brierley JD *et al*, 2017).

Annexe II

Tableau 2 : Critères d'Amsterdam

Les critères de sélection d'AmsterdamII (Coffin E <i>et al</i> , 2019).
≥ 3 apparentés atteints d'un cancer du spectre étroit ou élargi (tous les critères sont nécessaires) :
1. L'un d'entre eux doit être un parent au premier degré des deux autres.
2. Au moins deux générations successives doivent être touchées.
3. Au moins une personne doit avoir été diagnostiquée avant l'âgede50ans.
4. La polypose adénomateuse familiale doit être exclue.
5. Le diagnostic de la tumeur doit être confirmé par un examen histopathologique.

Les critères de Bethesda

Tableau 3 : Critères de Bethesda

Les critères de sélection Bethesda (Coffin E <i>et al</i> , 2019).
Critères de Bethesda révisés (un seul critère suffit) :
1. CCR diagnostiqué chez un patient de moins de 50 ans.
2. Présence de tumeurs colorectales synchrones, métachrones ou d'autres tumeurs associées au syndrome de Lynch (LS) quel que soit l'âge du patient.
3. Cancer colorectal < 60ans avec histologie MSI-H.
4. CCR diagnostiqué chez un patient ayant un ou plusieurs parents au premier degré atteints d'une tumeur associée au LS, l'un des cancers ayant été diagnostiqué avant l'âgede50ans dont l'un des cancers a été diagnostiqué avant l'âgede50 ans.
5. CCRdiagnostiquéchezdeuxouplusieursparentsaupremierouauseconddegréavecune tumeur associée au LS, quel que soit l'âge.

Annexes

Annexe III

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)

Stades pTNM :

Annexes

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.....

Annexe IV

Fiche de consentement du patient

Centre hospitalier Universitaire de Constantine
Gastroentérologie /Centre Anti cancéreux
Laboratoire de Biologie et génétique moléculaire
Etude génétique du Cancer colorectal

Dans le cadre de :

Etude de prédisposition génétique aux cancers colorectaux

Je soussigné(e) :

Nom :

Prénom :

Date de naissance :

-Déclare avoir pris connaissance des informations explicatives concernant cette étude.
- J'accepte le prélèvement sous les conditions décrites en gardant tous mes droits stipulés par la loi algérienne

Annexes

- J'accepte ce type de recherche :
- Je m'oppose à ce type de recherche :

-En cas de réponse affirmative, je souhaite que les résultats puissent m'être communiqués

OUI

NON

Signature du patient(e) :

Signature de Doctorant (investigateur)

En lieu et date :

Signature du Médecin

Annexe V Fiche de consentement du patient

Annexe VI

Les étapes de l'extraction de l'ADN :

1- Préparation des leucocytes

- Dans un tube Falcon de 50 ml ; mettre le sang total (7-10 ml) et compléter à 45 ml avec du TE 20 :5. Laisser 10 min dans la glace.
- Centrifuger 15 min à 3900 g (3900 rpm).
- Déverser le surnageant prudemment afin de garder le culot leucocytaire précipité au fond de tube.
- Rajouter le TE 20:5 au culot jusqu'à 25-30 ml, agiter pour le remettre en suspension et laisser 10 min dans la glace.
- Centrifuger dans les mêmes conditions précédentes.
- Déverser le surnageant : obtention d'un culot de leucocytes. (Si on s'arrête à ce niveau, les mettre dans un tube nunc de 1.5 ml avec du TE 10 :1 et les conserver à -20°C dans un congélateur).

2- Extraction de l'ADN

Annexes

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

3-Solubilisation de l'ADN :

- L'ADN est réhydraté en ajoutant entre 300 et 1000 µL de TE 10 :1 selon la grosseur de la pelote et la concentration souhaitée.
- Laisser une nuit sur agitateur rotateur à 37°C, puis à température ambiante jusqu'à dissolution complète (de 1 jusqu'à 3 jour).

Détermination de la pureté et la concentration de l'ADN :

-Détermination de la pureté :

- Principe :

- L'ADN absorbe à 260 nm alors que les protéines (témoins de contamination) absorbent à 280 nm.
-

Annexes

- L'échantillon est dilué au 1/100 dans l'eau distillée (10 µl de l'ADN solubilisé dans 990 µL de l'eau stérile).
- Les DO sont lues à 260 et 280 nm (longueurs d'onde d'absorption des acides nucléiques et des protéines) dans le même type de cuve que celle ayant servi à faire le zéro (eau stérile).
 - Par le moyen du rapport de DO 260 nm / DO 280nm, la pureté de l'ADN est déterminée en indiquant la contamination de l'ADN par les protéines ou par les ARN.

On considère que

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

- Détermination de la concentration de l'ADN :

-Principe

La densité optique à 260 nm permet de calculer la concentration de l'ADN sachant que :
1 unité de DO_{260} nm = 50 µg/ ml d'ADN double brin.

