



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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département de Biologie Animale

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Génétique Moléculaire*

« *Génétique des cancers* »

Intitulé :

Cancer Colorectal entre facteurs de risque et polymorphisme de l'Apolipoprotéine E.

Présenté et soutenu par : Benbadis Sarah

Le : 29/06/2015

Bendjelloul Ramzi

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : Dr Gharzouli R. (Maitre de conférences « B » UFM Constantine).

Rapporteur : Mme Ziada-Bouchaar H. (Maitre Assistante « A » UFM Constantine).

Examineurs : Dr Benhizia H (Maitre de conférences « B » UFM Constantine).

*Année universitaire
2014 - 2015*

Remercîment

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

Remercîment

En premier lieu, on remercie Mme. ZIADA, En tant qu'encadreur de mémoire, elle nous a guidé dans notre travail et nous a aidé à trouver des solutions pour avancer.

A Monsieur et Madame Benbadis qui nous ont fournis tout les conditions pour pouvoir effectué notre travail.

A Mme Le Pr Djamaa et Mr le Pr Filali pour nous avoir ouvert les portes de vos services
A Monsieur N ABADI, Professeur et directeur du laboratoire de biologie moléculaire au CHUC. Pour nous avoir accueillie dans votre laboratoire.

Au professeur Dalila SATTA au département des sciences de la nature et de la vie et responsable de la filière de Génétique pour son dévouement, suivi et encouragements
Durant toute notre formation.

Aux membres du jury Vous nous faites l'honneur de présider cette soutenance:

Mme Gharzouli, Mme Benhayzia et Mme Ziada.

A TOUT LES MALADES qui n'ont pas hésité à coopérer avec nous malgré leur état de santé.

Au personnel des services CAC . sur tout monsieur abd el malek ,nous vous remercions
vivement pour votre collaboration et interactivité

Aux membres du laboratoire de l'hormonologie surtout Mr Boulekroun Zouher, Mme
Yassmina

Un immense merci a Mme Rarzouli Nadra et son fils Achraf pour l'aide fournis durant notre travail.

Merci a tous nos enseignants pour les connaissances qu'ils nous ont transmises.

A toute la promotion du Génétique des cancers.

A nos amies nous vous remercions infiniment pour toute votre amitié, sympathie, soutien et joie de vivre. Nous nous rappellerons toujours de tous les bons moments que nous avons partagés ensembles et qui resteront gravés dans la mémoire.

A tous ceux qui ont contribué à notre formation de prés ou de loin.

Dédicaces

J'adresse mes sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé mes réflexions et ont accepté à me rencontrer et répondre à mes questions durant mes recherches.

Je remercie mes très chers parents, Nadjib et Leila, qui ont toujours été là pour moi, «Vous avez tout sacrifié pour vos enfants n'épargnant ni santé ni efforts. Vous m'avez donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. Je suis redevable d'une éducation dont je suis fier ».

Je tiens à remercier mes frères Chakib et Khaled ,qui ont toujours été là pour moi.

Je remercie très spécialement Achraf, Haider, pour leur encouragement.

Enfin, je remercie tous mes Ami(e)s que j'aime tant Abdel ,Mehdi ,Zinou ,Montaser ,Bilel, Houdheifa,Aymen,Amina,Meryem,Amira,lilia,Anis,Skander,Adlen,Yazid,Rafik,Zaki,Anis,

Hcen,Houcine,Dina,Racha,Sabrina,Rayan,Borhan,Chaouki,Amine,Yassin,Misou,Yacob
Pour leur sincère amitié et confiance, et à qui je dois ma reconnaissance et mon attachement.

Ainsi que toute la famille cousins, cousines oncles, tantes.

À tous ces intervenants, je présente mes remerciements, mon respect et ma gratitude.

Ramzi

Dédicaces

Que le chemin fût long, tortueux et semé d'embûches pour arriver à ce manuscrit. J'en retire néanmoins une expérience professionnelle et humaine exceptionnelle.

A mes parents pour ces longues années de soutien inconditionnel, pour leur confiance permanente et l'acceptation de mes choix. Ils m'ont offert la possibilité de réaliser mon rêve.

Ils ont toujours fait preuve de la plus grande des patiences et de la plus grande des compréhensions. Malgré toutes les difficultés qu'ont pu représenter ces longues années d'études, ils m'ont toujours facilité ce parcours, au prix de nombreux efforts. Il me sera impossible de rendre tout ce qui m'a été offert. Rien n'aurait été possible sans eux, cette réussite est donc un peu la mienne, mais surtout beaucoup la leur.

Aucun remerciement ne serait être suffisant.

Un remerciement a mes deux petits frères, ainsi qu'a tout mes amis, collègues, copines, et toute ma famille.

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

Je remercie toutes les personnes qui m'ont formé lors de mon parcours étudiant, et Notamment tous les enseignants sans exception durant ces cinq ans.

Sarah

Liste des abréviations :

- APC : Adenomatous Polyposis Coli.
- BMPs: Bone Morphogenic Proteins.
- CC: Cancer Colique.
- CCR: Cancer Colorectal.
- CIMP: CpG Island Methylation Phenotype.
- CIN: Chromosomal INstability.
- DMSO: Diméthyl Sulfoxyde.
- EGFR: Epidermal Growth Factor Receptor.
- FCA : Foyer de cryptes aberrantes.
- HNPCC: Hereditary Non Polyposis Colorectal Cancer.
- HDL: High Density Lipoprotein.
- JPS : Syndrome de Polypose Juvénile.
- KRAS: *Kirsten Rat Sarcoma viral oncogene homolog*.
- LDL-C: Low Density Lipoprotein Coler.
- LDL: Low Density Lipoprotein.
- MSI: Microsatellite Instability (Instabilité des microsatellites).
- MAP: MUTYH Associated Polyposis.
- MMR: MisMatch Repair .
- MLH1 *MutL homolog 1*.
- MSH2 *MutS homolog 2*.
- MAPK: Mitogen-Activated Protein (MAP) Kinase.
- PAF (FAP) : Polypose Adénomateuse Familiale (Familial Adenomatous Polyposis).
- PAFA (AFAP) : Polypose Adénomateuse Familiale Atténuée (Attenuated Familial Adenomatous Polyposis).
- PCR: Polymerase Chain Reaction.
- RCH: Rectocolite ulcéro-hémorragique.
- RAS : Relative Allele Signal ou Relative Allele Strength.
- SMAD *SMA and MAD-related protein 4*.
- TG: Triglyceride.
- TGF- β : Tumor Growth Factor beta.
- VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor Receptor.
- VLDL: Very Low Density Lipoprotein.
- WNT: *Wingless-type MMTV integration site family member*.

Liste des figures :

Figure 1: les caractéristiques d'une cellule cancéreuse.....	3
Figure 2: représentation schématique du colon humain.....	8
Figure 3: Structure de la paroi colique.....	8
Figure 4: Structure de l'épithélium intestinal.....	10
Figure 5: crypte « Glande de Lieberkühn ».....	10
Figure 6: Evolution du CCR.....	13
Figure 7: Répartition des différents types de cancers du côlon.....	14
Figure 8: Cancérogenèse colorectale.....	16
Figure 9: Mécanisme d'inactivation de la transcription.....	18
Figure 10 : Localisation cytogénétique du gène de l'apo E sur le chromosome 19....	21
Figure 11 : Positions exons –introns dans le gène d'apo E.....	22
Figure 12: Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose 1.5% des fragments amplifiés (292pb) par PCR.....	29
Figure 13: site de restriction par l'enzyme HhaI.....	30
Figure 14: Profil d'électrophorèse sur gel d'acrylamide des fragments issus par clivage de HhaI E.....	31
Figure 15 : Digestion par Hha I des trois allèles.....	32
Figure 16: répartition des témoins selon le sexe.....	33
Figure 17 : Répartition de la population de référence selon l'âge et le sexe.....	34
Figure 18: La répartition des sujets présentant un cancer colorectal selon le sexe....	34
Figure 19: Répartition des malades atteints d'un CCR selon l'âge et le sexe.....	35
Figure 20: Répartition des sujets malades selon la localisation des tumeurs.....	37
Figure 21: Répartition des sujets malades selon le stade TNM.....	38
Figure 22: la répartition des malades selon les wilayas.....	39
Figure 23 : Répartition des fumeurs et des non fumeurs dans le CCR selon le sexe masculin.....	41
Figure 24 : la répartition des malades selon la consommation de certains aliments...	42
Figure 25: la répartition des malades selon la consommation des légumes, fruits et les produits laitiers.....	44
Figure 26: la répartition des malades selon les ATCD familiaux.....	45

Liste des tableaux

Tableau 1 : récapitulatif tumeur bénignes/malignes.....	3
Tableau 2: Tailles des fragments de restriction en (Pb) correspondants aux six génotypes possible.....	32
Tableau 3: Préparation du milieu réactionnel du PCR. (Annexe 3)	
Tableau 4: Déroulement des cycles de la PCR dans le thermocycleur. (Annexe 3).	
Tableau 5 : préparation du milieu de digestion par l'enzyme HhaI. (Annexe 4).	
Tableau 6 : Préparation d'un gel d'acrylamide 10%. (Annexe 4).	
Tableau 7: Classification TNM. (Annexe 5).	
Tableau 8 : Stades TNM. (Annexe 5).	
Tableau 9: représente la répartition des sujets de référence selon l'âge et le sexe.....	33
Tableau 10: Répartition des sujets présentant un CCR selon l'âge et le sexe.....	35
Tableau 11: Répartition des sujets malades selon la localisation de la tumeur.....	36
Tableau 12: Répartition des sujets malades selon le stade TNM.....	37
Tableau 13 : La répartition selon les wilayas.....	39
Tableau 14: le cancer colorectal en Afrique du Nord.....	40
Tableau 15: représentant la répartition des malades selon la consommation du tabac.....	40
Tableau 16 : la répartition des malades selon la consommation de certains aliments.....	42
Tableau 17 : Répartition des malades selon la consommation des légumes, fruits et les produits laitiers.....	43
Tableau 18: la répartition des malades selon les ATCD familiaux.....	45

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des Abréviations

Introduction.....1

Partie 1 : Etude bibliographique

Chapitre 1 : le cancer

1. Définition du cancer.....2
2. La cellule cancéreuse.....2
3. Les types de tumeurs.....3
4. La cancérogenèse.....4
5. Les gènes impliqués dans le cancer.....4
6. Mécanismes moléculaires de l'oncogenèse.....6
7. La génétique du cancer.....6

Chapitre 2 : le cancer colorectal

1. Épidémiologie.....7
2. Histoire naturelle du CCR.....7
3. Rappel anatomique.....7
4. Les tumeurs bénignes du colon.....9
5. Facteurs de risque.....11
6. Le cancer colorectal« Adénocarcinome ».....12
7. Filiation Adénome-Cancer.....12
8. Les différents types de cancers du côlon.....13
9. Cancérologie colorectal.....16
10. Les stades de cancer colorectal selon la classification TNM.....19
11. Le traitement.....19

Chapitre 3 : l'apolipoprotéine E

1. Apolipoprotéine E.....21
2. Le gène de l'apo E et son polymorphisme.....21
3. La protéine apo E et ses modifications post-traductionnelles.....23
4. Rôles de l'Apo E.....23
5. Distribution tissulaire.....23

6. Impact du polymorphisme de l'Apo E sur le métabolisme des lipoprotéines.....	24
7. Le polymorphisme de l'apo E et le cancer colorectal.....	24

Partie 2 : Patients et Méthodes

1. Patients.....	27
2. Méthodes	27
1. prélèvement sanguin.....	27
2. Questionnaire et Enregistrements.....	28
2.1 Questionnaire.....	28
2.2 Enregistrement.....	28
3. Extraction de l'ADN.....	28
3.1 Principe.....	28
4. Génotypage de l'Apo E.....	28
4.1 La PCR (Polymérase Chaîne Réaction).....	28
4.1.1 Préparation du milieu réactionnel (mix) de PCR.....	28
4.1.2 Déroulement des cycles de la PCR.....	29
4.1.3 Contrôle des produits de la PCR.....	29
4.2 Digestion des produits de PCR par l'enzyme de restriction HhaI.....	29
4.2.1 Condition de migration.....	30
4.2.1.1 Préparation d'un gel d'acrylamide 10% (Annexe4.Tableau6).....	30
4.2.1.2 Dépôts des échantillons.....	30
4.2.1.3 Migration.....	31
4.2.1.4 Coloration.....	31
4.2.1.5 Révélation du profil électrophorétique	31
4.2.2 Profils RFLP obtenus.....	31

Partie 3 : Résultats et Discussions

1. Répartition des sujets selon l'âge et le sexe.....	33
2. Répartition des malades.....	36
2.1 Selon la localisation de la tumeur.....	36

2.2Selon le stade TNM	37
2.3Les wilayas.....	39
3. Les facteurs de risques du cancer colorectal.....	40
3.1 Le tabac.....	40
3.2L'alimentation.....	42
3.3Les antécédents familiaux.....	45
Conclusion et perspectives	47
Références bibliographiques.....	49
Annexes	

Introduction

Introduction

La lutte contre le cancer est devenue lors de ces dernières décennies un enjeu majeur en termes de santé publique. Cette maladie qui a pour mécanisme, une prolifération cellulaire anarchique, incontrôlée et incessante.

Le cancer colique est le 3eme type de cancer le plus répandu dans le monde (1) En effet, l'incidence de ces cancers est largement plus élevée dans les pays développés que dans les pays en voie de développement (1) En Algérie, la cause colique est classée en troisième position, après le cancer du pommons et de la vessie, chez l'homme et le cancer du sein et du col utérus, chez la femme (2)

Les risques de cette maladie sont liés à plusieurs facteurs dont l'âge, l'hérédité, l'alimentation, le tabagisme et certains facteurs environnementaux.

A l'échelon moléculaire, le développement d'un adénome puis d'un cancer colorectal correspond à l'accumulation progressive de mutations de gènes au sein du noyau des cellules épithéliales coliques, l'activation d'oncogènes et l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs (3)

Par ailleurs, il pourrait que des facteurs génétiques influençant le métabolisme du cholestérol soient également impliqués dans le CCR.

L'apolipoprotéine E (apoE) joue un rôle majeur dans le métabolisme des acides biliaries, étant donné le rôle potentiel des acides biliaries dans l'étiologie du CCR, il est raisonnable de penser que le risque de CCR pourrait être modifié par le génotype Apo E(4).

A la base de cette hypothèse nous nous sommes intéressées au déterminisme du génotypage de l'ApoE chez des patients atteints de CCR et témoins sains de la région Est algérienne. Ainsi, les objectifs du présent travail sont :

- 1- de voir s'il existe une relation entre certains facteurs de risque (sexe, âge, tabagisme, ATCD familiaux, et alimentation) et atteinte par le cancer colorectal.
- 2- La manipulation de technique de base de Biologie Moléculaire (extraction d'ADN PCR-RFLP) à travers l'analyse de la distribution alléliques et génotypiques du polymorphisme APOE des patients atteints de cancer colorectal et les sujets témoins pour comparer les résultats et quantifier le degré de liaison entre ce polymorphisme et le CCR.

1^{ière} partie
Etude bibliographique

Chapitre I : Le cancer

1. Définition du cancer

L'organisation Mondiale de Santé attribue au cancer la définition suivante : « Cancer est un terme général appliqué à un groupe de plus d'une centaine des maladies qui peuvent toucher n'importe quelle partie de l'organisme. L'une des caractéristiques du cancer est la prolifération rapide des cellules anormales qui, au-delà de leur délimitation normale, peuvent envahir des parties du corps adjacentes et semer dans d'autres organes formant ce qu'on appelle des métastases. » (5).

2. la cellule cancéreuse

Le nombre important de cellules qui constituent les différents tissus de l'organisme naissent et meurent de façon à maintenir la forme, l'architecture, et les fonctions propres à chaque organe ou système. Pour maintenir l'harmonie de l'ensemble, la prolifération des cellules est régulée par les contacts avec les autres cellules. Le propre du cancer est de briser cette harmonie (6).

a. Caractères généraux de la cellule cancéreuse

Les cellules cancéreuse rompent les règles les plus fondamentales du comportement qui édifie et entretiennent les organismes multicellulaires et exploitent chaque opportunité pour ce faire.

Elles sont définies par deux propriétés transmissibles : elles et leur descendance

- se reproduisent au mépris des restrictions normales de la division cellulaire
- envahissent et colonisent des territoires normalement réservés à d'autres cellules.

C'est l'association de ces actions qui rend les cancers particulièrement dangereux. Une cellule isolée anormale, qui ne prolifère pas plus que ses voisines normales, n'occasionne pas de lésions significatives quelles que soient les autres propriétés nuisibles qu'elle peut avoir ; mais si sa prolifération n'est plus contrôlée, elle donnera naissance à une tumeur, ou néoplasie- masse constamment croissante de cellules anormales (Fig.1). Cependant, tant que les cellules néoplasiques restent rassemblées en une seule masse, on dit que la tumeur est bénigne (7).

a. Origine clonale des cellules cancéreuses

Les cancers ont « une origine clonale », à partir d'une seule cellule somatique, dont les mécanismes de régulateur de la croissance, de la différenciation, et de la prolifération ont été gravement perturbés. De plus les caractères nouveaux acquis sont

Chapitre I : Le cancer

transmis à la descendance cellulaire. Alors, les cellules tumorales n'obéissent plus aux mécanismes de contrôle d'une croissance normale chez l'hôte (8).

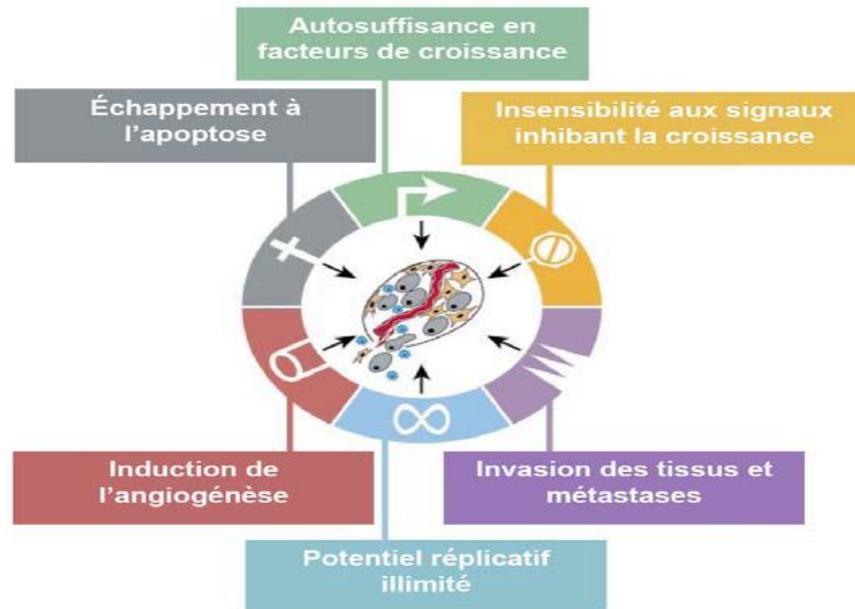


Figure1: les caractéristiques d'une cellule cancéreuse (Hanahan,D et al. 2000).

3. Les types de tumeurs

Les tumeurs sont dues à une prolifération cellulaire excessive aboutissant à une masse tissulaire. Elles peuvent être bénignes ou malignes. Les différences entre ces deux types de tumeur sont présentées dans le tableau 1 :

Tableau 1 : récapitulatif tumeur bénignes/malignes (10).

Tumeurs bénignes	Tumeurs malignes
Bien limitée	Mal limitée
Encapsulée	Non encapsulée
Histologiquement semblable au tissu d'origine (bien différenciée)	Plus ou moins semblable au tissu d'origine.
Cellules régulières	Cellules irrégulières (cellules cancéreuses)
Croissance lente	Croissance rapide
Refoulement sans destruction des tissus voisins	Envahissement des tissus voisins
Pas de récurrence locale après exérèse complète	Exérèse complète difficile. Récurrence possible après exérèse supposée complète
Pas de métastase	Métastase

4. La cancérogenèse

La carcinogénèse décrit tous les mécanismes et les facteurs impliqués dans la transformation de la cellule. Plusieurs types d'inducteurs et de nombreuses étapes sont en cause dans la cancérisation d'une cellule saine.

