

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche scientifique



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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم بيولوجيا الحيوان

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

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

N° d'ordre :
N° de série :

Intitulé :

Implication du polymorphisme I/D de l'enzyme de conversion de l'angiotensine dans la survenue du cancer du col de l'utérus

Présenté et soutenu par : Dridi Ryma
Lemoui Mimouna

Le 09/07/2019

Jury d'évaluation :

Président : Rezgoune Mohamed Laarbi (MCA - Université des Frères Mentouri, Constantine 1).
Encadreur : Semmame Ouarda (MCB - Université des Frères Mentouri, Constantine 1).
Examinatrice : Rezgoune-Chellalt Djalila (MCA - Université des Frères Mentouri, Constantine 1).

**Année universitaire
2018 – 2019**

REMERCIEMENTS

*Tout d'abord, nous remercions **DIEU** pour nous avoir donné la santé, la volonté et le courage pour affronter la pression, continuer et réussir nos études, comme nous l'avons toujours souhaité.*

*Nos premiers remerciements iront à notre rapporteur, Mme **SEMMAME O**, nous lui sommes reconnaissantes pour sa patience, ses encouragements, sa sympathie et sa disponibilité à tout moment. Ses conseils, ses commentaires, ses corrections et ses qualités scientifiques ont été très précieux pour mener à bien ce travail, enfin, nous avons été extrêmement sensibles à ses qualités humaines, à sa rigueur, à son professionnalisme et à son ouverture d'esprit. Nous sommes infiniment heureuses et honorées d'avoir fait notre thèse sous sa direction. Aucune expression de gratitude ne sera suffisante pour vous exprimer nos respects et nos reconnaissances.*

*Nous remercions monsieur **REZGOUNE ML**. D'avoir accepté la présidence du jury de ce travail. Vous nous avez conseillés, dirigés, encouragés et accompagnés tout au long de notre travail. Ces précieux conseils et ces qualités de rigueur scientifique ont largement contribué à notre formation. Veuillez croire en nos éternels respects et nos sincères gratitude.*

*Nous remercions également Mme **REZGOUNE-CHELLAID** d'avoir bien voulu nous faire l'honneur d'examiner ce travail. Veuillez trouver ici l'expression de notre plus profond respect.*

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

*Enfin, nous remercions également Mme **Yasmina** pour son aide dans notre partie pratique.*

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

Partie théorique

Chapitre I: le cancer du col de l'utérus

1. Appareil génital féminin.....	3
1.1. Organes génitaux internes.....	3
1.2. Organes génitaux externes.....	5
2. Col de l'utérus.....	5
2.1. Rappel anatomique.....	5
2.2. Rappel histologique.....	6
3. Cancer du col de l'utérus.....	8
4. Types du cancer du col de l'utérus.....	8
4.1. Carcinome épidermoïde.....	8
4.2. Adénocarcinome.....	9
5. Classification du cancer du col de l'utérus.....	10
6. Épidémiologie du cancer du col de l'utérus.....	12
7. Causes et facteurs du risque du cancer du col de l'utérus.....	12
7.1. Papillomavirus humain.....	13
7.2. Facteurs endogènes.....	13
7.3. Facteurs exogènes.....	14
7.4. Facteurs liés à la vie sexuelle.....	15
8. Symptômes du cancer du col de l'utérus.....	16
9. Dépistage du cancer du col de l'utérus.....	16
10. Traitements du cancer du col de l'utérus.....	16

Chapitre II: physiopathologie du cancer du col de l'utérus

1. Papillomavirus humain.....	18
2. Génome des HPV.....	18
3. Classification des HPV.....	19
3.1. Selon la séquence génomique.....	19
3.2. Selon le tropisme viral.....	19
3.3. Selon le potentiel oncogénique.....	20
4. Transmission des HPV.....	20
5. Cycle viral des HPV.....	21
6. HPV et carcinogenèse.....	22
6.1. Rôle d'E6 dans la transformation.....	23
6.2. Rôle d'E7 dans la transformation.....	25

Chapitre III : enzyme de conversion de l'angiotensine

1. Enzyme de conversion de l'angiotensine.....	26
2. Gène de l'ECA.....	26
3. Fonctions de l'ECA.....	28
4. Polymorphismes de l'ECA.....	28
5. ECA et cancers.....	29