- **Exemple :**

Pour un ADN solubilisé dans 1000 µl de TE 10 :1 ayant une DO_{260} nm =0.139

1 unité de DO_{260} nm \longrightarrow 50 µg/ ml d'ADN

0.139 DO_{260} nm \longrightarrow X

$$X = 0.139 \times 50 = 6.95 \text{ µg/ ml}$$

Considérant que l'ADN est dilué à 1/100, donc $6.95 \times 100 = 695 \text{ µg/ ml}$. **La concentration de l'ADN en µg /ml = facteur de dilution x DO_{260} x 50 µg / ml.**

Fiche de Suivi technique

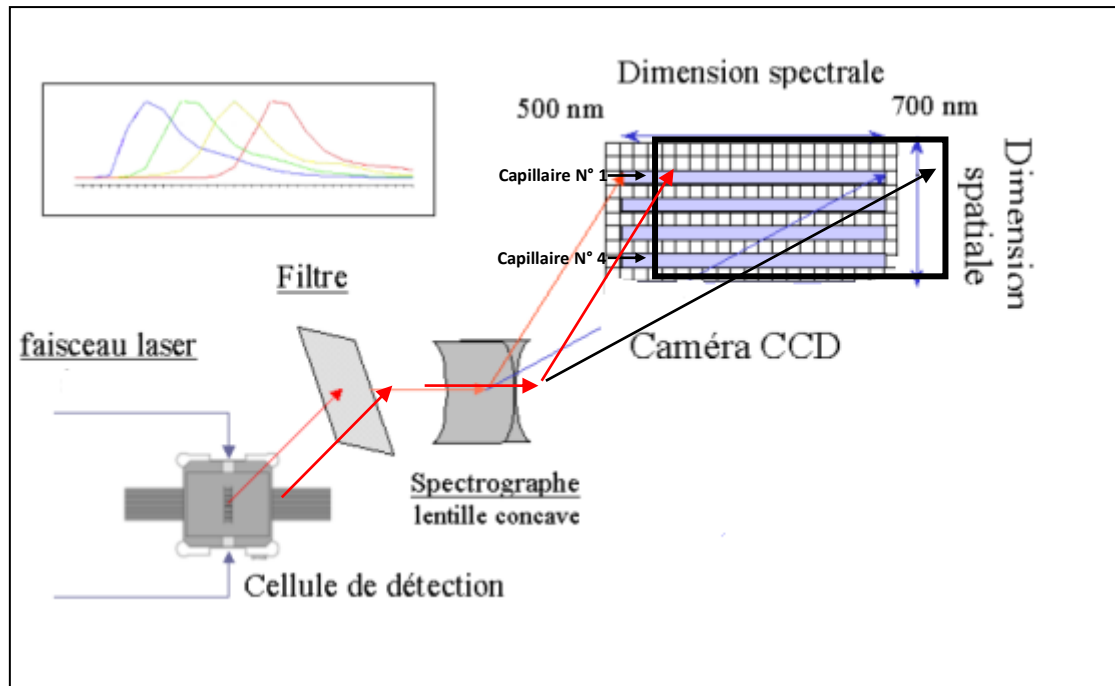


Figure A : Principe de l'électrophorèse capillaire

Il se repose sur une différence de potentiel (ddp), des polyanions d'ADN simple brin vont migrer du pôle négatif (cathode) vers le pôle positif (anode) du circuit électrique. Les données de fluorescences sont récupérées au niveau d'une cellule de détection et transmises vers la caméra CCD pour être analysées. Les fluorochromes excités vont ré-émettre une fluorescence spécifique perpendiculairement. Elle passe à travers un filtre qui va sélectionner uniquement la fluorescence provenant des capillaires. Une lentille concave appelée spectrographe va décomposer pour chacun des capillaires la fluorescence entre 500 et 700 nm et diriger chaque faisceau en direction de la caméra CCD.

Annexes

Annexe VII

Tableau 4 : Détermination de la concentration et la pureté d'ADN

Sample ID	Concentration	260/280
CCR1	143,5	1,83
CCR2	208,5	1,77
CCR3	111,3	1,78
CCR4	386,3	1,75
CCR5	135,5	1,71
CCR6	728,5	1,8
CCR7	239	1,86
CCR8	385,8	1,9
CCR9	522,9	1,65
CCR10	551	1,69
CCR11	616	1,85
CCR17	714	1,76
CCR13	1361	1,77
CCR12	771,1	1,86
CCR15	237,3	1,81
CCR16	115,4	1,96
CCR 9	87,72	1,55
CCR 10	104,8	1,87
CCR 11	241	1,87
CCR 9	47,03	1,96
CCR 10	121,1	1,82



Résumé

Le cancer colorectal est un problème de santé majeur en Algérie, y compris le syndrome de Lynch (SL) ou *syndrome hereditary non polyposis colorectal cancer* (HNPCC) est l'une des prédispositions génétiques aux cancers les plus fréquentes. Il est lié à une mutation constitutionnelle de l'un des gènes du système de réparation des mésappariements d'ADN (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6* et *PMS2*). La transmission est autosomique dominante mais avec une pénétrance incomplète.

L'objectif de notre travail est de détecter le polymorphisme -93A>G sur le promoteur du *MLH1* pour évaluer son association avec le risque de CCR chez nos patients.