Ces mécanismes peuvent être divisés en plusieurs phases que sont les phases d'initiation, de promotion et d'invasion

- **La phase d'initiation**

Correspond au tout premier évènement que subit la cellule. Elle survient après une mutation irréversible au niveau de l'ADN, qui est le plus souvent due à un agent initiateur tel que les carcinogènes physiques, chimiques et les virus à cancer (11).

- **La phase de promotion**

C'est une prolifération des cellules transformées après l'initiation, qui forment alors des tumeurs, sous l'action d'un agent promoteur qui n'est en lui-même ni mutagène ni cancérogène. En outre, il n'a d'effet biologique que s'il est appliqué en permanence ; quand l'action du stimulus promoteur est supprimée, ses effets disparaissent (12).

- **La phase de progression et d'invasion**

Elle concrétise l'acquisition de la malignité tumorale. En impliquant des remaniements génomiques, des translocations, des recombinaisons, des mutations d'oncogènes et/ou de gènes suppresseurs de tumeurs. Menant à la dissémination des cellules tumorales dans l'organisme vont entraîner des métastases, via la voie sanguine et lymphatique, atteignant alors d'autres organes (13).

5. Les gènes impliqués dans le cancer

a. Oncogènes

Tout gène cellulaire, appelé proto-oncogène (c-onc), susceptible de devenir, par suite d'une modification qualitative ou quantitative, *un gène transformant*, capable de conférer expérimentalement le phénotype cancéreux à une cellule normale eucaryote. L'altération d'un allèle est suffisante pour entraîner une activation anormale (14).

Les oncogènes sont répartis en 6 grandes classes en fonction des onco-protéines pour lesquels ils codent :

1. les facteurs de croissance (assurent une boucle de régulation autocrine),
2. les récepteurs transmembranaires de facteurs de croissance.
3. les G-protéines ou protéines membranaires liant le GTP.

4. les tyrosines protéine-kinases membranaires
5. les protéine-kinases cytosoliques
6. les protéines à activité nucléaire : contrôlent la transcription de gènes cibles en interagissant avec l'ADN (14).

- **Mécanisme d'activation des oncogènes**

Ils sont multiples :

- Intégration virale, mutation ponctuelle, délétion ou réarrangement structural.
- Amplification génique, dérégulation de l'expression, stabilisation d'un ARNm (14).

- b. Anti-oncogènes ou gènes suppresseurs de tumeurs**

Ces gènes sont aptes à inhiber la croissance cellulaire lorsqu'ils sont introduits par transfection dans les cellules tumorales. Cette propriété s'explique par la capacité de ces gènes à réguler négativement le cycle cellulaire et à induire l'apoptose ou mort cellulaire programmée. Action cellulaire récessive : une altération des 2 allèles est nécessaire à l'obtention d'une perte d'activité (14).

- Mécanisme d'action

Les anti-oncogènes agissent principalement en phase G1/S. La transition G1/S est sous la dépendance des facteurs de transcription de la famille E2F qui contrôlent l'expression de gènes indispensables à la phase S de synthèse de l'ADN (14).

- Altération des gènes suppresseurs de cancers

Les altérations moléculaires à l'origine de la perte de fonction des gènes suppresseurs dans les tumeurs solides sont variées. Il peut s'agir de mutations ponctuelles, de délétions, d'insertions, d'anomalies de méthylation des promoteurs inhibant la transcription (14).

- c. Les gènes de réparation de l'ADN**

Il s'agit de la 3^{ème} catégorie de gènes dont l'altération intervient dans la cancérogenèse. Ils interviennent *indirectement* dans ce processus.

Les systèmes de réparation sont répartis en 2 catégories en fonction de l'origine de la mutation (14).

- Système de réparation des mésappariements (mismatch repair)

Intervient lorsque les mutations de l'ADN résultent d'erreurs de la réplication. Il comprend les gènes hMSH2, hMLH1, hPMS1, hPMS2, hMSH6 dont l'altération constitutionnelle est à l'origine du cancer colorectal familial non associé à une

Chapitre I : Le cancer

polypose colique, ou syndrome HNPCC (Hereditary non Polyposis Colorectal Cancer), ou syndrome de Lynch qui représente une des premières cause de cancer colorectal héréditaire touchant exclusivement l'adulte (14).

- Système de réparation NER (Nucleotide Excision Repair)

Il s'agit d'un système de réparation de mutations induites par des carcinogènes environnementaux (UV, carcinogènes chimiques). L'altération constitutionnelle des gènes du système excision-resynthèse prédispose à des maladies caractérisées par une hypersensibilité aux rayonnements UV (14).

6. Mécanismes moléculaires de l'oncogénèse

a. Apoptose

Le cancer résulte d'un défaut de mort cellulaire des cellules transformées par inhibition de l'apoptose. L'index apoptotique (AI) est corrélé à un grade élevé, à une aneuploïdie, à un index mitotique élevé, à une phase S élevée, à des récepteurs hormonaux négatifs, à une surexpression de p53 mutée (14).

b. Télomérase

Les télomérases sont responsables du pouvoir prolifératif indéfini des cellules tumorales. Une activité télomérase est retrouvée dans 85 % des cancers humains. L'activité télomérase est absente dans la majorité des lignées cellulaires, à l'exception des lignées tumorales et de lignées à capacité mitotique constante (14).

c. Néoangiogenèse tumorale

Le processus de néoangiogenèse résulte d'un déséquilibre entre facteurs proangiogéniques et facteurs antiangiogéniques (14).

7. La génétique du cancer

Le cancer est une **maladie génétique somatique**, dans la mesure où la cellule cancéreuse présente de multiples anomalies génétiques correspondant à l'activation ou l'inactivation d'une série de gènes. C'est l'accumulation de ces anomalies, qui est responsable de la prolifération cancéreuse.

Les cancers eux-mêmes ne sont pas hérités, puisqu'ils intéressent des cellules somatiques et non la lignée germinale. Pourtant, à côté des cancers sporadiques, qui sont de loin les plus fréquents, il y a des cas de cancers qui tendent à apparaître de manière récurrente au sein d'une même famille de façon héréditaire (15).

Chapitre II : Le cancer colorectal

1. Épidémiologie

Le cancer du côlon est le 3ème type de cancer le plus répandu dans le monde. L'incidence de ce cancer est largement plus élevée dans les pays développés que dans les pays en voie de développement (1). Chaque année dans le monde, près d'un million de personnes développent un cancer colorectal et environ 655 000 personnes décèdent des suites de ce cancer. Ces données en font la seconde cause de décès dû au cancer dans le monde (16). Il représente 23% parmi les cancers digestifs (l'œsophage, l'estomac, le pancréas, le foie et les voies biliaires, le colon et le rectum) soit un quart des cancers en Algérie : Il vient en deuxième position avec 8500 cas par an soit 4500 hommes après celui du poumon et 4000 femmes après celui du sein (17).

2. Histoire naturelle du CCR

L'épithélium intestinal est composé de cellules capables de proliférer de manière rapide et perpétuelle. Ainsi, l'épithélium est en constant renouvellement. Selon le modèle des cellules souches cancéreuses, les tumeurs malignes seraient issues d'une petite population de cellules cancéreuses capables d'auto-renouvellement et de pluri-potentialité et capables de l'initiation et du maintien de la croissance tumorale (18).

3. Rappel anatomique

Le côlon, ou gros intestin, s'interpose entre grêle et rectum. Il comporte principalement deux portions : le côlon droit, et le côlon gauche. Il dessine un cadre dans la cavité abdominale et, dans ses différents segments, entre ainsi successivement en rapport avec la presque totalité des viscères intra-abdominaux. On distingue les segments coliques accolés (ascendant et descendant) des segments mobiles (transverse et sigmoïde) (19).

Chapitre II : Le cancer colorectal

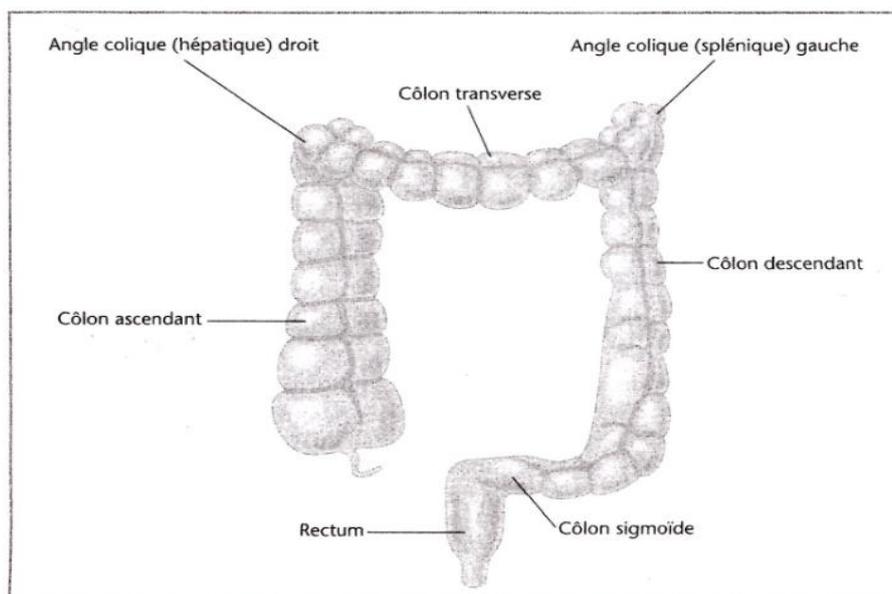


Figure 2: représentation schématique du colon humain. (Gallot, D. 2006).

La paroi colique est constituée de 4 couches reliées entre elles par un tissu. Chacune de ces couches est capable de fonctionner indépendamment des autres et sont ; de la lumière vers la périphérie ; la muqueuse, une couche intermédiaire la sous muqueuse, une couche constituée de muscles lisses innervés, la musculueuse et une couche externe, la séreuse.

La muqueuse est composée d'un épithélium de revêtement reposant sur un tissu conjonctif, le chorion. Cet épithélium est composé de cellules épithéliales jointives qui assurent l'étanchéité de l'organe (21).

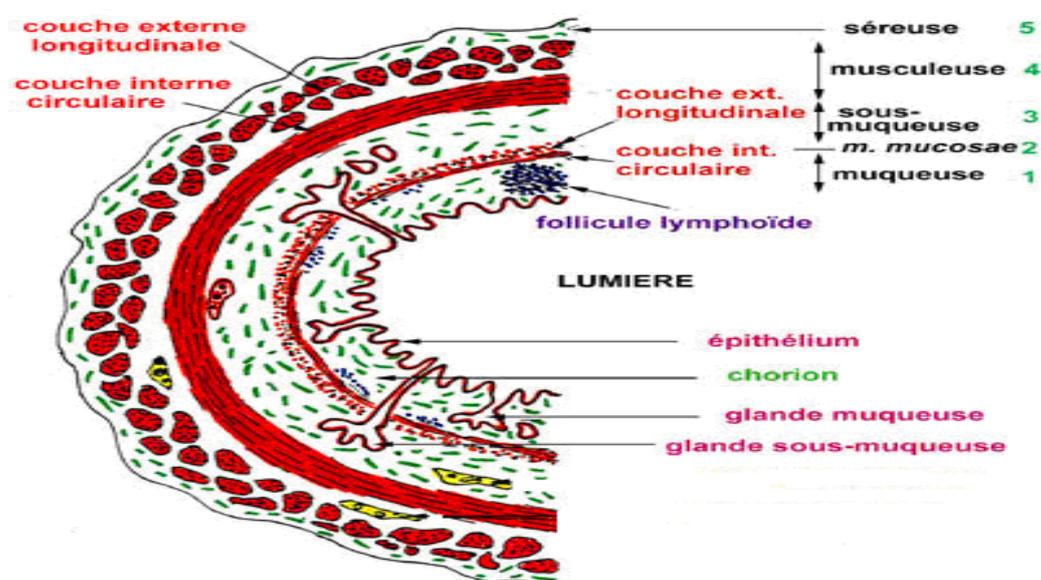


Figure 3: Structure de la paroi colique (Parkin DM et al.1992).

Chapitre II : Le cancer colorectal

Le renouvellement de l'épithélium colique se fait au niveau d'invaginations appelées cryptes de Lieberkühn (**Fig.4, Fig.5**). Elles sont composées de plusieurs types cellulaires qui se distinguent de par leurs fonctions et leur stade de différenciation : les entérocytes, les cellules entéroendocrines, et les cellules de Goblet, productrices du mucus (23).

4. Les tumeurs bénignes du colon

a. Foyer de cryptes aberrantes

La première étape du développement du CCR est l'apparition d'une hyperprolifération de l'épithélium colique. Au plan morphologique, la première anomalie décelable est le foyer de cryptes aberrante (FCA) (24).

b. Les adénomes (les polypes)

Les adénomes sont des lésions néoplasiques qui peuvent évoluer vers un carcinome. Ils peuvent être classés selon deux critères : l'histologie et le degré de dysplasie. La plupart des CCR sont des adénocarcinomes et se développent à partir d'un adénome et on estime que 5% des adénomes progressent vers un cancer (25). La durée de la séquence « adénome-carcinome » est en moyenne de 10 à 15 ans.

i. les polypes non épithéliaux

Ils peuvent être de type inflammatoire par prolapsus de la muqueuse, souvent de localisation sigmoïdienne ou rectale, ou correspondre à une tumeur mésenchymateuse qui soulève la muqueuse, comme par exemple un lipome, un léiomyome, une tumeur stromale intestinale (26).

ii. Les polypes épithéliaux

Ils sont classiquement divisés en polypes adénomateux et non adénomateux.

1. Les polypes non adénomateux(Hamartomateux)

Le plus fréquent des polypes non adénomateux est le polype hyperplasique de prolifération épithéliale bénigne de petite taille (moins de 1 cm), il siège le plus souvent au niveau du colon sigmoïde et du rectum. Certains polypes hyperplasiques sont de plus grande taille (plus de 1 cm) siégeant au niveau du colon droit.

Chapitre II : Le cancer colorectal

2. Les polypes adénomateux

Les adénomes coliques sont des proliférations intra-épithéliales de cellules néoplasiques, ce qui signifie que tout adénome comporte de la dysplasie. La taille des adénomes varie d'un millimètre à plusieurs centimètres.

Ces adénomes se présentent dans plus de 90% des cas sous forme de polypes (27).

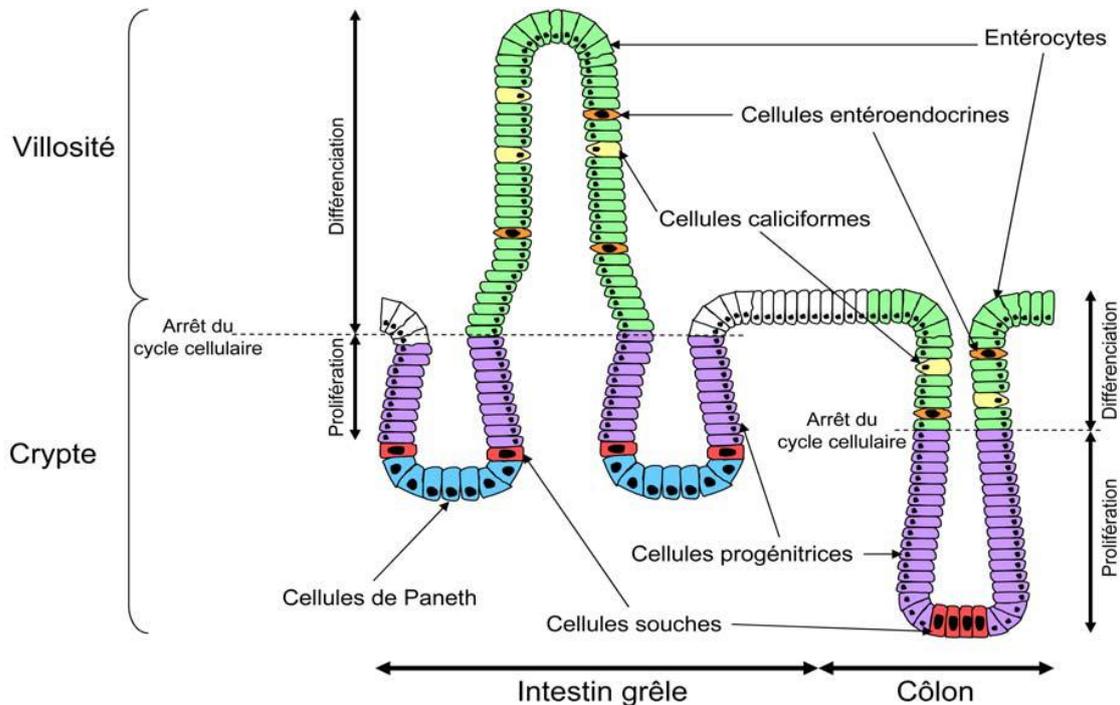


Figure 4: Structure de l'épithélium intestinal (Sancho *et al.*, 2004).

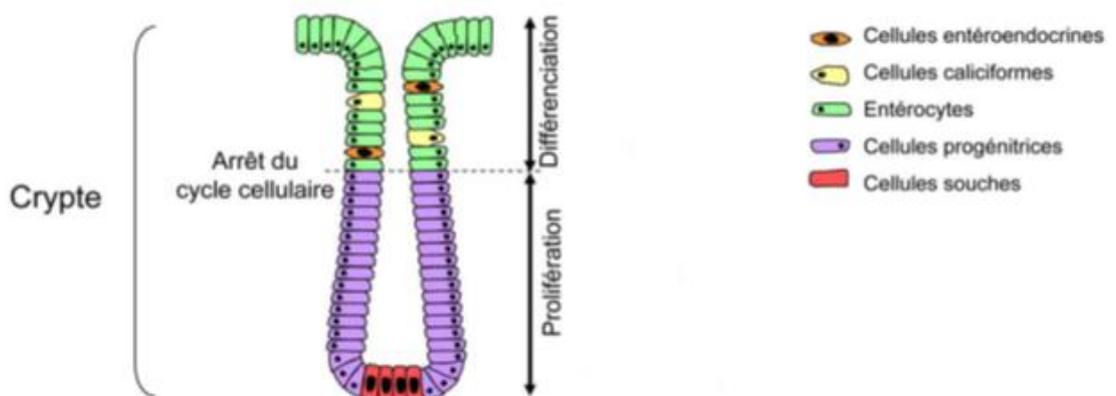


Figure 5: crypte « Glande de Lieberkühn » (Guillaume Ch .2008).

Chapitre II : Le cancer colorectal

5. Facteurs de risque

a. Facteurs alimentaires

Les régimes riches en graisses animales et en cholestérol et pauvres en fibres végétales favoriseraient le cancer colique. En stimulant la prolifération de l'épithélium colique. La consommation de légumes, les fibres, l'huile d'olive diminuerait le risque de cancer colique. De même que le calcium et la vitamine C (22).

b. Facteurs liés l'environnement

Ils sont suggérés devant par la prédominance de l'affection dans les pays occidentaux : Europe, états Unis d'Amérique, alors qu'elle est rare en Afrique (22).

c. Tabagisme

Il a été démontré que le risque de développer un cancer colique ou rectal est accru chez les hommes ayant fumé de 30 à 40 paquets -année et chez les femmes au-delà de 45 paquets-année (22).

d. Sédentarité

Selon une analyse des recherches, 13 % des cancers du côlon pourraient être attribués à un mode de vie sédentaire. Une activité physique régulière divise par 3 le risque de développer un cancer colique (22).

e. Manque de fer

L'anémie résultant d'une déficience en fer accroît le risque de développer ce type de cancer (22).

f. Alcool

Différentes études ont établi un lien entre la consommation d'alcool et le cancer du côlon. Deux consommations d'alcool ou plus par jour augmenteraient le risque pour les hommes; ce qui équivaut, pour les femmes, à une consommation ou plus (22).

g. Sucre

Selon des études préliminaires, la consommation de sucre et d'aliments qui en contiennent augmente le risque du cancer du côlon. Il ne faut pas négliger la grande quantité de sucre caché que contiennent les aliments industriels, que l'on retrouve sous les appellations dextrose, lactose, fructose, sirop de malt, sirop de maïs, etc. (22)

Chapitre II : Le cancer colorectal

h. Les maladies inflammatoires

i. Rectolite ulcéro-hémorragique « Colite Ulcéreuse »

Le risque diffère fortement en fonction de l'étendue de la rectocolite ulcéro-hémorragique(RCH), de son ancienneté et de l'âge au moment du diagnostic. Par rapport à un sujet de la population générale, une étude de 1990 proposait que le risque de survenue d'un cancer colorectal soit multiplié par 14,8 en cas de pancolite et par 2,8 en cas d'atteinte limitée au côlon gauche (30).

ii. Maladie de Crohn

Le risque de développer le cancer du côlon lié à la maladie de Crohn reste encore discuté. Il semble en fait que les sujets ne sont à risque élevé que si la maladie de Crohn est étendue et diagnostiquée avant 30 ans (31).