Partie pratique

I. Patients et méthodes

1. Population d'étude.....	31
2. Méthodologie.....	32
2.1. Questionnaire.....	32
2.2. Prélèvement sanguin.....	32
2.3. Étiquetage.....	32
3. Étude moléculaire.....	32
3.1. Extraction de l'ADN.....	32
3.2. Recherche du polymorphisme I/ D de l'ECA.....	33

4. Étude statistique.....	36
4.1. Calcul de l'Odds ratio (OR).....	36
4.2. Choix de la « p value».....	37

II. Résultats et discussion

1. Répartition selon l'âge.....	38
1.1. Répartition des témoins selon l'âge.....	38
1.2. Répartition des malades selon l'âge.....	38
2. Étude des facteurs de risque.....	39
2.1. Tabagisme.....	40
2.2. Précocité des rapports sexuels.....	40
2.3. Multiplicité des partenaires.....	44
2.4. Âge de la première grossesse.....	42
2.5. Nombre de grossesses.....	43
2.6. Contraception orale.....	44
2.7. Antécédents familiaux.....	45
2.8. Niveau socio-économique.....	46
3. Étude clinique.....	46
3.1. Types histologiques du cancer du col utérin.....	46
3.2. Stades du cancer du col utérin.....	47
4. Étude du polymorphisme I/D de l'ECA.....	47
Conclusion et perspectives.....	50
Références bibliographiques.....	51
Annexes	
Résumés	

Liste des abréviations

Ang I	Angiotensine I
Ang II	Angiotensine II
AT1R	Récepteur de l'angiotensine II de type 1
ARN	Acide ribonucléique
ARNm	ARN messenger
BAK	BCL2-antagonist/killer
BAX	BCL2-Associated X
BET	Bromure d'éthidium
CBP	Coactivator binding protein
CDK	Cyclin dependent Kinase
CHUC	Centre hospitalier universitaire de Constantine
CIN	Cervical intraepithelial neoplasia
CIRC	Centre international de recherche sur le cancer
DD	Deletion /Deletion
E6AP	E6 associated protein
ECA	Enzyme de conversion de l'angiotensine I
EDTA	Ethylène diamine tétra acétique
FADD	Fas associated protein with death domain
FCV	Frottis cervico vaginal
FIGO	Fédération internationale des gynécologues et obstétriciens
GPI	Glycosyl phosphatidyl inositol
HLA	Humain leucocyte antigen

HPV	Human papilloma virus
hTERT	Human telomerase reverse transcriptase
ID	Insertion /Deletion
II	Insertion/ Insertion
Kb	Kilobase
KDa	Kilo dalton
LCR	Long control region
Mdm2	Murine double minute 2
NCBI	National center for biotechnologie information
NO	Nitric oxid
OR	Odds ratio
ORF	Open reading frame
Pb	Paire de bases
PCR	Polymerase chain reaction
pRb	Protein rétinoblastome
SDS	Sodium dodécyl sulfat
SNP	Single nucleotide polymorphism
SRC	Proto-oncogene tyrosine-protein kinaze
TBE	Tris borat EDTA
TE	Tris EDTA
TNF	Tumor necrosis factor
TNF-R1	Tumor necrosis factor receptor 1
TRADD	TNFR1-associated death domain protein
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine

Liste des figures

Figure 01 : Appareil génital féminin.....	3
Figure 02 : Les muqueuses du col de l'utérus.....	7
Figure 03 : Le génome d'HPV 16.....	19
Figure 04 : Cycle viral des HPV.....	22
Figure 05 : Intégration d'HPV dans le génome de la cellule hôte.....	23
Figure 06 : Interactions cellulaires des oncoprotéines E6 et E7 et leur synergie dans l'induction de l'immortalisation cellulaire.....	25
Figure 07 : Structure de l'enzyme ECA somatique et germinale.....	26
Figure 08 : Localisation des promoteurs somatique et germinale de gène ECA.....	27
Figure 09 : Localisation du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine sur le chromosome 17.....	27
Figure 10 : Polymorphisme génétique de l'ECA.....	29
Figure 11 : Profil électrophorétique des fragments amplifiés par PCR du gène de l'ECA sur gel d'agarose à 2 %.....	36
Figure 12 : Répartition des patientes selon l'âge.....	39
Figure 13 : Répartition des patientes selon l'âge du mariage.....	41
Figure 14 : Répartition des patientes en fonction du nombre du mariage.....	42
Figure 15 : Répartition des patientes selon l'âge de la première grossesse.....	43
Figure 16 : Répartition des patientes selon le nombre de grossesses.....	44
Figure 17 : Répartition des patientes selon la consommation des contraceptifs oraux.....	45
Figure 18 : Répartition des patientes selon les types histologiques du cancer du col de l'utérus.....	46