Nous avons effectué une étude épidémiologique et statistique présentant des caractéristiques cliniques, généalogiques, et une étude moléculaire dans laquelle, nous avons pu développer l'application de PCR- digestion pour le génotypage du polymorphisme du promoteur de *MLH1*.

Nos résultats ont révélé que l'âge moyen de l'atteinte par le CCR est entre 40 et 60 ans avec prédominance masculine ainsi qu'une fréquence élevée de cancer du rectum par rapport à celle du colon. Les critères de Bethesda sont présents chez 52 % de nos patients.

Dans l'avenir, il serait mieux d'élargir le nombre des patients dans une étude plus approfondie afin d'identifier de nouveaux marqueurs génétiques de cette pathologie.

Abstract

Colorectal cancer is a major health problem in Algeria, including Lynch syndrome (LS) or hereditary non-polyposis colorectal cancer syndrome (HNPCC) is one of the most common genetic predispositions to cancer. It is linked to a constitutional mutation in one of the genes of the DNA mismatch repair system (MLH1, MSH2, MSH6 and PMS2). The transmission is autosomal dominant but with incomplete penetrance.

The objective of our work is to detect the -93A>G polymorphism on the MLH1 promoter to evaluate its association with CRC risk in our patients.

We performed an epidemiological and statistical study presenting clinical and genealogical characteristics. And a molecular study in which, we were able to develop the application of PCR-digestion for the genotyping of MLH1 promoter polymorphism.

Our results revealed that the average age of CRC is between 40 and 60 years with a male predominance and a high frequency of rectal cancer compared to colon cancer. The Bethesda criteria are present in 52% of our patients.

In the future, it would be better to enlarge the number of patients in a more thorough study in order to identify new genetic markers of this pathology.

المخلص

يعد سرطان القولون والمستقيم مشكلة صحية رئيسية في الجزائر، بما في ذلك متلازمة لينش (LS) أو متلازمة سرطان القولون والمستقيم الوراثي (HNPCC) هي واحدة من أكثر الاستعدادات الجينية شيوعاً للسرطان. يرتبط بطفرة جينية في أحد جينات نظام إصلاح عدم تطابق الحمض النووي MLH1، MSH2، MSH6 PMS2. الانتقال هو مهيمن جسدي ولكن مع اختراق غير كامل. الهدف من عملنا هو اكتشاف تعدد أشكال -93 G > A على الجين MLH1 لتقييم ارتباطه بمخاطر CRC في مرضانا. أجرينا دراسة وبائية وإحصائية تعرض الخصائص السريرية وعلم الأنساب. ودراسة جزيئية تمكنا فيها من تطوير تطبيق PCR-الهضم للتنميط الوراثي لتعدد أشكال المروج MLH1. كشفت نتائجنا أن متوسط عمر CRC يتراوح بين 40 و 60 عامًا مع هيمنة الذكور وارتفاع وتيرة الإصابة بسرطان المستقيم مقارنة بسرطان القولون. معايير بيتيسدا موجودة في 52% من مرضانا. في المستقبل، سيكون من الأفضل زيادة عدد المرضى في دراسة أكثر شمولاً من أجل تحديد العلامات الجينية الجديدة لهذا المرض.

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par : Bousemghoun Meriem Ines
Meradji Amira
Djerad ihab

Etude statistique et génétique de l'association de polymorphismes rs1800734 du gène *MLH1* et le cancer colorectal

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Génétique

Le cancer colorectal est un problème de santé majeur en Algérie, y compris le syndrome de Lynch (SL) ou *syndrome hereditary non polyposis colorectal cancer* (HNPCC) est l'une des prédispositions génétiques aux cancers les plus fréquentes. Il est lié à une mutation constitutionnelle de l'un des gènes du système de réparation des mésappariements d'ADN (MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2). La transmission est autosomique dominante mais avec une pénétrance incomplète.

Objectif : Détecter le polymorphisme -93A>G sur le promoteur du *MLH1* pour évaluer son association avec le risque de CCR chez nos patients.

Résultats : l'âge moyen de l'atteinte par le CCR est entre 40 et 60 ans avec prédominance masculine ainsi qu'une fréquence élevée de cancer du rectum par rapport à celle du colon. Les critères de Bethesda sont présents chez 52% de nos patients.

Conclusion :

le CCR augmente considérablement avec l'âge chez les deux sexes avec une prédominance masculine 59 %. Concernant la localisation de la tumeur, une fréquence plus élevée au niveau du rectum par rapport au colon et ses différentes parties, une prédominance de stade III par rapport aux autres stades, ceci peut être expliqué par un diagnostic qui est souvent tardif.

Mots clés : Cancer colorectal, Lynch, polymorphisme du gène *MLH1*, système MMR

Laboratoires de recherche : Laboratoire de biologie et génétique moléculaire

Encadreur : ZIADA-Bouchaar H (MCB- Université Frères Mentouri, Constantine1).

Président: SATTI .D (Pr – Université Frères Mentouri, Constantine1).

Examineur : SEMMAME- Bensakesli O (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).