6. Le cancer colorectal « Adénocarcinome »

Le cancer se développe au niveau de la muqueuse du colon ou du rectum. Les deux cancers étant assez semblables ils sont regroupés sous le terme de cancer colorectal (CCR). Le cancer du côlon est le plus souvent un adénocarcinome, développé aux dépens de l'épithélium des glandes de Lieberkühn. Ces adénocarcinomes surviennent généralement après La transformation maligne d'un polype adénomateux préexistant (22).

7. Filiation Adénome-Cancer

A l'épithélium normal, succède une hyperprolifération épithéliale qui se traduit sur le plan morphologique par un foyer des cryptes aberrantes adénomateux caractérisé par la présence de lésions de dysplasies. Cette prolifération de cellules épithéliales immatures incapable d'envahir le chorion, tend à s'accumuler dans et au dessus de la muqueuse aboutissant à la formation d'un polype adénomateux. Il s'agit d'une véritable lésion néoplasique qui correspond déjà à l'expansion clonale de cellules mutées (32).

Chapitre II : Le cancer colorectal

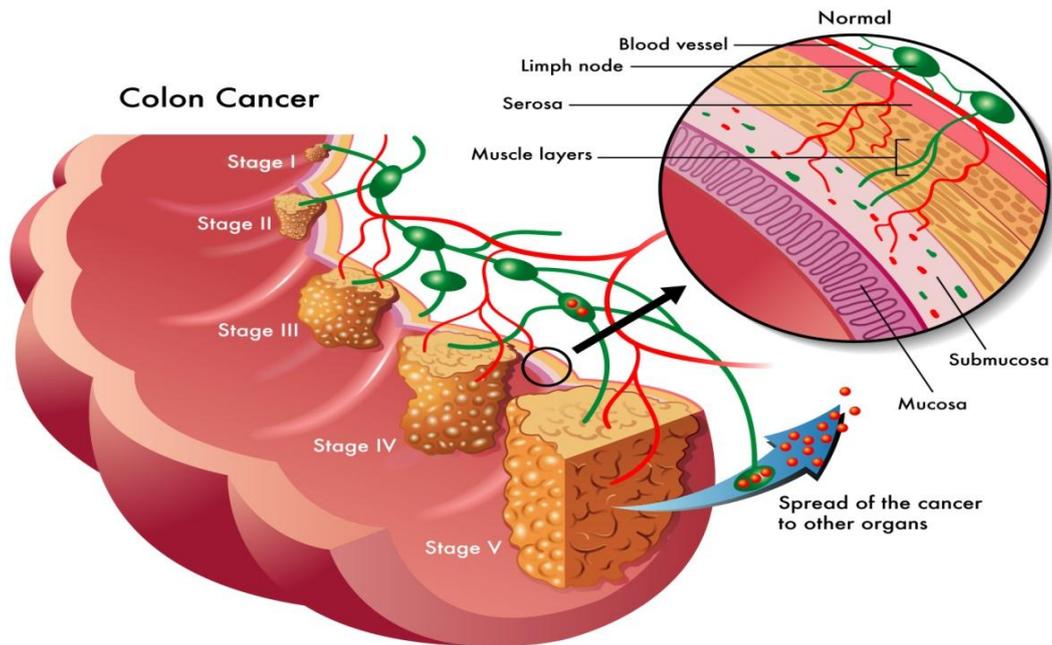


Figure 6: Evolution du CCR (33).

8. Les différents types de cancers du côlon

Dans 5-10% des cas, les cancers du côlon sont d'origine héréditaire. Les principaux syndromes de prédisposition aux cancers du côlon sont la polypose adénomateuse familiale (FAP), le cancer colorectal héréditaire sans polypose (HNPCC) et le syndrome de polypose juvénile (JPS) (34).

La FAP est due à des mutations du gène suppresseur de tumeur *adenomatous polyposis coli (APC)* conduisant à une inactivation du produit du gène.

Dans le HNPCC, ce sont les mutations de gènes de réparation de l'ADN (*MSH2*, *MLH1*) qui sont impliquées (35). Et pour les JPS, des mutations de *SMAD4* ont été mises en évidence dans un tiers des cas (32).

Les cancers du côlon sont donc sporadiques dans 88-94% des cas. Cependant, il est important de souligner que dans certains cas, le fait d'avoir un membre de sa famille déjà atteint augmente le risque de développer la maladie. Cela semble indiquer qu'une origine génétique puisse exister. Ces cas sont évalués à 20% au minimum des cas de cancers sporadiques (34).

Chapitre II : Le cancer colorectal

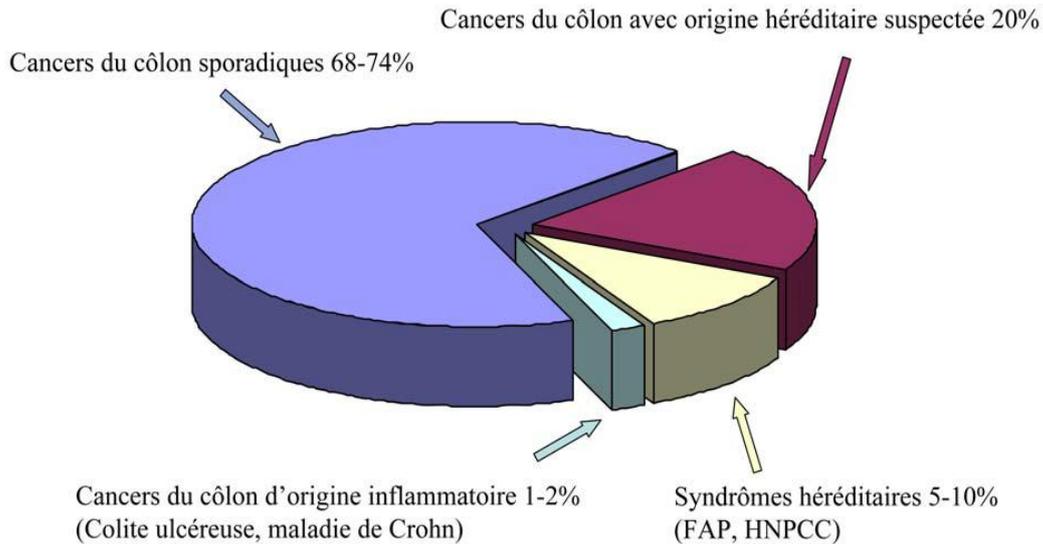


Figure 7: Répartition des différents types de cancers du côlon (Weitz, J. et al. 2005).

a. Les CCR Sporadiques

Par opposition aux formes familiales, il existe les formes sporadiques (soit 85% des cas) qui ont un phénotype d'instabilité chromosomique et qui sont caractérisées par une apparition nettement plus tardive. Ces formes sporadiques sont peu fréquentes avant 50 ans et augmentent après 60 ans. Dans les cancers sporadiques, certaines mutations caractéristiques de cancers colorectaux familiaux peuvent être retrouvées ; par exemple, APC est muté dans 70% des cancers sporadiques (36).

b. Formes héréditaires du cancer Colorectal

i. Syndrome de Lynch « HNPCC »

Il est responsable d'environ 2-4% des CCR (37). Le SL est une maladie génétique du cancer colorectal. Les gènes impliqués sont des gènes de la famille de réparation des mésappariements Mis Match Repair « MMR ». Cette famille comprend une vaste gamme de gène dont homologue Mut L humain 1 (*MLH1*), ségrégation post-méiotique humain 1 et 2 (*PMS2* et *PMS1*) ainsi que homologue Mut S humain 2,3 et 6 (*MSH2*, *MSH3*, *MSH6*) en font partie. Des mutations dans ces gènes sont également responsables du phénomène d'instabilité des microsatellites qui est présent dans 15% des tumeurs du colon sporadiques et dans plus de 90% des cas de syndromes de Lynch (38).

C'est un syndrome de transmission autosomique dominante. Les mutations sur *hMLH1* et *hMSH2* représentent environ 90% des SL, *hMHS6* environ 10% et *hPMS2* est rarement trouvée mutée (39). Les mutations doivent être bialléliques afin

Chapitre II : Le cancer colorectal

d'inactiver ces gènes suppresseurs de tumeur. La première est héritée et la deuxième est acquise. La mutation biallélique d'un des gènes du système MMR entraîne l'accumulation de mutations somatiques dans différents gènes impliqués dans le CCR.

ii. Polypose Adénomateuse Familiale « PAF »

La PAF est une des formes familiales les moins fréquentes, moins de 1% des cas de carcinomes colorectaux. La manifestation la plus importante de ce syndrome est d'apparition dès l'enfance à un âge précoce de 35-40 ans, dans le colon et le rectum, d'une multitude de polypes adénomateux (d'une centaine à plus d'un millier) (40).

La PAF est un syndrome de transmission autosomique dominante avec une pénétrance de 100%. Son apparition est consécutive à une mutation congénitale sur le gène APC. Constitué de 15 exons avec une séquence de 8972 pb codant pour une protéine de 2857 acides aminés (41). Les mutations congénitales d'APC sont le plus souvent des mutations ponctuelles (42). Les mutations *de novo* d'APC sont responsables d'environ 20 à 25% des cas de PAF (43). Les mosaïques germinales sont également une explication de PAF *de novo* dans 20% des cas (44).

iii. Polypose adénomateuse familiale atténuée

La forme atténuée de PAF est le phénotype variant le plus courant de polypose. Elle se distingue de la forme classique par un nombre plus faible de polypes (inférieur à 100), mais garde intact son potentiel de transformation en cancer colorectal. Cette forme sévère, soit un âge d'apparition de 50 ans (40). Le phénotype atténuée était lié à la présence d'une mutation sur certaines régions d'APC : l'extrémité 5', l'extrémité 3' et l'exon 9 (45)(46)(47).

iv. Polypose liée à MUTYH

Cette polypose est appelée polypose associée à MUTYH (MAP pour MUTYH associated polyposis), représente entre 0.5% et 1% de la totalité des CCR (48) (49). Les polypes observés sont moyennement dysplasiques, localisés préférentiellement dans le colon gauche (50) (51).

Le syndrome MAP est de transmission autosomique récessive avec mutation biallélique des allèles de MUTYH à la naissance. L'absence d'activité de MUTYH (un gène qui appartient au système de réparation de l'ADN BER « Base Excision Repair » dont le rôle est de corriger les erreurs liées au métabolisme aérobie des cellules lors de la réplication va entraîner l'accumulation de transversion GC → TA sur le gène APC au niveau des séquences GAA (52). APC est touché avec prédilection

Chapitre II : Le cancer colorectal

car il présente 216 sites GAA où une telle transversion peut conduire à un codon stop (53) (54). Ce sont ces transversions qui vont finir par inactiver somatiquement *APC* conduisant à l'apparition de polypes puis de CCR. La similitude des symptômes entre la PAF et le syndrome MAP vient de l'atteinte commune d'*APC* de manière germinale et somatique pour la PAF et purement acquise pour le syndrome MAP.

9. Cancérologie colorectale

a. Généralités

L'évolution des cellules épithéliales normales en adénome bénin puis en carcinome malin suit un processus multi-étapes impliquant des altérations génétiques et épigénétiques (55). Ces altérations sont la conséquence d'évènements germinaux ou somatiques conférant à la cellule un avantage de croissance. D'un point de vue histologique, deux sortes de cryptes aberrantes existent : les cryptes hétéroplasiques associées aux muqueuses intestinales normales, qui seraient dues à une activation mutationnelle de l'oncogène *KRAS2* (56), et les cryptes dysplasiques liées à une augmentation de la progression des cancers par une inactivation bi-allélique du gène suppresseur de tumeur *APC* (56) (57).

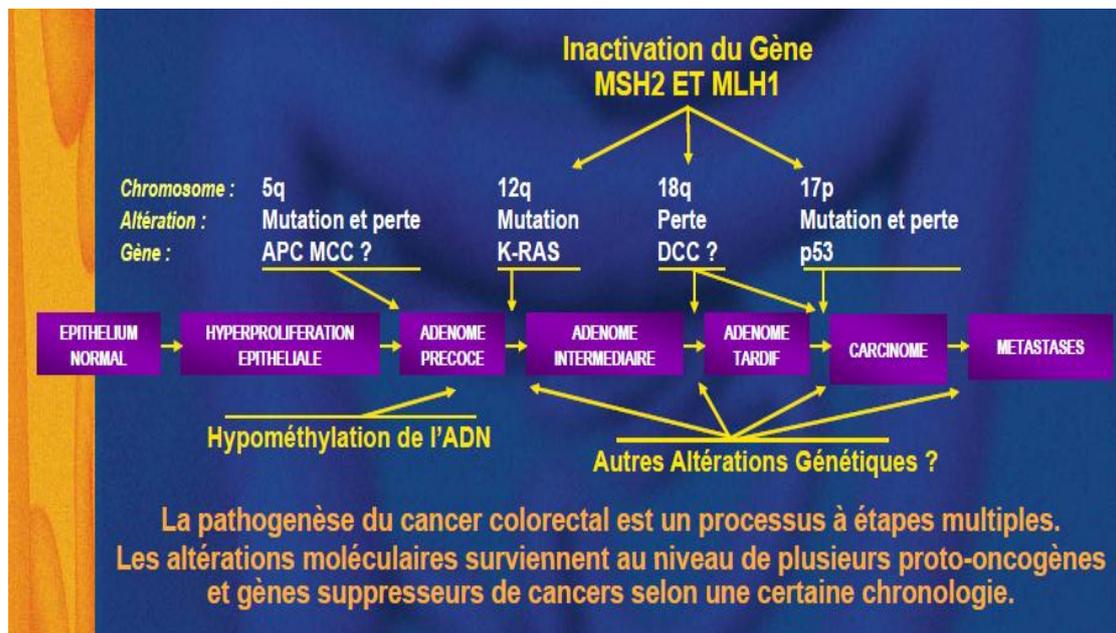


Figure 8: Cancérogenèse colorectale. (Fearon E.R, et al 1990)

Chapitre II : Le cancer colorectal

b. mécanismes moléculaires de la carcinogénèse

i. Instabilité chromosomique (phénotype CIN)

Elle rend compte d'environ 80% des cancers (59) et est caractérisée par des pertes alléliques sur les bras courts des chromosomes 8,17 et sur le bras long des chromosomes 18, 5 et 22. Ces anomalies sont le plus souvent associées à des mutations sur les gènes *APC* ou *TP53* qui entraînent une inactivation complète de ces gènes suppresseurs de tumeur. Il existe fréquemment une aneuploïdie cellulaire. L'origine de cette instabilité est encore mal connue, mais il a été montré que des mutations sur le gène *APC*, aboutissant à la formation d'un codon stop, peuvent favoriser la CIN. En effet une des fonctions de la protéine APC est de maintenir la polymérisation des microtubules du noyau cellulaire (60).

ii. Instabilité génétique (phénotype MSI)

Ce mécanisme est retrouvé dans environ 15% des CCR (59) et se caractérise par une instabilité des loccis microsatellites liée à un défaut de réparation des mésappariements de l'ADN, Ces séquences microsatellites sont très fréquentes dans l'ensemble du génome et sont particulièrement à risque d'être mal répliquées par l'ADN polymérase. Le système MMR peut être inactivé en cas de mutation germinale associée à une mutation somatique (Syndrome de Lynch) ou par méthylation du promoteur de *hMLH1* qui inactive sa transcription (forme sporadique). Contrairement aux tumeurs avec un phénotype CIN, les cellules MSI sont le plus souvent diploïdes et on retrouve moins fréquemment des mutations sur *APC* ou *TP53* (61). L'inactivation du système MMR conduit à l'accumulation de mutations secondaires qui vont inactiver de nombreux gènes aboutissant à la transformation de la cellule. Les gènes *BAX*, *TGFR2*, les facteurs de transcription TCF-4 ou E2F4 sont souvent retrouvés mutés dans les cancers MSI+ (62).

iii. Hyperméthylation de l'ADN (phénotype CIMP)

Des dinucléotides CpG regroupés en îlots sont retrouvés dans les régions promotrices pour la moitié des gènes. Ces îlots CpG peuvent inactiver un gène en empêchant sa transcription si leur cytosine est méthylée.

Chapitre II : Le cancer colorectal

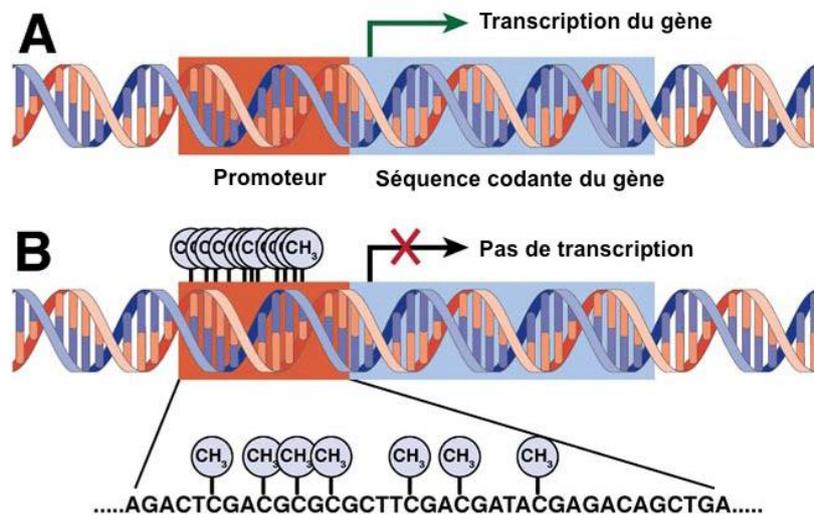


Figure 9: Mécanisme d'inactivation de la transcription (Leggett, B. et al. 2010)

L'hyperméthylation entraîne la désacétylation des histones ainsi qu'une condensation de la chromatine empêchant la transcription active du gène suppresseur de tumeur. (64). L'hyperméthylation des promoteurs est un phénomène très répandu dans le cancer colorectal. Plus d'une trentaine de gènes ont jusqu'à maintenant été identifiée comme étant porteur de cette abération épigénétique (65). Dans le CCR, plusieurs gènes suppresseurs de tumeurs peuvent ainsi être inactivés conduisant à ce phénotype CIMP (66).

c. Les voies de signalisation cellulaire

i. voie de signalisation WNT

La voie Wnt est une des voies de signalisation majeure dans le processus d'embryogenèse et de cancérogenèse (67).

Dans les cancers, la voie Wnt peut être activée en absence du ligand par la mutation de gènes codant pour les protéines de cette voie. Le plus souvent, il s'agit de l'inactivation par mutation du gène APC induisant la synthèse d'une protéine APC tronquée incapable d'interagir et de neutraliser la beta-caténine et/ou l'Axine. Mais dans 15% des tumeurs sporadiques ayant une protéine APC intacte, il peut aussi s'agir de mutations au niveau de séquences répétées du gène de l'Axine, celles activatrices, dans l'exon 3 du gène codant pour la beta-caténine (CTNNB1) au niveau des sites de phosphorylation (68).

Chapitre II : Le cancer colorectal

ii. voie de signalisation du TGF beta /SMAD

La superfamille du Tumor Growth Factor beta (TGF- β) comprend différents membres dont les BMPs (Bone Morphogenic Proteins), les activines et les TGF- β : ce sont des morphogènes dont le rôle est essentiel au cours de l'embryogenèse. Dans les CCR, une mutation inactivatrice du TGFBR2 est retrouvée dans la plupart des tumeurs de phénotype d'instabilité microsatellitaire « MIN » (90%), et dans 58% des tumeurs, une mutation sur le récepteur de type II de l'activine (ACVR2). Ces mutations sont beaucoup plus rares dans les tumeurs CIN (69).

iii. voie de signalisation Ras /MAPKinase

La cascade Ras/Raf/MEK/Erk (ou Ras/MAPK) transmet des signaux mitogènes via des récepteurs à tyrosine kinase comme EGFR ou VEGFR.