Figure 19 : Répartition des patientes selon les stades du cancer du col de l'utérus.....	47
Figure 20 : Répartition des patientes selon les fréquences génotypique.....	48

Liste des tableaux

Tableau 01 : Classification de la FIGO des cancers du col utérin.....	11
Tableau 02 : Modes de transmission de l'infection à HPV.....	20
Tableau 03 : Composants du milieu réactionnel de la PCR.....	34
Tableau 04 : Conditions d'amplification de la PCR.....	34
Tableau 05 : Répartition des témoins selon l'âge.....	38
Tableau 06 : Répartition des malades selon l'âge.....	38
Tableau 07 : Comparaison des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme I/D du gène de l'ECA chez les patientes et les témoins.....	48

Introduction

Le cancer du col utérin est une néoformation tissulaire due à une prolifération cellulaire excessive, anormale, anarchique et autonome, développant une tumeur maligne au sein de ses tissus qui détruisent le col au niveau de la zone de jonction avec envahissement locale et à distance.

Le cancer du col utérin est le deuxième cancer féminin à l'échelle mondiale, et est la première cause de mortalité par cancer dans la population féminine (Courbière *et al.*, 2014). Chaque année, 500.000 nouveaux cas et environ 260.000 décès sont enregistrés (Guérin, 2012). Il existe une grande inégalité de répartition de l'incidence selon les pays, les pays en voie de développement restent les plus touchés par ce cancer. Cependant, son incidence a largement diminuée dans les pays développés grâce au dépistage précoce (Courbière *et al.*, 2014). En Algérie, 1108 nouveaux cas ont été enregistrés durant l'année 2014 (Hamdi cherif *et al.*, 2015).

Le principal agent étiologique du cancer du col utérin est l'infection par le papillomavirus humain (HPV) de haut risque ou oncogène qui se transmet sexuellement par contact direct de la peau et de la muqueuse. Les infections cervicales à HPV sont considérées comme des causes nécessaires, mais pas suffisantes pour générer un cancer. Des facteurs endogènes, des facteurs exogènes et des facteurs liés à la vie sexuelle de la femme et l'hérédité sont également identifiés comme des facteurs de risque associés, dans différentes mesures, au développement du cancer invasif du col utérin, et dans la susceptibilité de potentialiser le rôle de l'HPV (Ashford *et al.*, 2005 ; Kessabi, 2009).

L'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) est une métalloprotéase de la famille M2 à zinc qui peut convertir l'angiotensine I (Ang I) en un peptide actif qui est l'angiotensine II (Ang II). Ce dernier possède un pouvoir vasoconstricteur puissant. Cette enzyme est également impliquée dans l'inactivation de la bradykinine qui est un vasodilatateur.

Le gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine I (ECA) est situé sur le bras long du chromosome 17 (17q23), constitué de 26 exons et 25 introns et mesure environ 21 kb. Le clonage de l'ADNc de l'ECA a rendu possible l'identification d'un polymorphisme d'insertion (I) ou de délétion (D), consistant en la présence (allèle I d'insertion) ou l'absence (allèle D de délétion) d'un fragment intronique de 287 pb au sein de l'intron 16. Il existe trois génotypes : un hétérozygote ID et 2 homozygotes II et DD (Baudin, 2002 ; Soubier *et al.*, 2018). En effet, les sujets porteurs de l'allèle D présentent un taux plasmatique de l'enzyme de conversion augmenté par rapport aux porteurs de l'allèle I (Sayed-tabatabaei *et al.*, 2006 ; Soubrier *et al.*, 2018).

Dans plusieurs études, les tumeurs de plus grande taille et les métastases étaient associées de manière significative au génotype DD. Ainsi, les individus qui possèdent les allèles à faible activité (génotype II) auraient un risque de cancer plus faible que ceux à allèles à forte activité (génotype DD) (Zhang *et al.*, 2014). Le polymorphisme de l'ECA affecte les concentrations plasmatiques et l'activité de l'Ang II qui peut favoriser la prolifération des cellules de cancer par combinaison avec le récepteur de l'Ang II (AT1R). La combinaison de l'Angiotensine II et AT1R peut également induire une augmentation de la formation d'oxyde nitrique (NO) et des molécules d'adhésion de la cellule qui sont tous deux en rapport avec la croissance de la tumeur et la métastase (Dolley hitze *et al.*, 2013).