Cette voie est particulièrement importante pour la croissance et la prolifération des cellules tumorales mais également pour l'induction de signaux pro-angiogéniques (70). Dans les CC, les mutations de KRAS (codons 12,13 et plus rarement 61) entraînent l'activation constitutive de la voie et sont retrouvées dans 50% des tumeurs de phénotype d'instabilité micro-satellitaire « MIN ». L'activation de la voie RAS/MAPK peut également être associée à une surexpression de récepteurs de facteurs de croissance, comme l'EGFR, surexprimé dans 30 à 70% des CCR (71).

10. Les stades de cancer colorectal selon la classification TNM

Cette classification s'applique uniquement aux carcinomes. La maladie doit être confirmée histologiquement. La définition des catégories T (tumeur), N (Adénopathies régionales) et M (métastase) repose sur l'examen clinique, l'imagerie, l'endoscopie et/ou l'exploration chirurgicale (72) (Annexe 7, Tableau 8 et 9).

11. Le traitement

• La chirurgie

- La chirurgie est le traitement principal du cancer du côlon. A un stade précoce de la maladie, elle est décisive pour la guérison (73).

• La chimiothérapie

La chimiothérapie repose sur l'emploi de médicaments qui empêchent la prolifération des cellules en bloquant leur multiplication: les cytostatiques. Malheureusement, les cellules normales à croissance rapide sont également affectées (les cellules de la

Chapitre II : Le cancer colorectal

moelle osseuse, les cellules des cheveux, ainsi que les cellules sexuelles (spermatozoïdes et ovules) (73).

- **La radiothérapie**

La radiothérapie repose sur l'utilisation de faisceaux de particules à haute énergie utilisés pour endommager les cellules cancéreuses et détruire les tumeurs ou réduire leur volume. Le traitement est local puisqu'on dirige les rayons directement sur la tumeur. Les tissus sains sont toutefois aussi touchés. Les lésions qu'ils subissent sont la source des effets indésirables (73).

Chapitre III : L'apolipoprotéine E et le Cancer Colorectal

1. Apolipoprotéine E :

L'apolipoprotéine E est une protéine de 299 acides aminés, de poids moléculaire apparent de 34 kDa, qui se présente sous trois formes majeures E2, E3 et E4. Elles se distinguent par la présence d'un résidu de cystéine ou d'arginine aux acides aminés 112 et 158. L'apolipoprotéine E (apo E) est une protéine ubiquitaire, jouant un rôle dans le transport du cholestérol et des phospholipides, et dans le catabolisme des lipoprotéines riches en triglycérides et cholestérol ainsi elle a un rôle antioxydant et anti inflammatoire (74).

Le gène APOE était surtout connu pour son implication dans les pathologies artérielles. L'apo E est un des composants des lipoprotéines. Elle est un des constituants des VLDL (Very Low Density Lipoprotein) dont la fonction première est le transport des triglycérides du foie vers les tissus périphériques, des HDL (High Density Lipoprotein) qui participent à la redistribution du cholestérol des cellules, et des chylomicrons, d'origine intestinale, qui transportent les triglycérides et le cholestérol alimentaire (74).

L'apolipoprotéine est liée à plusieurs maladies comme L'hyperlipoprotéïnémie de type III, les maladies ischémiques cardiaques, la resténose, les accidents vasculaires cérébraux et, plus récemment, elle fait objet de recherches dans son implication dans la maladie d'Alzheimer et la formation des calculs biliaires de cholestérol. Ainsi que l'adénome et le carcinome du côlon (75).

2. Le gène de l'apo E et son polymorphisme :

Le gène de l'apo E est situé à l'extrémité centromérique, sur le chromosome 19, dans région q13.2

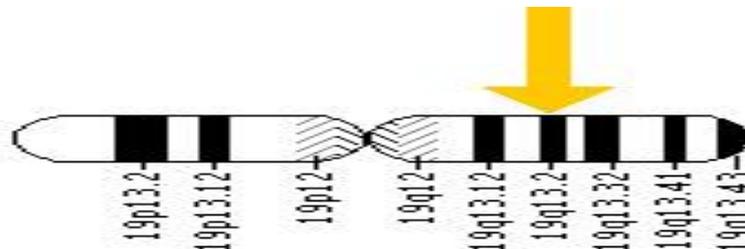


Figure 10 : Localisation cytogénétique du gène de l'apo E sur le chromosome 19 (Ki paik., David J.et al).

Ce gène de 3,7 kb comporte quatre exons et trois introns. Le premier exon est non codant, le deuxième exon code pour un peptide signal, le troisième exon pour les 61 premiers acides aminés et le quatrième pour l'essentiel de la protéine mature. L'ARNm a une longueur de 1163 paires de base. (74)

Chapitre III : L'apolipoprotéine E et le Cancer Colorectal

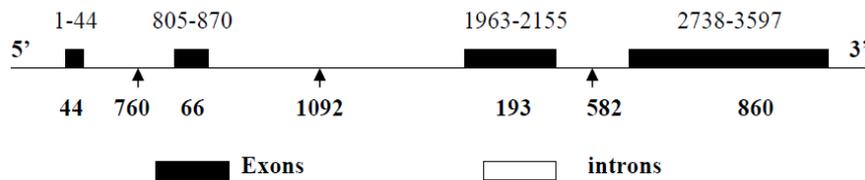


Figure 11 : Positions exons –introns dans le gène d'apo E. (Ki paik., David J.et al 1985)

La particularité de l'ApoE humaine est qu'elle existe sous trois formes : les allèles E2 (112Cys/158Cys), E3 (112Cys/158Arg) et E4 (112Arg/158Arg). Les fréquences des allèles sont respectivement 78.3%, 2.2% et 19.6% dans la population. Ces trois allèles peuvent donner six génotypes: trois génotypes homozygotes (E2/E2, E3/E3, E4/E4) et trois génotypes hétérozygotes (E3/E2, E3/E4, E2/E4). Le génotype E3/E3 est le plus courant (env. 60%), « type sauvage » (74).

L' ApoE3 comporte un résidu cystéine en position 112 et une arginine en position 158. Les deux allèles E2 et E4 diffèrent de E3 par la substitution de la cystéine 112 par une arginine pour l'allèle E4 et de l'arginine 158 par une cystéine pour l'allèle E2. Ces mutations (Arg = CGC → Cys = TGC) entraînent un polymorphisme de longueur des fragments de restriction lors d'une digestion de l'ADN de l'exon 4 du gène de l'Apo E par l'enzyme HhaI (74).

La présence des deux sites identifie l'allèle E4 et leur absence l'allèle E2. Dans l'allèle normal (E3) le site HhaI coupe l'ADND en 158 mais pas en 112 . Ces substitutions d'acide aminé engendrent une différence de fonctionnalité des trois allèles notamment dans leur capacité à se lier aux récepteurs et aux particules lipidiques (74).

L'allèle E4 du gène de l'ApoE augmente le risque de développer la maladie d'Alzheimer, les individus qui héritent une seul copie de l'allèle E4 ont un risque moyen de développer cette maladie, quant a ceux qui héritent les deux copies de l'allèle E4 ont un risque élevée de développer la maladie. L'allèle E4 est aussi associé à une perte de mémoire et autres symptômes (75).

L'allèle E2 du gène de l'ApoE est grandement impliqué dans le risque de développer une maladie rare qui est l' hyperlipoproteinemia de type III. La majorité des individus ayant cette maladie ont deux copies de l'allèle E2, c'est ce qui a permis aux chercheurs de conclure que l'allèle E2 Est liée avec cette maladie (75).

Les allèles de l'Apo E présentent des substitutions aux positions 112 et 158 qui induisent des changements de point isoélectrique (Apo E2 pI=5,5; Apo E3 pI=5,4; Apo E4 pI=5,3) ; ce qui rend possible leur détection par électrophorèse (75).

Chapitre III : L'apolipoprotéine E et le Cancer Colorectal

3. La protéine apo E et ses modifications post-traductionnelles

L'apo E est clivée par une peptidase pour les 18 acides aminés composant le peptide signal, lors du passage à travers la membrane du réticulum endoplasmique. L'apo E intracellulaire subit des O-glycosylations, accompagnée de sialylation. La glycosylation, qui s'accompagne généralement d'une sialylation, a lieu à un seul site de l'apo E, à la thréonine 194. La protéine est ensuite sécrétée et désialylée extracellulairement. 90 % de l'apo E plasmatique est désialylée. L'apo E mature sécrété est une protéine de poids moléculaire apparent de 34 kDa (299 acides aminés) (77).

4. Rôle de l'Apo E :

L'apo E joue un rôle clairement établi dans le transport des lipides, mais il est probable qu'elle joue d'autres rôles notamment au niveau du système nerveux. L'intervention de l'apo E dans la régénération du système nerveux ne semble pas limitée à son rôle de transporteur du cholestérol; l'apo E peut également jouer un rôle dans la croissance neuritique, la toxicité neuronale ou la stabilisation du cytosquelette neuronal (77).

L'Apo E intervient activement dans le phénomène de transport à rebours du cholestérol vers le foie en entrant dans la constitution de 1 à 2 % des HDL. Elle représente un ligand spécifique du récepteur de l'Apo E exclusivement hépatique, qui interagit avec les lipoprotéines contenant l'Apo E en vue de leur catabolisme (77).

- Réparation neuronale : L'apo E serait impliqué dans la réparation, la croissance et le maintien de la myéline pendant le développement et après agression dans le système nerveux.

- Toxicité : L'étude de l'apo E, en tant qu'inhibiteur de prolifération cellulaire des lymphocytes T a permis d'envisager un rôle toxique de l'apo E (77).

Plusieurs fonctions peuvent être également décrites pour l'Apo E, cette molécule polymorphe et pléiotrope a permis d'apprécier l'effet modulateur puissant d'un gène et de dévoiler les mécanismes qui expliquent l'expression de maladies répandues comme l'athérosclérose et l'Alzheimer et d'autres pathologies moins fréquentes (77).

5. Distribution tissulaire :

L'apo-E est présente dans les organes où le cholestérol joue un rôle important, car elle sert à la captation cellulaire de cholestérol, à son transport et à sa redistribution à l'intérieur de cet organe. L'apo E est synthétisé par de nombreux tissus. Des quantités

Chapitre III : L'apolipoprotéine E et le Cancer Colorectal

importantes d'ARNm d'apo E ont été détectées dans le foie, le cerveau, les poumons, les reins, les ovaires... La source majeure de production d'apo E est le foie: il serait à l'origine des 2/3, voire des 3/4 de l'apo E plasmatique. Le second site de production de l'apo E est le cerveau (environ 1/3 de l'apo E du foie). Elle est aussi présente de façon notable dans le liquide céphalo-rachidien. L'apo E est la principale apolipoprotéine du système nerveux (77).

6. Impact du polymorphisme de l'Apo E sur le métabolisme des Lipoprotéines :

Plusieurs auteurs ont révélé la capacité qu'avait l'Apo E à déterminer la destinée métabolique des lipoprotéines. Cette capacité touchait en particulier les lipoprotéines riches en TG et en cholestérol et qualifiées de résidus de chylomicrons et de VLDL correspondant à la fraction lipoprotéinique de densité intermédiaire (IDL) (78).

La conversion des résidus de VLDL en LDL est également réduite chez les individus porteurs de l'allèle E2. Les déficiences se traduisent par une augmentation des chylomicrons et des résidus de VLDL dans le plasma, ce qui a pour effet d'induire une augmentation du nombre de récepteurs, d'où un taux plus bas de cholestérol et de LDL-C plasmatiques, et un taux plus élevé des TG que chez les individus (E3/E3). Si les individus sont porteurs de l'allèle E4 (E4/E4, E4/E3), les caractéristiques sont alors à l'inverse des individus porteurs de l'allèle E2. Le nombre de récepteurs B/E se trouve ainsi diminué, d'où des niveaux plus élevés de cholestérol et LDL par rapport à ceux portant l'allèle E3 (E3/E3) (79).

La variation de répartition de l'Apo E dans les lipoprotéines en fonction de l'isoforme d'autre part, associée à une différence d'affinité pour les récepteurs d'autre part, pourrait expliquer les différences des concentrations plasmatiques moyennes en LDL que l'on trouve chez les sujets 3/2 qui ont la plus faible concentration plasmatique, les sujets 4/3 et les sujets 4/4 qui ont la plus forte concentration plasmatique (80).

7. Le polymorphisme de l'apo E et le cancer colorectal :

L'apolipoprotéine E (apoE) joue un rôle majeur dans le métabolisme des acides biliaires, le cholestérol et les triglycérides, en agissant comme un ligand de liaison au récepteur, et a récemment été proposé comme étant impliqué dans le processus de cancérogenèse. Il a été montré pour être un inhibiteur puissant de la prolifération de plusieurs types cellulaires. Slattery, M. L. *et al.* ont suggéré que l'apoE peut être efficace dans la modulation de l'angiogenèse, la croissance des cellules tumorales et les métastases (80).

Chapitre III : L'apolipoprotéine E et le Cancer Colorectal

Le polymorphisme du gène de l'apolipoprotéine E est un facteur majeur dans le métabolisme des lipides. Il a été récemment reconnu que ce polymorphisme serait un facteur de risque potentiel pour le cancer colorectal, une étude a rapporté que l'allèle E4 de l'ApoE pourrait être un facteur de protection contre le cancer colorectal contrairement au génotype de l'allèle E2 et E3, qui augmenterait le risque de développer un carcinome du colon chez les sujets males (81).

L'ApoE peut influencer le développement du cancer colorectal au moyen de trois voies possibles : la régulation d'insuline, l'inflammation et le métabolisme des lipides.

La première voie est la régulation d'insuline qui implique des variantes de l'apoE qui ont été associés à des taux de lipides et de triglycérides et ont influencé la sensibilité à l'insuline. La deuxième voie à travers laquelle l'apoE pourrait surtout réguler le risque de cancer colorectal est une inflammation qui donne une association entre PPAR γ et la baisse des niveaux de protéines C-réactives en présence d'un allèle E4, la dernière voie possible est celle du métabolisme du cholestérol et des acides biliaires l'apoE peut influencer l'absorption du cholestérol luminal et le métabolisme des acides biliaires, il a été suggéré qu'avoir l'allèle E4 peut augmenter le risque de développer des calculs biliaires. La production des acides biliaires a été présumée avoir un rôle important dans l'étiologie du cancer colorectal ; les gens avec des calculs biliaires ont été démontrés dans quelques études pour avoir un plus gros risque de développer les tumeurs proximales du cancer colorectal (81).

Étant donné le rôle potentiel des acides biliaires dans l'étiologie du cancer colorectal, il est raisonnable que le risque de cancer colorectal puisse être modifié par le génotype apoE.

En effet Les porteurs de l'allèle $\epsilon 2$ avaient des taux plus bas de cholestérol et de LDL-C plasmatiques que les porteurs de l'allèle $\epsilon 3$ (phénotype E3/3). Inversement, l'allèle $\epsilon 4$ s'associait à des taux plus élevés de ces variables. Les études ont montré que l'effet de diminution de l'allèle $\epsilon 2$ était environ deux à trois fois plus grand que l'effet d'élévation de l'allèle $\epsilon 4$ sur le LDL-C (82).

Dans une étude brésilienne, on a trouvé que la présence du génotype $\epsilon 4/\epsilon 4$ seulement dans le groupe témoin, suggère son effet protecteur contre le CCR, ainsi l'analyse des composants principaux du profil lipidique a confirmé la présence de niveaux réduits de TC, LDL-C, VLDLC, et TG dans son ensemble dans le CCR par rapport

Chapitre III : L'apolipoprotéine E et le Cancer Colorectal

aux témoins, et suggère des altérations dans la synthèse des lipides et des voies métaboliques (82).

On suspecte un rôle des acides biliaires dans l'apparition du cancer: l'augmentation de la consommation de graisse entraîne une augmentation de l'excrétion d'acides biliaires qui aident à son assimilation. Les acides biliaires ainsi que leur précurseur cholestérol sont intimement associés à la digestion, à l'absorption et au métabolisme des lipides. Dans le côlon, ils sont très activement métabolisés par la flore en acides biliaires dits « secondaires » pour les distinguer des acides biliaires primaires synthétisés par le foie. Chez l'homme, les deux principaux acides biliaires secondaires sont les acides désoxycholique et lithocholique. L'idée d'une association entre acides biliaires secondaires et risque de cancer colorectal remonte au début de l'année 1997 et, depuis, un nombre considérable d'études sont venues conforter cette relation qui a fait l'objet de plusieurs revues. Brièvement, les acides biliaires les plus hydrophobes sont toujours considérés comme les plus cytotoxiques. Ce sont de puissants détergents qui peuvent altérer la perméabilité membranaire et permettre la diffusion de substances toxiques à l'intérieur des cellules épithéliales. Les acides lithocholique et désoxycholique sont considérés comme promoteurs de tumeurs colorectales. Ils sont inducteurs d'un stress oxydatif dans les cellules coliques (83).

Il est prouvé que les niveaux sériques de cholestérol total (TC) et de faible densité fraction du cholestérol des lipoprotéines (LDL-C) sont positivement corrélés avec l'apparition de CCR (82).

L'Apo E module la concentration des acides biliaires fécaux, des substances qui peuvent participer à la genèse du cancer colorectal adénocarcinomes, en particulier du côlon proximal, où ils sont en contact direct avec la membrane muqueuse. Dans ce cas, la présence de l'Apo E4 allèle est associée à des concentrations inférieures de ces acides dans le tractus gastro-intestinal, ce qui suggère son rôle protecteur contre CCR (80).

2^{ème} partie
Méthodologie

1- Patients

Populations étudiées

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

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

Population des malades

Ce groupe de patients comprend 25 malades des deux sexes atteints de cancer du colon et/ou du rectum, âgé de 20 à 70 ans, habitant l'Est Algérien.

Les témoins : population générale de référence, sujets sains des deux sexes (présumés en bonne santé) habitants à Constantine durant la période de l'étude et âgés de 20 à plus de 60 ans.

Critères d'inclusion des malades

Tous les patients admis au service chimiothérapie atteints de cancer du colon et/ou du rectum, en cours de traitements, patients en rémissions d'un CCR se présentant pour un contrôle et tous les patients récemment diagnostiqués pour un CCR et venus pour une consultation.

Critères d'exclusion :

Pour les malades :

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

2- Méthodes

1. Prélèvement sanguin

Le prélèvement sanguin préconisé pour l'extraction de l'ADN est recueilli stérilement dans un tube à EDTA en quantité de 5 à 10 ml, après consentement du patient. Les tubes portent des étiquettes avec les noms et prénoms des patients ainsi que la date du prélèvement.

2. Questionnaire et Enregistrements

2.1. Questionnaire

Un questionnaire a été réalisé afin d'enregistrer toutes les informations nécessaires à notre étude avec le malade lui-même et par la consultation de son dossier médicale (annexe 1).

2.2. Enregistrement

Les tubes de prélèvement sont étiquetés, numérotés et est mentionné dans un cahier d'enregistrement pour assurer la bonne démarche du travail.

3. Extraction de l'ADN

3.1. Principe

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

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

L'ADN nucléaire sera libéré des différentes protéines ainsi digérées et éliminées par précipitation au Na Cl. Le surnageant ainsi récupéré est traité par de l'éthanol pur, dans lequel une pelote de l'ADN se forme par précipitation à l'éthanol. L'ADN est solubilisé en phase aqueuse, sa pureté ainsi que sa concentration sont estimées par spectrophotométrie à UV. (Protocole en Annexe 2)

4. Génotypage de l'Apo E

Elle consiste à amplifier une partie de l'ADN contenant le gène Apo E, puis de différencier les génotypes par digestion d'une enzyme de restriction spécifique. La détermination du génotype a été effectuée en plusieurs étapes successives :

4.1. La PCR (Polymérase Chaîne Réaction)

La PCR est une technique de biologie moléculaire, mise au point en 1985 par Karry Mullis et développée par Henri A. Herlich et ses collaborateurs de la compagnie CETUS (Californie, USA).

4.1.1. Préparation du milieu réactionnel (mix) de PCR

Pour préparer le milieu réactionnel, multiplier la quantité de chaque composant par le nombre de tubes voulu + un. L'ADN est amplifié par PCR à l'aide des deux amorces encadrant la région comprenant les deux codons polymorphes des acides aminés 112 et 158 de l'Apo E (Annexe 3, Tableau 3).

Patients et Méthodes

4.1.2. Déroulement des cycles de la PCR

Chaque cycle de la PCR repose sur trois étapes indispensables : Dénaturation, hybridation et élongation (Annexe 3, Tableau 4).

4.1.3. Contrôle des produits de la PCR

Le Contrôle de La taille des fragments amplifiés s'effectue par une électrophorèse sur un gel d'agarose à 1.5 % additionné de 10 µl de BET (Bromure d'éthidium).

Dans chaque puits du gel, il est déposé :

- 15 µl de produit d'amplification + 2 µl BBP (Bleu de Bromophénol).

- 3 µl de marqueur de taille (PM 100pb LADDER, ref.018209) +10 µl H₂O +2µl BBP

Les dépôts se font du coté cathode (-). Le système soumis à une migration sous un courant de 90 à 120 volts pendant 30 min .Cette analyse permet aussi, d'observer si une éventuelle contamination de l'ADN est survenue au cours de la PCR.

Après la migration, le gel est soumis au rayon UV. Les molécules de Bromure d'Ethidium fixées aux ADN émettent une lumière visible et photographiable et permettent de visualiser les fragments amplifiés sous forme de bandes fluorescentes de même taille.

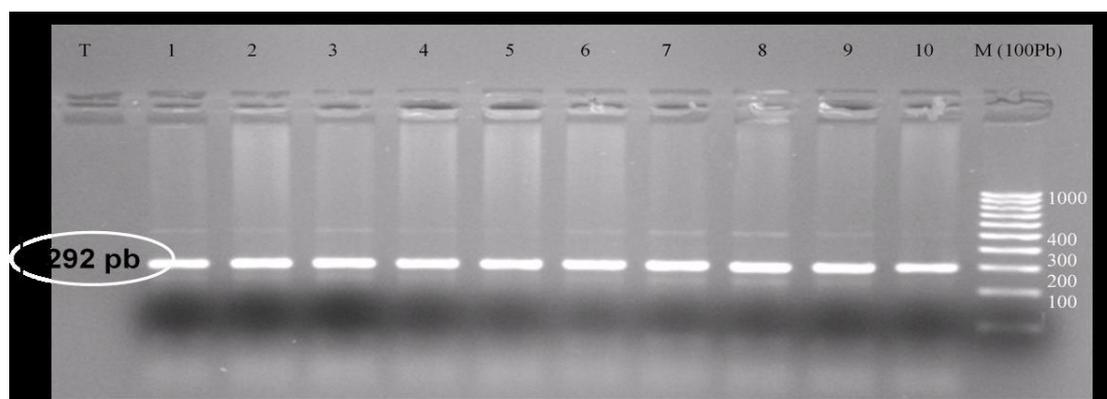


Figure 12: Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose 1.5% des fragments amplifiés (292pb) par PCR

4.2. Digestion des produits de PCR par l'enzyme de restriction HhaI

Préparer le milieu de digestion de l'enzyme HhaI pour le nombre de tubes voulu + 1 témoin (Annexe 6, Tableau 8).

Les produits de la PCR sont soumis à une digestion enzymatique par HhaI. Ils sont incubés pendant une nuit dans un bain marie à 37°C. Après incubation ils sont concentrés au speed -vac (System ISS 40-SAranta).

L'HhaI est une enzyme de restriction produite par Haemophilus haemolyticus. Elle reconnaît et clive la séquence GCG C codant pour les Arginines en position 112 et

Patients et Méthodes

4.2.1.3. Migration

Mettre sous tension le générateur à un voltage élevé soit 250 volts durant 1h 30 min à 2 h. La migration est terminée, quand le bleu atteint le bas du gel.

4.2.1.4. Coloration

Après préparation du colorant avec 100 ml de TBE 1X et 10 µl de BET dans un bac.

- Glisser délicatement le gel de façon horizontale dans le bac pendant 10 à 15 min.
- Décolorer le gel, en l'immergeant dans un bac contenant du TBE 1X de 10 à 15 min.
- Visualiser le gel aux UV et prendre une photo.

4.2.1.5. Révélation du profil électrophorétique

Le BET fluorescent aux UV s'est fixé sur l'ADN (cette molécule s'intercale entre les bases de la molécule d'ADN) et va permettre de visualiser les fragments de restriction dans le gel placé sur la table à UV.

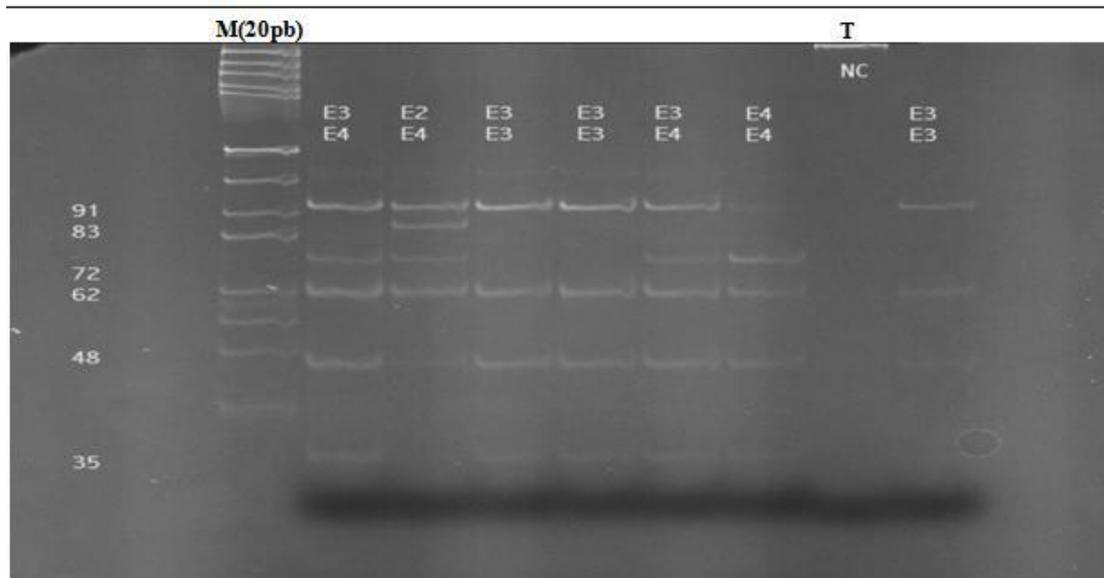


Figure 14: Profil d'électrophorèse sur gel d'acrylamide des fragments issus par clivage de HhaI E

4.2.2 Profils RFLP obtenus

Chacune des isoformes de l'Apo E se distingue par une combinaison unique de polymorphisme des longueurs de fragments de restriction (RFLP) issus par clivage de HhaI et possédant différentes tailles (Figure 15, tableau 2).

Chaque allèle a un site de coupure spécifique. L'allèle ϵ_2 (Cys112, Cys158) est caractérisé par l'absence de codon CGC de l'arginine 158, par conséquent la coupure donne un fragment de 83 pb spécifique de cet allèle et un fragment 91 pb encadrant le site 112.

Patients et Méthodes

L'allèle $\epsilon 4$ (Arg112, Arg158), se distingue par la présence du codon CGC en position 158, par conséquent, l'enzyme agit à ce niveau et libère deux segments d'ADN 48 et 35 pb, un fragment 72 pb issu de clivage à la position 112.

L'allèle $\epsilon 3$ (Cys112, Arg158), c'est l'allèle commun, se caractérise d'une part par la présence du fragment 91pb due à l'absence du codon CGC au position 112 retrouvé dans l'allèle $\epsilon 2$ et d'autre part par la présence des fragments 48 et 35 sont retrouvés également dans l'allèle $\epsilon 4$.

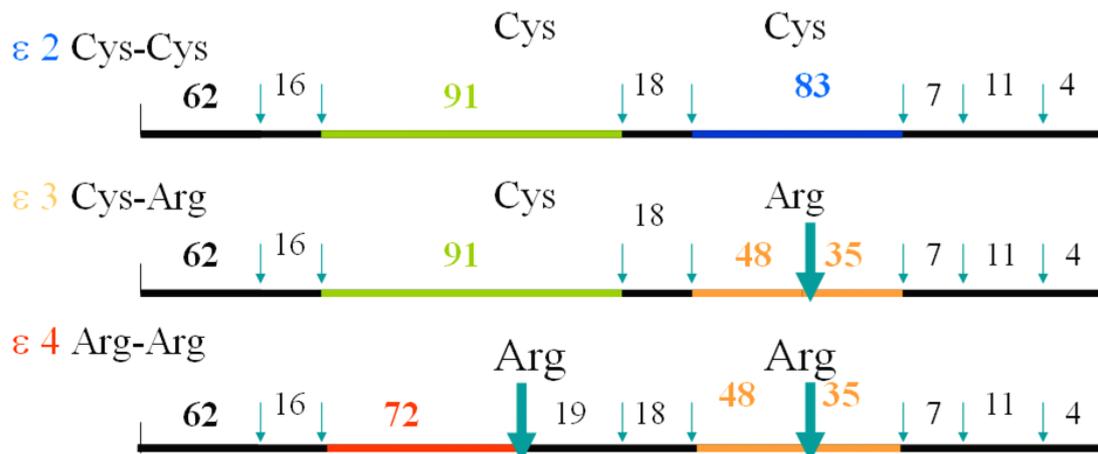


Figure 15 : Digestion par Hha I des trois allèles.

$\epsilon 3/\epsilon 3$	$\epsilon 3/\epsilon 4$	$\epsilon 3/\epsilon 2$	$\epsilon 4/\epsilon 4$	$\epsilon 4/\epsilon 2$	$\epsilon 2/\epsilon 2$
91	91	91		91	91
		83		83	83
	72		72	72	
62	62	62	62	62	62
48	48	48	48	48	
35	35	35	35	35	

Tableau 2: Tailles des fragments de restriction en (Pb) correspondants aux six géotypes possible

3^{ème} partie
Résultats et discussion

Résultats et Discussions

Nos résultats concernent une population de patients atteints du CCR, corrélés à un groupe des témoins supposés sains, en tenant compte de l'âge et du sexe.

1- Répartition des patients selon l'âge et le sexe :

• Les sujets témoins

Les sujets témoins sont au nombre de 25 répartis entre:

- 12 du sexe masculin soit 48%
- 13 du sexe féminin soit 52%

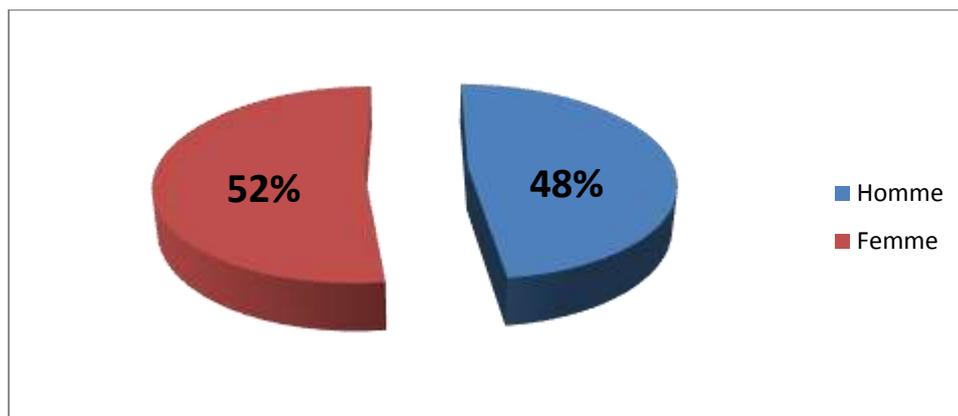


Figure 16: répartition des témoins selon le sexe

-Ils sont classés en tranches d'âge de 20 ans à plus de 60 ans. (Tableau2, Figure16)

Tableau 9: représente la répartition des sujets de référence selon l'âge et le sexe

Age	Homme		Femme		Total	
	n	%	n	%	n	%
] 20-30]	1	8.33	3	23.07	4	16
] 30-40]	1	8.33	2	15.38	3	12
] 40-50]	4	33.33	2	15.38	6	24
] 50-60]	5	41.67	4	30.76	9	36
>60	1	8.33	2	15.38	3	12
total	12	100	13	100	25	100

Résultats et Discussions

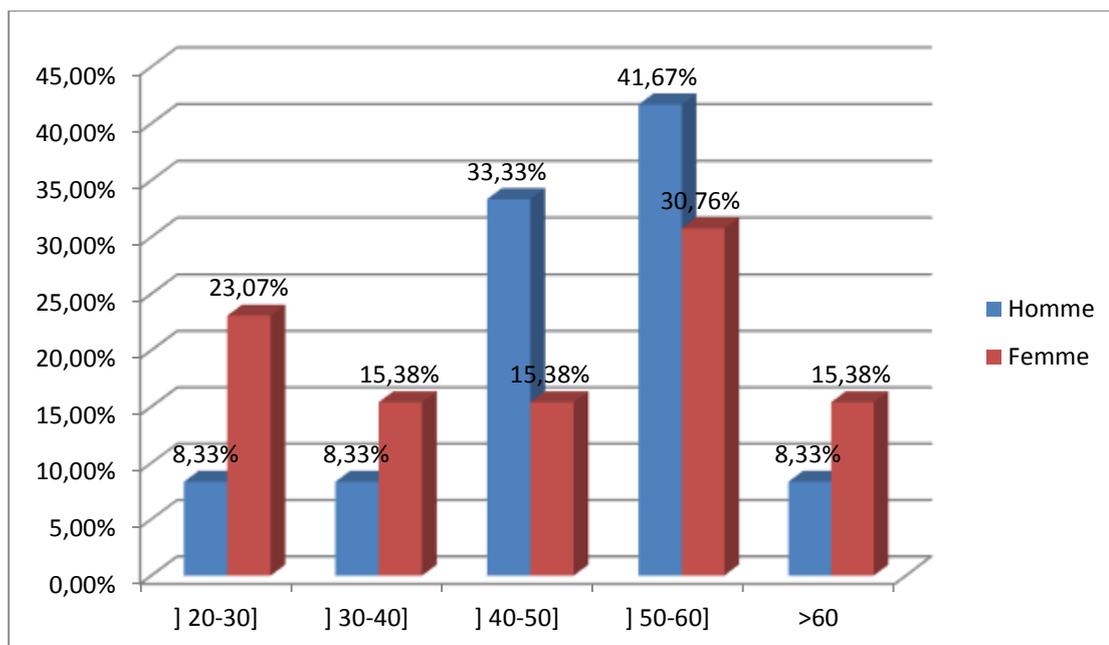


Figure 17 : Répartition de la population de référence selon l'âge et le sexe

• Les sujets malades

Les sujets présentant un Cancer colorectal sont au nombre de 25 répartis entre :

- 10 du sexe masculin soit 40%
- 15 du sexe féminin soit 60%

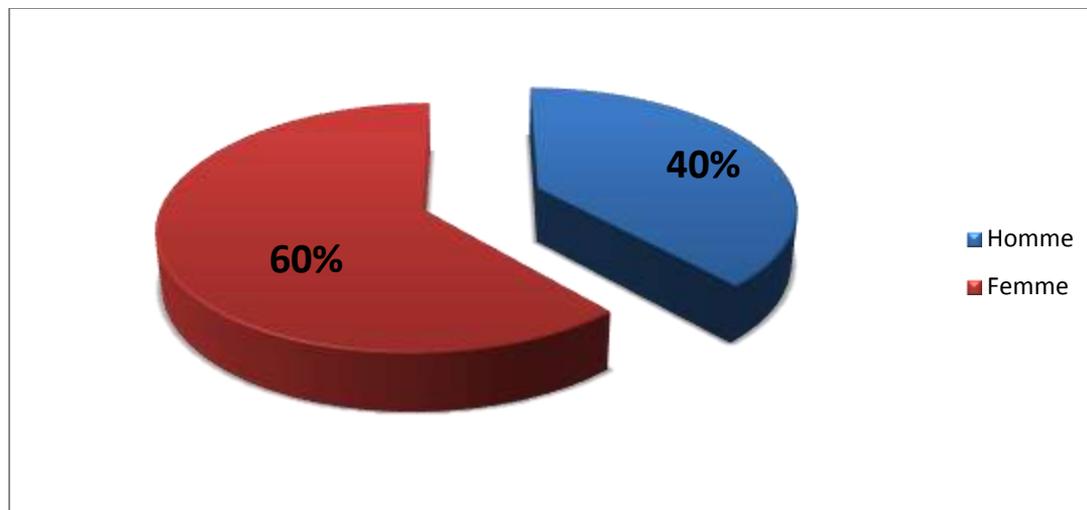


Figure 18: La répartition des sujets présentant un cancer colorectal selon le sexe.

On observe que les hommes et les femmes représentent 40% et 60% respectivement ; Ces résultats obtenus durant notre étude ont montrés une prédominance d'atteinte du cancer du colon chez les femmes que les hommes. Contrairement à ce qui a été retrouvé dans nombreuses études, celle épidémiologique réalisée à travers l'Ouest algérien dans une période allant de 2000 à 2006 où l'échantillonnage comporte 501 patients atteints de cancer du côlon (272 hommes, soit 54 % et 229 femmes, soit 46

Résultats et Discussions

%) avec un sex-ratio de 1,2 (84). Les résultats obtenus s'approchent de l'étude de Rougier P 2004 (France) au sex-ratio de 1,5 (85). Montrant cette légère prédominance masculine d'atteinte par le cancer du colon.

Nos résultats reflètent d'un recrutement très limité en nombre de sujets malades qui coïncidait avec une admission plus ou moins élevé de femmes que d'hommes dans cette période d'étude et avec un sex ratio de 0,56.

La répartition selon le sexe et l'âge des malades présentant un cancer colorectal est représenté dans le tableau 3, figure 19 :

Tableau 10: Répartition des sujets présentant un CCR selon l'âge et le sexe.

Age	Homme		Femme		Total	
	n	%	n	%	n	%
] 20-30]	0	0	0	0	0	0
] 30-40]	0	0	3	20	3	12
] 40-50]	3	30	2	13.33	5	20
] 50-60]	4	40	8	53.33	12	48
>60	3	30	2	13.33	5	20
total	10	100	15	100	25	100

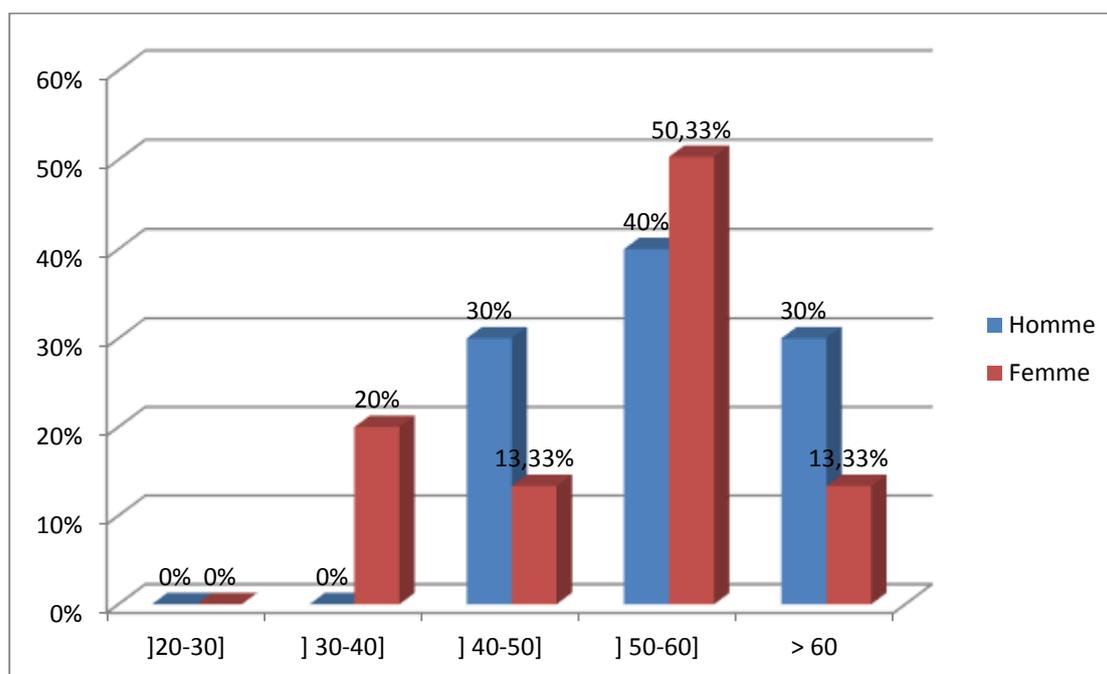


Figure 19: Répartition des malades atteints d'un CCR selon l'âge et le sexe.