Plusieurs études ont évalué l'association du polymorphisme I/D de l'ECA avec différents types de cancers (Koh *et al.*, 2003 ; Medeiros *et al.*, 2004 ; Zhang *et al.*, 2014), mais les mécanismes d'implication de ce polymorphisme dans le cancer du col utérin sont restés inexplorés. Par conséquent, dans notre étude nous avons assignés comme objectifs d'explorer les facteurs de risques les plus courants chez les sujets avec un cancer du col de l'utérus, et démontrer une possible association entre ce nouveau marqueur génétique et la carcinogenèse du col utérin.

Partie théorique

Chapitre I :

cancer du col de

l'utérus

1. Appareil génital féminin

L'appareil génital féminin est l'appareil de la reproduction chez la femme, il comprend les organes génitaux internes et externes (Figure 01).

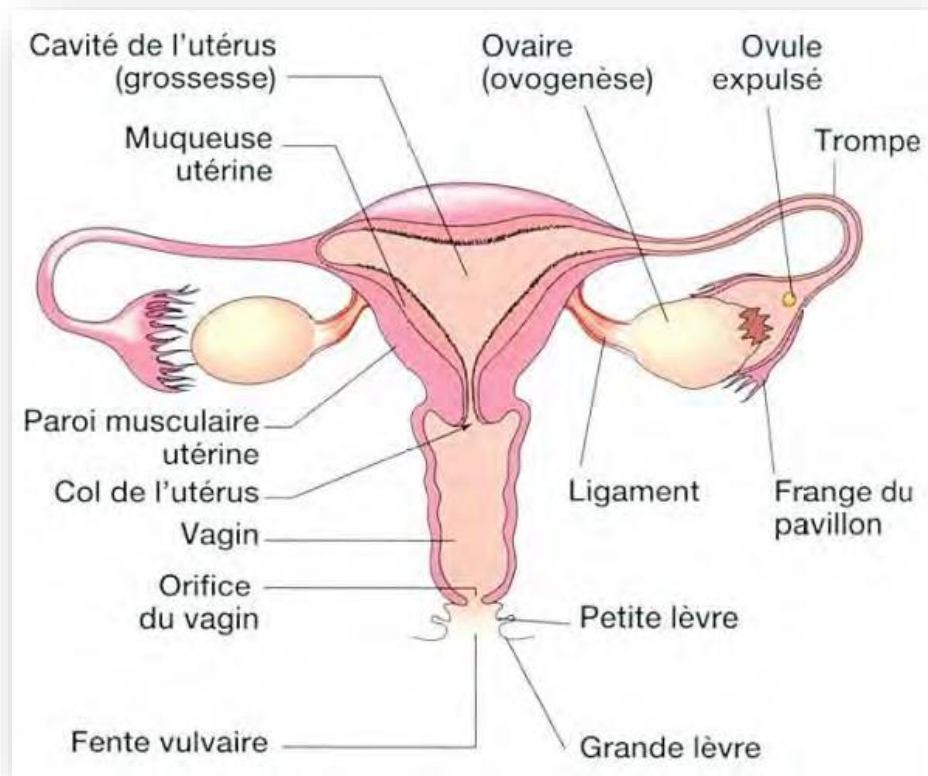


Figure 01 : Appareil génital féminin (<http://app-asap.over-blog.com/article-anatomie-de-l-appareil-genital-feminin-43833987.htm>)

1.1. Organes génitaux internes

Les organes génitaux internes se composent de l'utérus, les trompes utérines, les ovaires et le vagin.

1.1.1. Utérus

L'utérus est un muscle creux, à parois épaisses situé entre la vessie et le rectum (Agnus, 2013).

L'utérus est l'hôte de l'œuf fécondé qui en son sein s'implante et se développe pendant la grossesse, se compose de trois couches : le péritoine sur la face externe, une

couche intermédiaire la plus épaisse de la paroi de muscle lisse nommée myomètre, l'endomètre dans sa partie interne (Dee, 2007). L'endomètre comprend trois parties :

- **le corps** : c'est la partie supérieure de l'utérus, large, se compose de muscles puissants. Lors de la grossesse, le corps de l'utérus présente le lieu du développement de l'œuf et participe à la formation de placenta (Arne *et al.*, 2004).
- **le col** : se trouve dans la partie inférieure de la cavité de l'utérus, véritable zone de confluence entre l'utérus et le vagin (Boukili, 2016).
- **l'isthme** : est situé à la jonction entre le corps et le col, il devient le segment inférieur au cours de la grossesse (Robert, 2016).