Résultats et Discussions

En ce qui concerne la répartition selon l'âge et le sexe du cancer colorectal : Durant notre étude et pour les deux sexes, nous n'avons pas trouvé de cas de CCR dans la tranche 20-30 ans. Comme le montre la figure 18 une absence de la maladie chez le sexe masculin de 30 à 40 ans puis il existe une diminution de l'atteinte par le CCR chez les femmes dans la tranche de 40-50 ans , ce qui est plus remarquable encore dans la dernière tranche , alors qu'on trouve que les hommes sont plus atteints que les femmes pour la tranche d'âge 50 à 60 ans .

Nos résultats montrent une diminution de l'atteinte par cette maladie dans la dernière tranche d'âge pour les deux sexes ce qui s'oppose avec de nombreuses enquêtes de grands effectifs. Celles-ci ont montré que les CCR augmentent avec l'âge pour les deux sexes après l'âge de 50 ans (86,87, 88, 89,90).

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

- le nombre de notre échantillon est limité
- les sujets âgés refusent souvent le prélèvement
- les sujets âgés ne supportent pas la lourdeur du traitement par chimiothérapie
- leur état de santé défectueux rend tout prélèvement difficile.

2- Répartition des sujets malades

2.1 Selon la localisation de la tumeur

Le tableau et le graphique présentés ci-dessous expriment en pourcentages la localisation du cancer chez la femme et l'homme confondus

Tableau 11: Répartition des sujets malades selon la localisation de la tumeur

Localisation de la tumeur					
colon		rectum		Recto-sigmoïdien	
N	%	N	%	N	%
17	68	3	12	5	20

Résultats et Discussions

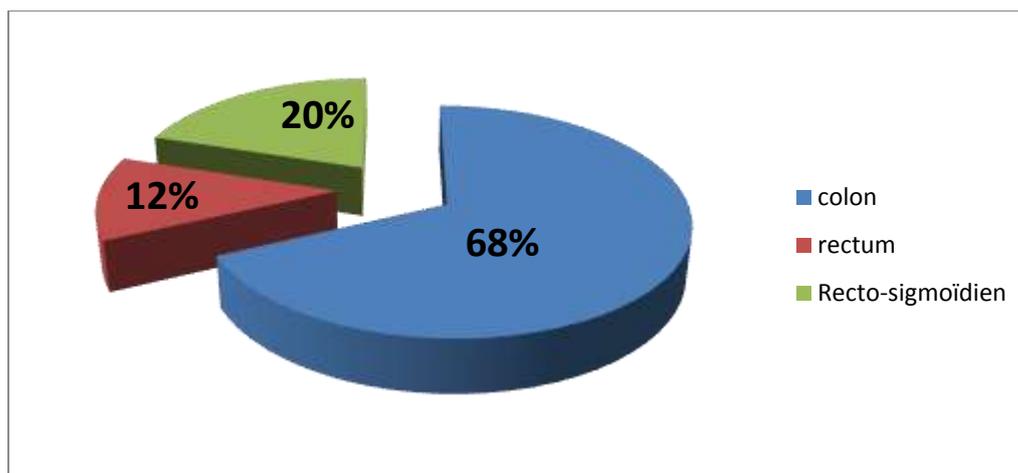


Figure 20: Répartition des sujets malades selon la localisation des tumeurs

Concernant la localisation de ce type de cancer, nos résultats montrent que le colon est touché dans 68 % des cas, le rectum lui est à 12 %, quand au cancer Recto-sigmoïdien représente 20%. On peut donc conclure que le colon est le plus affecté par le cancer chez les deux sexes en accord avec plusieurs études, en effet environ un tiers des cas sont localisés dans le rectum, dans les derniers 15 cm du gros intestin (91). Et environ 40 % des cancers touchent le rectum et 60 % le côlon, où la localisation principale est le sigmoïde. (92)

2.2 Selon le stade TNM :

Tableau 12: Répartition des sujets malades selon le stade TNM

Stade	n	%
Stade 0	1	8.33
Stade I	0	0
Stade II	10	83.33
Stade III	1	8.33
Stade IV	0	0

Résultats et Discussions

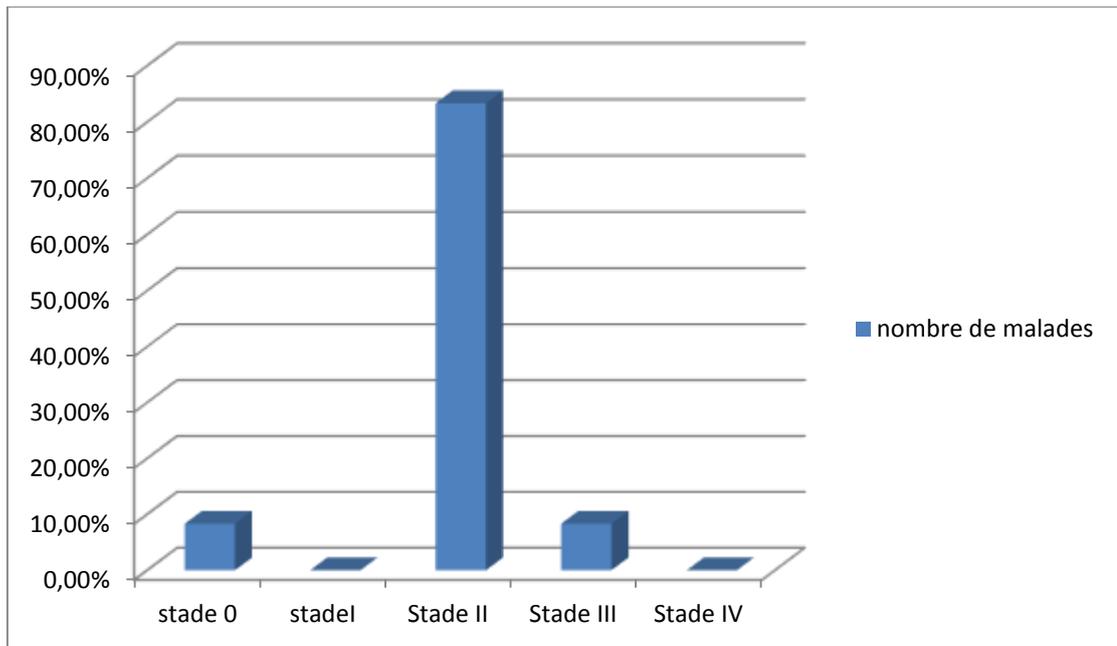


Figure 21: Répartition des sujets malades selon le stade TNM

Malheureusement dans le cas de la répartition selon le stade TNM on a pu obtenir que 12 patients parmi les 25, qu'était bien mentionné le stade TNM sur leur dossier médical, les résultats montrent que le stade II est le plus fréquent dans notre étude avec un pourcentage très élevé par rapport aux stades.

La survie des patients ayant un cancer colorectal dépend de différents facteurs pronostiques dont : le stade du cancer, l'atteinte ganglionnaire, la présence de métastases, la précocité du traitement, la profondeur de l'envahissement pariétal, l'existence d'une invasion par contiguïté aux organes de voisinage.

Le cancer colorectal est un cancer de bon pronostic lorsqu'il est diagnostiqué à un stade précoce (stade I selon la classification TNM). 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 ;
- ✓ 5 % au stade IV.

Résultats et Discussions

2.3 La répartition selon les wilayas

Tableau 13: La répartition selon les wilayas

Les wilayas	Nombre des cas	pourcentage%
Guelma	1	4
Sétif	3	12
Constantine	15	60
Mila	2	8
Biskra	1	4
Jijel	3	12
total	25	100

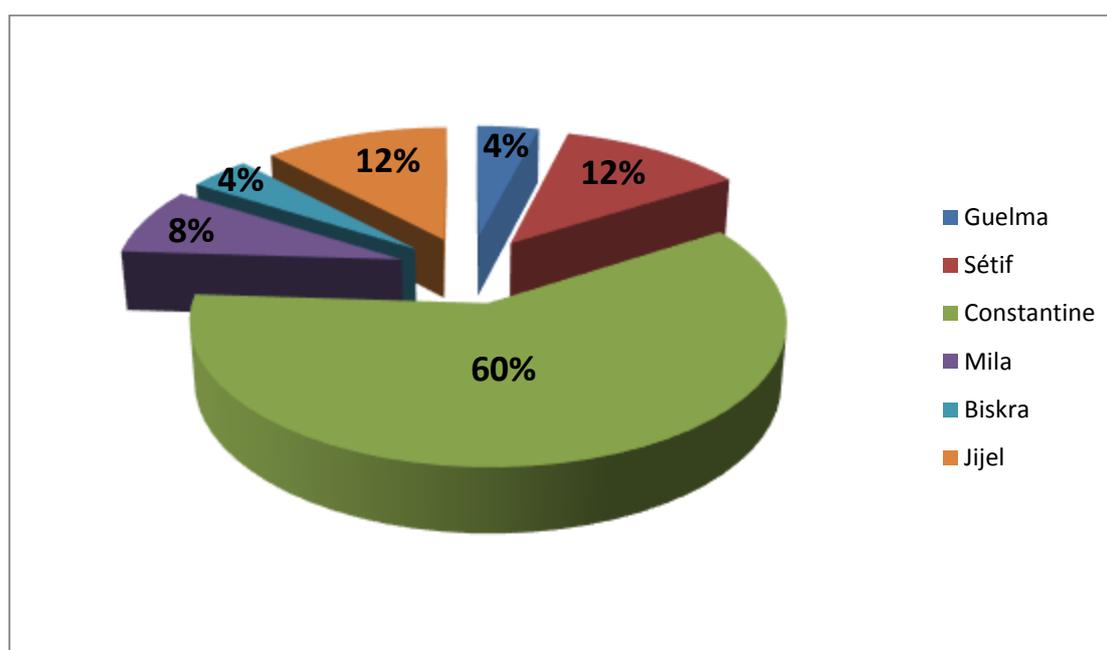


Figure 22 : la répartition des malades selon les wilayas

Notre population malade est de la région de l'Est algérien qui présente des fréquences différentes de cancer colorectal dans chaque wilaya.

Suivant cette étude nous avons trouvé que les wilayas les plus touchés par le cancer colorectal sont : Sétif, Constantine, Jijel.

Dans une autre étude la répartition de cancer du côlon dans la population de l'Ouest Algérien comporte les villes suivantes : Oran, Mascara, SBA, Relizane, Ain-Temouchent selon la période de 2000 à 2006. (105)

Résultats et Discussions

Pour ce qui est des pays d'Afrique de Nord on peut résumer l'incidence du cancer colorectal dans le tableau suivant :

Tableau 14 : le cancer colorectal en Afrique du Nord. (106)

Paye	Hommes	femmes
Afrique du nord	3150	2807
Algérie	602	588
Egypte	1042	775
Lybie	101	67
Maroc	617	654
Soudan	542	345
Tunisie	257	276

Cette différence de répartition est due à plusieurs facteurs ethniques, environnementaux, les habitudes alimentaires, le mode de vie, qui peuvent intervenir soit comme facteur protecteur, en diminuant le risque d'être atteint de cancer colorectal, ou en tant que facteur de risque.

3- Les facteurs de risques du cancer colorectal :

Parmi les facteurs de risque que nous avons étudiés sont : le tabagisme, la sédentarité et l'alimentation. ces facteurs ont été choisis car ils semblent avoir un effet considérable sur l'atteinte et la progression du cancer colorectal.

3.1 Répartition des malades selon la prise du tabac :

Dans notre étude le sexe féminin est négligé de cette partie car dans la population des malades, Les fumeurs n'étant que des hommes. (Tableau 7, Figure 23).

Tableau 15: représentant la répartition des malades selon la consommation du tabac

Non fumeurs		Fumeurs	
N	%	N	%
6	60	4	40

On peut observer que sur 10 hommes, il y a 6 soit 60% ne fument pas, et que 4 homme soit 40 % des hommes atteints de CCR est fumeur.

Résultats et Discussions

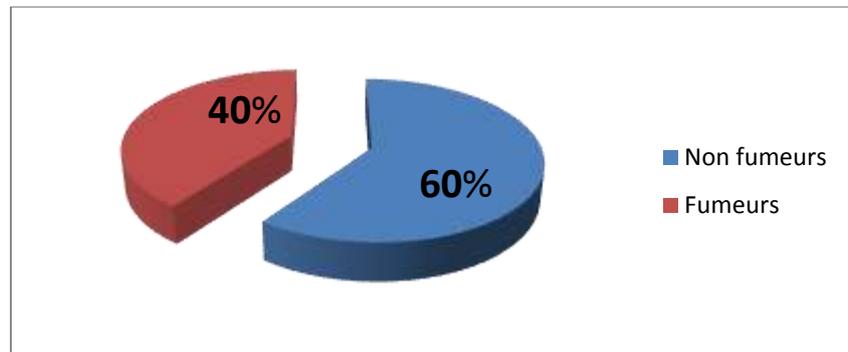


Figure 23 : Répartition des fumeurs et des non fumeurs dans le CCR selon le sexe masculin

Dans notre étude, on peut remarquer que le risque du cancer colorectal augmente en fonction de la consommation de tabac, plus le nombre des cigarettes consommé par jour est élevé, plus le risque de CCR est accru, en accord avec plusieurs études qui ont montré que deux facteurs principaux interviennent(95), le nombre de cigarettes consommées en une journée (96) et la durée en année (95), (97).

Le rôle du tabac en tant que facteur de risque, a été bien établi, la fumée du tabac contient plus de 50 molécules potentiellement carcinogènes, au moins 20 d'entre elles sont directement impliquées dans l'induction de cancers chez l'homme, au premier plan des quelles les hydrocarbures aromatiques polycycliques (PAH) contenus dans le goudron forme de gros adduits au niveau de l'ADN. Devant des adduits volumineux, l'ADN polymérase peut s'arrêter, ou placer une base inadéquate en regard du site non instructif.

La prévalence des transversions $G \rightarrow T$ au niveau de mutations de p53 est de 40% chez les fumeurs contre 10 chez les non fumeurs et les nitrosamines dérivées de la nicotine conduisent à l'addition d'un radical alkyle ($R-CH_2^+$) à un site nucléophile de l'ADN, produit par l'hydroxylation d'un carbone aliphatique de la molécule (**Pr Bergerat. 2006**)

Le Pr Ag Mourad Abid a démontré qu'un usage abusif et à long terme de la cigarette (20 paquets-années) augmente de 2 à 3 fois le risque d'apparition de gros adénomes colorectaux. Il est maintenant démontré que le risque de développer un cancer colique ou rectal est accru chez les hommes ayant fumé de 30 à 40 paquet-années selon l'étude de Pr Ag Mourad Abid (99).

Résultats et Discussions

3.2 Répartition des malades selon l'alimentation

Pour réduire le risque de cancer, les organisations de santé internationale recommandent une alimentation équilibrée et diversifiée, un apport calorique adapté aux dépenses énergétiques et une activité physique régulière. Selon un rapport international de 2009, environ un tiers des cancers pourraient être évités en suivant ces règles. (100)

Tableau 16: la répartition des malades selon la consommation de certains aliments :

	1 fois/semaine		2 fois/semaine		Plus 2 fois/ semaine	
	n	%	n	%	n	%
Viande rouge & blanche	19	72	8	32	1	4
poisson	14	56	2	8	0	0

Le tableau représente la répartition des malades selon la consommation de certains aliments, qui semblent avoir un effet sur le risque de CCR.

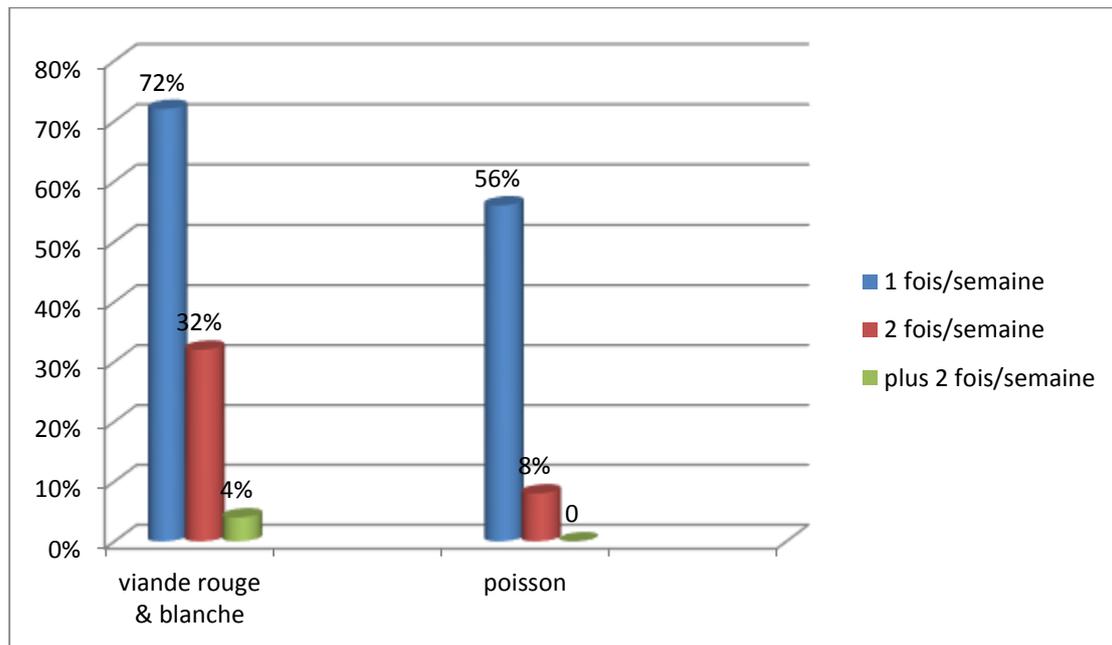


Figure 24 : la répartition des malades selon la consommation de certains aliments.

La viande :

Nos résultats montrent que le nombre des malades qui ne consommaient pas ou peu de viandes est plus élevé par rapport à ceux qui mangeaient des quantités plus importantes. D'après ces résultats, la viande rouge ne semble pas être un facteur de risque pour le CCR dans notre étude ce qui contredit plusieurs études qui ont prouvé

Résultats et Discussions

que la viande rouge riche en gras est associée à un risque accru de CCR environ 18% (homme) et 48% (femme) (101).

On peut expliquer la non concordance avec nos résultats d'une part par le fait que notre population malade est d'un effectif limité en comparaison avec celui des études publiées, insuffisant pour arriver à des statistiques significatives, d'autre part que les malades n'ont pas donné des informations exactes en ce qui concerne leur alimentation qui ne suit pas un programme régulier, de plus puisque les viandes rouges sont chères, les malades n'ont pas tous la capacité financière pour en acheter et consommer régulièrement.

Les poissons

Le tableau N° 8 montre que la consommation du poisson une fois par semaine est de 56% et de 32% pour 2 fois par semaine et quasi inexistante plus de 2 fois/semaine. Nos résultats illustrent que l'alimentation de la population malades est pauvre en poisson et le nombre de malades augmente avec la diminution de consommation de poisson qui pouvait avoir un rôle protecteur en accord avec plusieurs études chez les animaux et *in vitro* indiquent que des acides gras de chaîne longue dont l'huile de poisson est riche, pourraient inhiber la carcinogénèse. (102)

Les légumes et fruits et les produits laitiers :

Tableau 17 : Répartition des malades selon la consommation des légumes, fruits et les produits laitiers

	Moins de 1 fois/jour		2fois/jour		2 fois ou plus/jour	
	n	%	n	%	n	%
Légumes et fruits	14	56	8	32	0	0
Produits laitiers	12	48	6	24	3	12

Résultats et Discussions

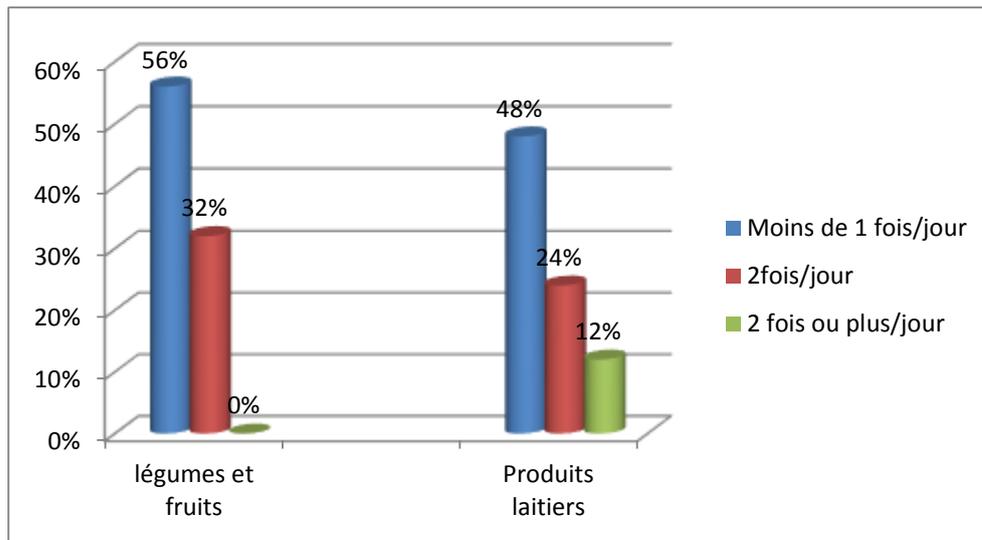


Figure 25: la répartition des malades selon la consommation des légumes, fruits et les produits laitiers

La majorité des malades consommaient moins qu'une fois par jour les différents légumes et fruits ainsi que les produits laitiers alors que la minorité voire aucune des personnes les consommaient 2 fois par jour ou plus.

Les mécanismes qui ont été évoqués pour expliquer le rôle protecteur des fibres sont multiples : élimination de carcinogènes par voie physique (adsorption), influence sur le métabolisme des acides biliaires (inhibition de la production d'acides biliaires secondaires mutagènes). Les fibres diminuent le risque d'attraper un cancer du côlon en faisant évacuer les matières alimentaires résiduelles de l'intestin et aussi en réduisant le contact des substances cancérigènes, quand elles sont présentes, avec la muqueuse du côlon. (103)

Une étude récente de la prestigieuse revue Nature, montre que l'alimentation occidentale est riche en gras, en viande et pauvre en fibres, contrairement à l'alimentation du tiers monde qui est riche en végétaux, Ce n'est que suite aux bouleversements alimentaires associés à l'industrialisation de la nourriture, et en particulier l'arrivée de la malbouffe, que l'incidence de cette maladie a littéralement explosé pour devenir une cause majeure de mortalité dans la société. Cette influence de l'alimentation est bien illustrée par les extraordinaires variations de l'incidence de cancer du côlon entre différentes régions du globe.

Pour mieux comprendre comment les différences dans l'alimentation des Africains et des Afro-américains pouvaient contribuer à ces variations de cancer colorectal, des scientifiques américains ont eu l'idée d'interchanger les habitudes alimentaires de ces

Résultats et Discussions

deux peuples. Pendant deux semaines, 20 volontaires africains ont consommé un régime américain typique (riche en gras et pauvre en fibres), tandis qu'à l'inverse 20 volontaires afro-américains ont été soumis à un régime africain (riche en végétaux, en fibres et pauvre en gras). À la fin de l'étude, les scientifiques ont mesuré une panoplie de phénomènes connus pour participer au développement du cancer colorectal, notamment la composition de la flore microbienne de l'intestin et l'inflammation de la muqueuse.

Les résultats de cette étude sont tout à fait renversants et démontrent à quel point l'alimentation exerce un impact majeur sur la santé de l'intestin. (104)

3.3 Les antécédents familiaux :

Tableau 18 : la répartition des malades selon les ATCD familiaux

Avec des ATCD		Sans des ATCD	
N	%	N	%
1	4	24	96

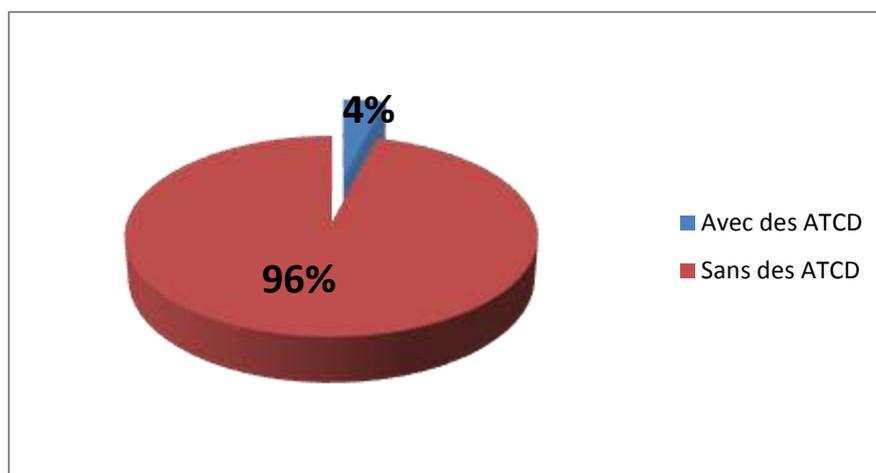


Figure 26: la répartition des malades selon les ATCD familiaux

D'après les résultats de cette étude, on a trouvé que les malades ayant des ATCDF, représentent 4% de la population, donc la forme héréditaire de cancer colorectal est rare par rapport à la forme sporadique. En accord avec l'étude française qui a retrouvé que le cancer colorectal survient le plus souvent de manière sporadique et il ne s'agit d'une affection héréditaire que dans environ 5% des cas (93).

Résultats et Discussions

Les études épidémiologiques de cohortes ou cas-témoins ont toutes montré l'augmentation du risque de développer un cancer du côlon pour un sujet dont un parent au premier degré a été atteint par cette maladie. Ainsi le risque est compris entre 2 et 3 pour un apparenté au 1er degré d'un sujet atteint. Ce risque est inversement corrélé à l'âge de survenue du cancer chez le proposant et il est corrélé au nombre de malades atteints dans la famille (94).

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Le cancer colorectal présente un véritable problème de santé publique, sa fréquence est en croissance progressive dans notre population algérienne. Notre étude avait pour objectif de déterminer les facteurs de risque associés aux CCR ainsi sa relation avec un facteur génétique qui est le polymorphisme de l'Apo E.

A l'instar de nos résultats, le CCR augmente considérablement avec l'âge chez les deux sexes avec une prédominance féminine 60 %. On a pu déduire qu'un certain nombre de facteurs semblent être associés à un risque de cancer colorectal : comme le tabagisme qui pourrait contribuer dans l'apparition du cancer, nos données suggèrent également que l'alimentation pourrait jouer un rôle important dans l'étiologie de cette pathologie d'où la consommation de fruits, légumes ainsi que les produits laitiers peuvent diminuer le risque de tumeurs colorectales par contre la consommation de viande rouge connue par son effet prédisposant le CCR n'était pas significative dans notre étude. Par contre la consommation du poisson semble avoir un rôle protecteur, et est en rapport avec une diminution du risque de CCR dans notre groupe de malades.

Malheureusement pour l'étude du polymorphisme de l'apo E : 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.

Enfin, les associations observées soutiennent l'hypothèse que les CCR pourraient être modifiés par des facteurs environnementaux.

Par ailleurs en perspectives, afin de mieux cerner les risques, identifier les facteurs de grande causalité de ce type de cancer et améliorer les connaissances de pouvoir évaluer leurs effets sur le risque de CCR, cela nécessite :

- Une enquête plus approfondie avec élargissement de la taille des populations étudiées.
- Incorporation des dosages de profil lipidique qui pourrait agir indirectement sur le phénomène carcinogène du cancer.
- Etude d'autres facteurs de risque de prédispositions génétique aux cancers colorectaux

En outre, il est important de s'intéresser à ce groupe de patients afin d'améliorer les stratégies d'intervention alimentaires et mode de vie, cela pourrait réduire efficacement le risque.

Références bibliographiques

References bibliographiques

1. Weitz,J., Koch,M., Debus,J., Hohler,T., Galle,P.R., and Buchler,M.W. (2005) Colorectal cancer. *Lancet* 365:153-165.
2. Fabre E, Spano JP, Atlan D, Braud A.C, Mitry E, Paniset Faivre J. (2000).Cancer of the colon : an update. *Bull. cancer .suppl*, 4 :5-20 .
3. Fearon ER and Vogelstein B. (1990). A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*, 61(5):759-67.
4. ML Slattery , Sweeney C , M Murtaugh , et al . Associations between apoE genotype and colon and rectal cancer. *Carcinogenesis* 2005; 26 (8) :1422-9. Epub 2005 Avr 7.
5. Biyi A, Benrais N, Albouzidi A, Benomar S. (1998).Mécanisme de la carcinogènèse à la lumière des données de la biologie moléculaire, *Médecine du Maghreb*, n° 69.
6. Scotté F, Colonna P, et Andrieu J.M, *Cancérologie*, 2002, Paris, Ellipses, 335p :7.
7. Bruce Alberts , Alexander Johanson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, Peter Walter ,2002 *Molecular Biology of the Cell “La cellule”* , Paris, Médecine-Science Flammarion, 1463:1313-13.
8. Prescott, D.H., Flexer, A.S., -In cancer: The misguided cell. - *Sinauer Association Inc., Publisher. Massachusetts.*, 1982, 27-48.
9. Hanahan,D. and Weinberg,R.A. (2000) The hallmarks of cancer. *Cell* 100:57-70.
10. J.-F. Mosnier, A. Lavergne, J.-F. Emile, Mai 2005, Généralités sur les tumeurs (chapitre 7).
11. WEINSTEIN, B., A. M. CAROTHERS, R. SANTELLA and F. PERERA, 1995, The molecular basis of cancer: Molecular mechanisms of mutagenesis and multistage carcinogenesis, Philadelphia.
12. COHEN, S.M., 1988, -L'alimentation et le cancer.-, *Pour la science*, janvier, 20-27.
13. RIBOLI, E., DECLOITRE, F., 1996, -Introduction à l'étude des relations entre alimentation et cancer.-, *Alimentation et cancer. Paris TEC DOC*, 1, 3-18.

14. Baillet, Cancérologie Niveau DCEM3, 2002-2003 Mise à jour : 6 janvier 2004, Paris, Université Pierre et Marie Curie, 298p :41-47.
15. Jean-Luc Rossignol, Roland Berger, Jean Deutsch, Marc Fellous, Claudie Lamour-Isnard, Odile Ozier-Kalogeropoulos, Marguerite Picard, Dominique de Vienne, Génétique Gènes et génomes, 2004, Paris, Dunod, 191p
16. Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Smigal C and MJ (2006) Cancer statistics,2006. CA Cancer J Clin 56: 106-130.
17. Oukkal. M., 2002. Les cancers digetifs en Algerie. Le Quotidien, 03 Avril 2007.
18. Boman BM and Wicha MS (2008) Cancer stem cells: a step toward the cure. J Clin Oncol 26:2795-2799.
19. Pasternak, J.J. (2003). Génétique moléculaire humaine: Une introduction aux mécanismes des maladies héréditaires (De Boeck Supérieur).
20. Gallot, D. (2006). Anatomie chirurgicale du côlon. EMC - Techniques chirurgicales - Appareil digestif I, 1–8.
21. CHRISTENSEN J (1991) – Gross and microscopic Anatomy of the large intestine. In : *The Large Intestine : Physiology, Pathophysiology and Disease*. SF. Phillips, JH. Pemberton, RG Shorter eds (New York, Raven Press):13-35.
22. Parkin DM, Muir CS, Whelan SL, Gao YT, Ferlay J, Powell. (1992). Cancer Incidence in Five Continents, vol 6 IARC Scientific publications, lyon, n°120.
23. Pinto D. and Clevers H. (2005). Wnt, Stem cells and cancer in the intestine. *Biology of the Cell*, 97:185-196.
24. Pretlow TP, Barrow JB, et al. (1991). Aberrant crypts: putative preneoplastic foci in human colonic mucosa. *Cancer Res* 51(5):1564-7.
25. Stryker SJ, Wolff BG, et al. (1987). Natural history of untreated colonic polyps. *Gastroenterology* 93(5): 1009-13.
26. Agnès N, Carcinogènèse colique: sous-typage moléculaire des étapes précoces du cancer du colon de phenotype non-MIN, thèse 2010.
27. Park DH, Kim HS, et al (2008). Clinicopathologic characteristics and malignant potential of colorectal flat neoplasia compared with that of polypoid neoplasia. *Dis Colon Rectum* 51(1): 43-9.

28. Sancho E, Batlle E, Clevers H.(2004) Signaling pathways in intestinal development and cancer. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2004;20:695-723.
29. Guillaume Ch. Etude de la voie de signalisation hedgehog dans les cancers du colon, thèse de doctorat. Liège 2008-2009.
30. Ekobom A, Helmick C, Zack M, Adami HO. Ulcerative colitis and colorectal cancer. A population-based study. *N Engl J Med* 1990; 1228-123.
31. Weedon DD, Shorter RG, Ilstrup DM, Huizenga KA, Taylor WF. (1973). Crohn's disease and cancer., *N Engl J Med*; 289: 1099-1103.
32. Howe,J.R., Roth,S., Ringold,J.C., Summers,R.W., Jarvinen,H.J., Sistonen,P.,Tomlinson,I.P., Houlston,R.S., Bevan,S., Mitros,F.A., Stone,E.M., and Aaltonen,L.A. (1998) Mutations in the SMAD4/DPC4 gene in juvenile polyposis. *Science* 280:1086-1088.
33. Consulter le 20/05/2015 à 19 :23
<http://igennus.com/wp-content/uploads/2014/08/bigstock-colon-cancer-61574975.jpg>
34. Weitz,J., Koch,M., Deb Biol 16:2us,J., Hohler,T., Galle,P.R., and Buchler,M.W. (2005) Colorectal cancer. *Lancet* 365:153-165.
35. Lynch,H.T. and Lynch,J.F. (1998) Genetics of colonic cancer. *Digestion* 59:481-492.
36. Chung DC. (2000) The genetic basis of colorectal cancer: insights into critical pathways of tumorigenesis. *Gastroenterology*, 119(3):854-865.
37. Hampel, H, Frankel, WL, Martin, E, Arnold, M, Khanduja, K, Kuebler, P, *et al.* (2008). "Feasibility of screening for Lynch syndrome among patients with colorectal cancer." *J Clin Oncol* 26(35): 5783-8.
38. Lawes, D. A., S. SenGupta and P. B. Boulos (2003). "The clinical importance and prognostic implications of microsatellite instability in sporadic cancer." *Eur J Surg Oncol* 29 (3): 201-12.
39. Peltomaki, P and Vasen, H (2004). "Mutations associated with HNPCC predisposition Update of ICG-HNPCC/INSiGHT mutation database." *Dis Markers* 20(4-5): 269-76.
40. GATALICA, Z., and E. TORLAKOVIC, 2008 Pathology of the hereditary colorectal carcinoma. *Fam Cancer* 7:15-26.

41. Macrae, F, du Sart, D and Nasioulas, S (2009). "Familial adenomatous polyposis." *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 23(2): 197-207.
42. Nagase, H, Miyoshi, Y, Horii, A, Aoki, T, Ogawa, M, Utsunomiya, J, *et al.* (1992). "Correlation between the location of germ-line mutations in the APC gene and the number of colorectal polyps in familial adenomatous polyposis patients." *Cancer Res* 52(14): 4055-7.
43. Jasperson, KW, Vu, TM, Schwab, AL, Neklason, DW, Rodriguez-Bigas, MA, Burt, RW, *et al.* (2010). "Evaluating Lynch syndrome in very early onset colorectal cancer probands without apparent polyposis." *Fam Cancer* 9(2): 99-107.
44. Hes, FJ, Nielsen, M, Bik, EC, Konvalinka, D, Wijnen, JT, Bakker, E, *et al.* (2008). "Somatic APC mosaicism: an underestimated cause of polyposis coli." *Gut* 57(1): 71-6.
45. Spirio, L, Olschwang, S, Groden, J, Robertson, M, Samowitz, W, Joslyn, G, *et al.* (1993). "Alleles of the APC gene: an attenuated form of familial polyposis." *Cell* 75(5):951-7.
46. Van der Luijt, RB, Vasen, HF, Tops, CM, Breukel, C, Fodde, R and Meera Khan, P (1995). "APC mutation in the alternatively spliced region of exon 9 associated with late onset familial adenomatous polyposis." *Hum Genet* 96(6): 705-10.
47. Gebert, JF, Dupon, C, Kadmon, M, Hahn, M, Herfarth, C, von Knebel Doeberitz, M, *et al.* (1999). "Combined molecular and clinical approaches for the identification of families with familial adenomatous polyposis coli." *Ann Surg* 229(3): 350-61.
48. DE LA Chapelle ,A., 2004 Genetic predisposition to colorectal cancer. *Nat Rev Cancer* 4:769-780.
49. Flzischmann ,C., J.Peto, J.Cheadle, B. Shah, J.Sampson *et al.*, 2004 Comprehensive analysis of the contribution of germline MYH variation to early-onset colorectal cancer.*INT J Cancer* 109:554-558.
50. Lipton, L., S.E. Halford, V. Johnson, M.R.Novelli, A. Jones *et al.*, 2003 Carcinogenesis in MYH-associated polyposis follows a distinct genetic pathway. *Cancer Res* 63:7595-7599.

51. Lipton, L., and I. Tomlinson, 2004 The multiple colorectal adenoma phenotype and MYH, a base excision repair gene. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2: 633-638.
52. Jones, S, Emmerson, P, Maynard, J, Best, JM, Jordan, S, Williams, GT, *et al.* (2002). "Biallelic germline mutations in MYH predispose to multiple colorectal adenoma and somatic G:C-->T:A mutations." *Hum Mol Genet* 11(23): 2961-7.
53. Cheadle, JP, Dolwani, S and Sampson, JR (2003). "Inherited defects in the DNA glycosylase MYH cause multiple colorectal adenoma and carcinoma." *Carcinogenesis* 24(7): 1281-2; author reply 1283.
54. Al-Tassan, N, Eisen, T, Maynard, J, Bridle, H, Shah, B, Fleischmann, C, *et al.* (2004). "Inherited variants in MYH are unlikely to contribute to the risk of lung carcinoma." *Hum Genet* 114(2): 207-10.
55. Fearon, E.R., and B.Vogelstein, 1990 A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 61: 759-767.
56. Smith,A.J., H.S.Stern, M. Penner, K.Hay,A. Mitri *et al.*, 1994 Somatic APC and K-ras codon 12 mutations in aberrant crypt foci from human colons. *Cancer Res* 54:5527-5530.
57. Lamlum, H., A. Papadopoulou, M. Ilyas, A. Rowan, C. Gillet *et al.*, 2000 APC mutations are sufficient for the growth of early colorectal adenomas. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:2225-2228.
58. Fearon E.R, Vogelstein B., *Cell.*, 1990 ;61 :759-767.
59. Laurent-Puig, P, Agostini, J and Maley, K (2010). "[Colorectal oncogenesis]." *Bull Cancer* 97(11): 1311-21.
60. Fodde, R, Smits, R and Clevers, H (2001). "APC, signal transduction and genetic instability in colorectal cancer." *Nat Rev Cancer* 1(1): 55-67.
61. Olschwang, S, Hamelin, R, Laurent-Puig, P, Thuille, B, De Rycke, Y, Li, YJ, *et al.* (1997). "Alternative genetic pathways in colorectal carcinogenesis." *Proc Natl Acad Sci U S A* 94(22): 12122-7.
62. Duval, A and Hamelin, R (2002). "Mutations at coding repeat sequences in mismatch repair-deficient human cancers: toward a new concept of target genes for instability." *Cancer Res* 62(9): 2447-54.
63. Leggett, B and Whitehall, VL (2010). "Role of the serrated pathway in colorectal cancer pathogenesis." *Gastroenterol* 138(6): 2088-2100.

64. Xu, X. L., J. Yu, H. Y. Zhang, M. H. Sun, J. Gu, X. Du, D. R. Shi, P. Wang, Z. H. Yang and J. D. Zhu (2004). "Methylation profile of the promoter CpG islands of 31 genes that may contribute to colorectal carcinogenesis." *World J Gastroenterol* 10 (23): 3441-54.
65. Kondo, Y. and J. P. Issa (2004). "Epigenetic changes in colorectal cancer." *Cancer Metastasis Rev* 23 (1-2): 29-39.
66. Issa, JP (2004). "CpG island methylator phenotype in cancer." *Nat Rev Cancer* 4(12):988-93.
67. Gregorieff A and Clevers H (2005). Wnt signaling in the intestinal epithelium: from endoderm to cancer. *Genes Dev* 19(8) : 877-90.
68. Samowitz WS, Powers MD, et al. (1999). Beta-catenin mutations are more frequent in small colorectal adenomas than in larger adenomas and invasive carcinomas. *Cancer Res* 59(7) :1442-4.
69. Grady WM, Myeroff LL, et al.(1999). Mutational inactivation of transforming growth factor beta receptor type II in microsatellite stable colon cancers. *Cancer Res* 59(2): 320-4.
70. McCubrey JA, Steelman LS, et al. (2006). Roles of the RAF/MEK/ERK and PI3K/PTEN/AKT pathways in malignant transformation and drug resistance. *Adv Enzyme Regul* 46:249-79.
71. Roberts PJ and Der CJ (2007). Targeting the Raf-MEK-ERK mitogen-activated protein kinase cascade for the treatment of cancer. *Oncogene* 26(22):3291-310.
72. Classification TNM et EN STADES (UICC, AJCC 2010. 7ème édition)
73. Tumeur du colon et du rectum, diagnostiquer une tumeur du colon ou du rectum argumenter l'attitude thérapeutique et planifier le suivi d'un patient, N148.
74. Cathia Soulié. APOLIPOPROTEINE E. (2004). at <http://www.alzheimer-adna.com/Risq/ApoE.html#Chapitre%203>
75. . APOE - apolipoprotein E. *Genetics Home Reference* (2015). at <http://ghr.nlm.nih.gov/gene/APOE>
76. Ki paik., David J, Chang, Catherine A et al. Nucleotide sequence and structure of the human apolipoprotein E gene, *Proc.Natl. Acad . Sci. USA* (1985) 82:3445-3449.

77. 1-Abréviation.doc - ZIA4674.pdf. at
<http://bu.umc.edu.dz/theses/biologie/ZIA4674.pdf>
78. Li, W. *et al.* Apolipoprotein E Mutation and Double Filtration Plasmapheresis Therapy on a New Chinese Patient with Lipoprotein Glomerulopathy. *Kidney Blood Press. Res.* 39, 330–339 (2014).
79. Davignon, J. Apolipoprotein E, a polymorphic and pleiotropic molecule - (part 1): role in atherosclerosis and beyond. *Sang Thromb. Vaiss.* 14, 39–58 (2002).
80. Slattery, M. L. *et al.* Associations between apoE genotype and colon and rectal cancer. *Carcinogenesis* 26, 1422–1429 (2005).
81. Tian, Y. *et al.* Apolipoprotein E Polymorphism and Colorectal Neoplasm: Results from a Meta-Analysis. *PLoS ONE* 9, (2014).
82. Souza, D. R. S. *et al.* Association between apolipoprotein E genotype, serum lipids, and colorectal cancer in Brazilian individuals. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 42, 397–403 (2009).
83. Acides gras alimentaires, flore intestinale et cancer. *Chronimed* at
<http://chronimed.over-blog.com/article-acides-gras-alimentaires-flore-intestinale-et-cancer-71335255.html>
84. D Meddah, B. Meddah, A Tir Touil, M Ghalek, Étude épidémiologique du cancer du côlon chez des patients de l’Ouest algérien, *Journal africain du cancer / African Journal of Cancer* .February 2009, Volume 1, Issue 1, pp 31-35.
85. Rougier P. Cancers du côlon et du rectum : mieux les dépister et mieux les traiter, *La Revue du praticien* 2004 ; 54 : 133 – 142.
86. Prof. U. Metzger. Le cancer du colon et du rectum. Causes. Symptômes. Diagnostic. Traitement. Pronostic. 1995.
87. Société Nationale Française de Gastroentérologie .cancer du côlon (gros intestin), septembre 1999.
88. A Schoensta, MD Colon Cancer Statistics. American Cancer Society. 31 mars 2008.
89. P horde. Le cancer du côlon. *Santé-Médecine* .8 décembre 2010.
90. INCA . Epidémiologie du cancer colorectal en France métropolitaine, 29/11/2011

91. le cancer du colon et du rectum, carcinome colorectal. ligue suisse contre le cancer, Berne 2008.
92. J. Samson et J-P. Carrel. Cancer et Genetique : determination des sujets a risque.
93. Philippe R, Emmanuel M, Sophie D et al. Les cancers digestifs, Springer-verlag France, 2006.(10)
94. Dr Philippe Presles . CANCER DU COLON : LE ROLE PROTECTEUR DU CAFE DEMENTI .le 22/06/2001.
95. Ingall T, Homer D, Baker H, et al .Predictors of intracranial carotid artery atherosclerosis.Duration of cigarette smoking and hypertension are more powerful than serum lipid levels Arch Neurol(1991),48 :687-691.
96. Donnan G, You R, Thrift A. Smoking as a risk factor for stroke.Cerebrovasc. Dis. (1993), 3:129-138.
97. Veysier Belot C. Tabagisme et risque cardio vasculaire.Sang Thrombose Vaisseaux (1995) 7 :297-304 19 - Int J Cancer. 2001 Feb 15; 91(4): 585-7.
98. Pr Bergerat. Faculté de médecine de Strasbourg : module10-cancérologie clinique Onco- Hématologie.2005-2006
99. Pr Ag Mourad Abid.Cancers des colons. Conférence pour résidents de 4eme année de chirurgie générale. Clinique Debussy Centre Pierre et Marie Curie. 2011-2012.
100. WCRF/AICR. *Policy and action for cancer prevention*. 2009.
101. R Thibault, Y Dupertuis, L Belabed, C Pichard. Alimentation et activité physique : cibles d'action pour la prévention des cancers .Rev Med Suisse 2010;6:1046-1052.
102. Françoise Clavel-Chapelon, Marie-Christine Boutron-Ruault. Risque de cancer colorectal : la viande rouge en cause, le poisson Protecteur. Journal of the National Cancer Institute, Vol. 97, No. 12, Paris, 15 juin 2005.
103. Mihoubi Aldjia .Effet des habitudes alimentaires sur les cancers du tube digestif au niveau de la wilaya de Batna. UNIVERSITE COLONEL EL HADJ LAKHDAR.BATNA. 2008-2009.
104. O'Keefe SJ et coll. Fat, fibre and cancer risk in African Americans and rural Africans. Nature Commun. 2015; 6:6342.
105. Melle Hafa A. Sélection de Variables Biologiques par l'approche FILTER .Université Abou Bekr Belkaid.01 Juillet 2012.

106. M hsairi A S .Incidence des Cancers. Registre du Cancer du Sud
Tunisien .1997-1999.

Annexes

Habitudes de vie personnelle :

Prise du tabac :

Non fumeur Fumeur actuel Ancien fumeur date d'arrêt

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

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

Consommation d'alcool

Jamais occasionnelement 2 à 3 fois /semaine tous les jours

Régime alimentaire :

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

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

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

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

Consommation de poisson :

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

Mode de cuisson privilégié

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

Consommation de légume :

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

Consommation de fruits :

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

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

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

Antécédents tumoraux personnels:

- -
- -

Antécédents familiaux :

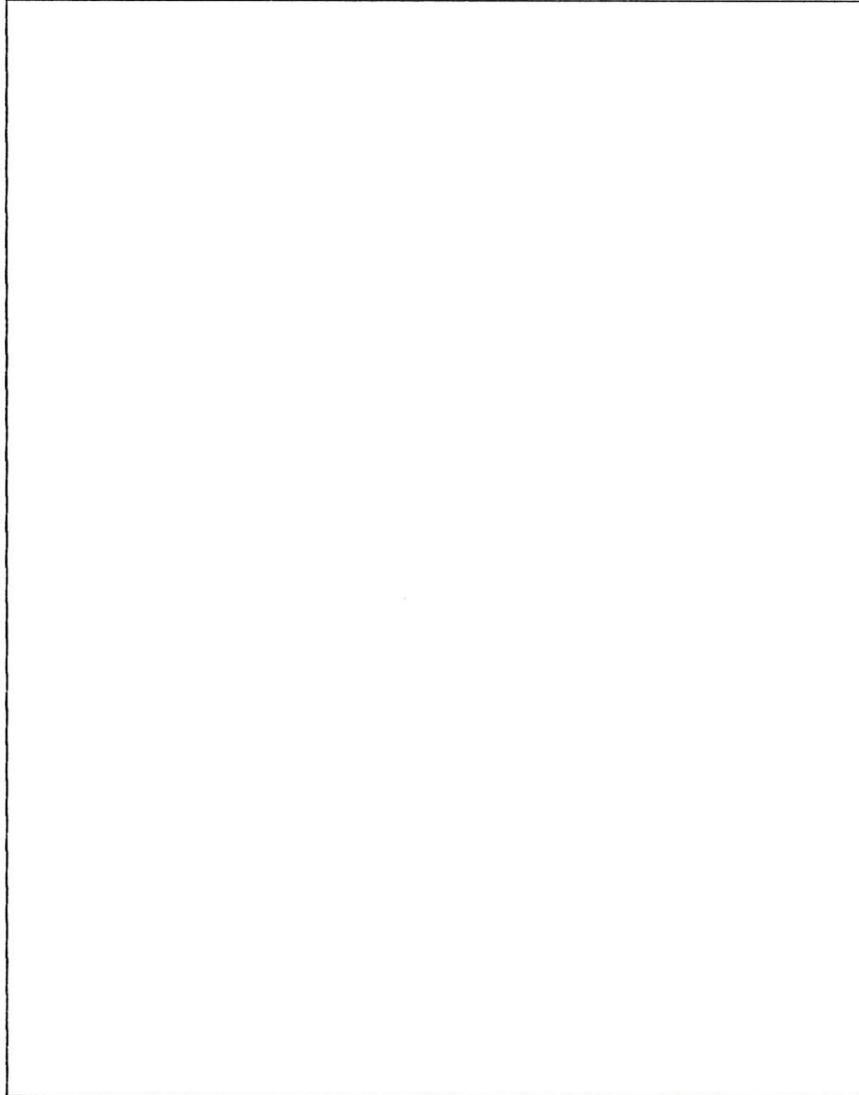
Type de cancer du Père : Type de C de la mère :.....
Age de diagnostic..... Age de diagnostic.....

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

Collatéraux:

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

Arbre généalogique :



Nom de l'investigateur

Lieu d'investigation :.....

Date :.....

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

- 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 2 : Extraction d'ADN

-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

- 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'oeil 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 (ependorf) 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).

Annexe 3 :

Tableau 3: Préparation du milieu réactionnel du PCR

Mix de PCR	Quantité en μl
Tampon de Taq 10X	7.5
DMSO	7.5
Mix de dNTP 25mM (au 1/10)	7.5
Taq polymerase 2.5 u	0.5
Mg Cl ₂ 50mM	3
OG solution fille	1.2 (0.6 μM)
OD solution fille	1
H ₂ O q.s.p 65 μl	47.3 (0.6 μM)
ADN	1 (250 ng/ μl)
Total du volume	75

- Oligonucléotides utilisées :

OD : 5' - ATG GCG CTG AGG CCG CGC TC- 3'

OG : 5' - AAC AAC TGA CCC CGG TGG CG- 3'

- Dilutions des solutions mères utilisées

- OG solution mère 0.93 mM (dilution 1/25)

OG solution fille : 3.7 μl de OG solution mère + 96.3 μl H₂O

- OD solution mère 1.11 mM

OD solution fille : 4.4 μl de OD solution mère + 95.6 μl H₂O

- dNTP solution mère

dNTP solution fille : 10 μl de dNTP solution mère + 90 μl H₂O

Tableau 4: Déroulement des cycles de la PCR dans le thermocycleur

Nombre de cycles	Étape	Température (°C)	Durée
X 1	Dénaturation	94	5 min
	Hybridation	65	3min
	Elongation	72	5min
X 30	Dénaturation	94	50s
	Hybridation	65	50s
	Elongation	72	50s
		10	10 min
		4	5min-24 h

Annexe 4**Tableau 5 : préparation du milieu de digestion par l'enzyme HhaI**

Milieu de digestion	Quantité en µl
Tampon de l'HhaI	2.5
HhaI	1
H2O	6.5
Volume total	25

Tableau 6 : Préparation d'un gel d'acrylamide 10%

Composition de gel d'acrylamide 10%	Quantité
Acrylamide / bis 30% (19 :1)	25 ml
TBE 1X	7.5 ml
persulfate d'ammonium à 10% (NH ₄) ₂ S ₂ O ₈	350 µl
Temed (C ₆ H ₁₆ N ₂) N,N,N',N'.Tetramethylethylendiamin.	70 µl
H2O	42.5 ml
Volume total	75 ml

Dépôts des échantillons :

- 15 µl de produits de digestion + 2 à 3 µl de Bleu d'acrylamide.
- 2 µl de marqueur (PM 20pb LADDER ref.018206) + 2 à 3 µl de Bleu d'acrylamide

Annexe 5

Tableau 7 : Classification TNM

Catégorie	Classification	Descriptif
T (tumeur primitive)	Tx	→ Renseignements insuffisants pour classer la tumeur primitive
	T0	→ Pas de signes de tumeur primitive
	Tis	→ Carcinome <i>in situ</i> : intra-épithélial ou envahissant la <i>lamina propria</i>
	T1	→ Tumeur envahissant la sous-muqueuse
	T2	→ Tumeur envahissant la musculature
	T3	→ Tumeur envahissant la sous-séreuse ou les tissus péricoliques et péirectaux non péritonéalisés
	T4a	→ Tumeur perforant le péritoine viscéral
	T4b	→ Tumeur envahissant directement les autres organes ou structures
N (adénopathies régionales)	Nx	→ Renseignements insuffisants pour classer les adénopathies régionales
	N0	→ Pas de métastase ganglionnaire régionale
	N1a	→ Métastase dans 1 ganglion lymphatique régional
	N1b	→ Métastase dans 2 ou 3 ganglions lymphatiques régionaux
	N1c	→ Nodule(s) tumoral(aux), c-à-d satellite(s) dans la sous-séreuse, ou dans les tissus non péritonéalisés péricoliques ou péirectaux sans métastase ganglionnaire régionale
	N2a	→ Métastase dans 4-6 ganglions lymphatiques régionaux
	N2b	→ Métastase dans 7 ou plus ganglions lymphatiques régionaux
M (métastases à distance)	M0	→ Pas de métastases à distance
	M1a	→ Métastase localisée à un seul organe (foie, poumon, ovaire, ganglion(s) lymphatique(s)), autre que régional
	M1b	→ Métastases dans plusieurs organes ou péritonéales

Tableau 8
Stades TNM

Stade	T (tumeur)	N (adénopathies régionales)	M (métastases à distance)
0	Tis	N0	M0
	T1	N0	M0
I	T2	N0	M0
IIA	T3	N0	M0
IIB	T4a	N0	M0
IIC	T4b	N0	M0
III	Tous T	N1, N2	M0
	T1, T2	N1	M0
IIIA	T1	N2a	M0
	T3, T4a	N1	M0
IIIB	T2, T3	N2a	M0
	T1, T2	N2b	M0
	T4a	N2a	M0
IIIC	T3, T4a	N2b	M0
	T4b	N1, N2	M0
IVA	Tous T	Tous N	M1a
IVB	Tous T	Tous N	M1b

Résumé

La fréquence du cancer colorectal est en croissance progressive dans notre population algérienne. Les risques de cette maladie sont liés à plusieurs facteurs dont l'âge, l'hérédité, l'alimentation, le tabagisme et certains facteurs environnementaux.

L'apolipoprotéine E joue un rôle majeur dans le métabolisme des acides biliaires, qui ont un effet potentiel sur l'étiologie du CCR, il est raisonnable de penser que le risque de CCR pourrait être modifié par le génotype Apo E.

Le but de ce travail est de savoir s'il existe une relation entre certains facteurs de risque et l'atteinte par le cancer colorectal et déterminer le polymorphisme de l'Apo E.

On a effectué une extraction d'ADN (méthode NaCl) à partir du sang prélevés sur deux populations : une des malades présentant un CCR et une autre de témoin .Durant notre étude on a pu réaliser l'application de tout le protocole du génotypage (PCR-Digestion) mais malheureusement nous avons été confronté à un problème technique ce qui a mis impossible de réussir la révélation des résultats des différents génotypes attendus, ceci nous a empêché de ne pas atteindre l'un des objectifs majeurs de notre étude.

En conclusion, les associations observées, d'après nos résultats soutiennent l'hypothèse que les CCR pourraient être modifiés par certains facteurs environnementaux, mais il serait mieux d'élargir l'effectif des sujets étudiés et approfondir les connaissances sur le plan moléculaire génétique afin de cerner les risques de ce type de cancer.

Mots clés : Apo E, CCR, polymorphisme

Laboratoire de recherche : laboratoire de Biologie et Génétique moléculaire

Abstract

The frequency of colorectal cancer is in progressive growth in Algerian population. The risks of this disease is related to several factors including age, heredity, feeding, smoking and certain environmental factors.

The apolipoprotein E plays a major role in the metabolism of bile acids, which have a potential effect on the etiology of the CRC, it is reasonable to suggest that the risk of CRC could be modified by the genotype Apo E.

The purpose of this study is to see if there is a relation between certain risk factors and to determine the polymorphisme of Apo E in the colorectal cancer.

We were carried out a DNA extraction method (NaCl) from blood collected from two populations: one of the patients with a CCR and another presumed safe population during our study we realized the application of the whole protocol of genotyping (PCR-Digestion) but unfortunately we have been confronted with a Technical problem which has put impossible the revelation of the different genotypes expected, this has prevented us from not achieving one of the major objectives of our study.

Finally, the different associations put some hypothesis that CRC could be changed by environmental and other genetics factors, but it would be better to expand the strength of the subjects studied and deepen the knowledge on the plan molecular genetics to identify the risks of this type of cancer.

Key words: Apo E, CRC, polymorphism

ملخص

يتزايد تردد سرطان القولون تدريجيا لدى الشعب الجزائري، ترتبط مخاطر هذا المرض بعدة عوامل مثل العمر والوراثة والنظام الغذائي والتدخين والعوامل البيئية. البروتين الشحمي يلعب دورا رئيسيا في عملية التمثيل الغذائي للأحماض الصفراوية و الكوليسترول و الدهون الثلاثية و كذلك تدخله في ظهور السرطان. و نظرا للدور المحتمل للأحماض الصفراوية في سرطان القولون و المستقيم. فمن المعقول ان الاعتقاد بخطر الإصابة بسرطان القولون يمكن ان يعتدل بواسطة البروتين الشحمي الغرض من هذه الدراسة هو معرفة ما إذا كان هناك علاقة بين عوامل خطر معينة والإصابة بسرطان القولون والمستقيم وتحديد تعدد أشكال البروتين الشحمي. تم إجراء استخراج الحمض النووي (طريقة كلوريد الصوديوم) من الدم المسحوب من عند مجموعتين من السكان الأولى من المرضى الذين يعانون من سرطان القولون والمستقيم و الثانية لأشخاص عيان. خلال دراستنا تم تحقيق تطبيق نموذج التتميط الجيني ، ولكن للأسف واجهنا في النهاية مشكلة تقنية التي ادت الى عدم اكتشاف بنجاح نتائج المورثات المتوقعة ، الأمر الذي منع تحقيق أحد الأهداف الرئيسية لدراستنا. في الختام، الجمعيات لاحظت، وفقا لنتائجنا تدعم فرضية أن من سرطان القولون والمستقيم يمكن تعدله ببعض العوامل البيئية، ولكن سيكون من الأفضل توسيع عدد الموضوعات المدروسة وتعميق المعرفة على المستوى الجزيئي الوراثة لتحديد مخاطر هذا النوع من السرطان.

الكلمات الدالة التغيير الجيني ، سرطان القولون والمستقيم ، Apo E،