1.1.2. Trompes utérines

Les trompes utérines ou oviductes, se sont deux conduits symétriques, une à gauche l'autre à droite reliant chaque ovaire à l'utérus, d'une longueur d'environ 10 à 12 cm (Barillier, 2007), permettant le passage de spermatozoïde de l'utérus jusqu'au lieu de fécondation puis la descente de l'œuf fécondé vers l'utérus où elle va s'implanter (Köhler, 2011), on distingue quatre segments (Barillier, 2007) :

- **le pavillon** : la partie mobile de la trompe
- **l'ampoule tubaire** : la partie la plus longue, large et courbe
- **l'isthme** : la partie la plus étroite
- **la portion interstitielle** : très courte

1.1.3. Ovaires

Les ovaires sont deux organes droit et gauche en forme d'amande à surface lisse chez l'enfant, d'environ 4 cm de long, 2 cm de large et 1 cm d'épaisseur (Barillier, 2007).

L'ovaire est le lieu de la production de l'ovocyte et de la synthèse des hormones stéroïdiennes sexuelles (Agnus, 2013).

1.1.4. Vagin

Le vagin est un organe musculo-membraneux de 8 à 10 cm de long, qui relie l'utérus à la vulve, constitue d'un cul-de-sac postérieur et d'un cul-de-sac antérieur aplati (Sanogo, 2006). Le vagin est l'organe de copulation dans lequel seront déposés les spermatozoïdes au cours des rapports sexuels (Le coz, 2014).

1.2. Organes génitaux externes

Les organes génitaux externes se composent de vulve et de glandes mammaires.

1.2.1. Vulve

La vulve est l'organe sexuel externe de l'appareil génital féminin, se présente sous forme d'une saillie ovoïde (Abdallah, 2009). Elle se compose de mont de Vénus, grandes et petites lèvres, le vestibule vulvaire (qui est formé par l'orifice vaginal, le méat urétral et le clitoris), bulbes vestibulaires et de glandes vulvaires (Aboulfath, 2016).

1.2.2. Glandes mammaires

Les glandes mammaires sont deux organes exocrines, ectodermiques, formées de tissu adipeux. Chez la femme adulte, les glandes mammaires se développent tardivement et pendant la gestation, elles se préparent à produire le lait sous effet hormonal et trouvent son plein épanouissement dans les mois qui suivent l'accouchement (Chamard-jovenin, 2016).

Les glandes mammaires sont situées dans la partie entérosupérieure du thorax de chaque côté du sternum, et formées de 15 à 20 lobes qui sont constitués par de lobules contenant les glandes de lactation et des conduits lactifères, ces derniers s'ouvrent à la surface de mamelon, la taille d'une glande mammaire varie d'une femme à l'autre presque égale à 12 cm en hauteur et longueur (Le corgne, 2016).

2. Col de l'utérus

2.1. Rappel anatomique

2.1.1. Description

Le col utérin ou « cervix » est la partie inférieure fibromusculaire de l'utérus, de forme cylindrique ou conique, il est soutenu par les ligaments larges et utéro-sacrés qui s'étirent entre les parties latérales et postérieures du col et les parois de l'os pelvien, le col de la femme multipare est plus volumineux (Sellorsetal., 2004).

L'insertion du vagin délimite à son niveau trois portions (Leno, 1993) :

- **la portion sus-vaginale** : représente la partie supérieure du col, rencontre le corps musculaire de l'utérus au niveau de l'orifice cervical interne et se poursuit par la cavité utérine.
- **la portion vaginale** : représente la partie d'insertion du vagin sur le col utérin.

- **la portion intra-vaginale** : représente la partie inférieure du col, de forme cylindrique, s'avance dans le vagin par sa paroi antérieure, et communique avec le vagin par l'orifice externe du col.

2.1.2. Localisation

Le col de l'utérus se situe entre le vagin en bas et la cavité utérine en haut, celui-ci se joint au sommet du vagin (Fenton, 1999).

2.1.3. Dimension

Chez la nullipare, l'utérus pèse 50g, le col mesure 2 cm de longueur et 2 cm d'épaisseur également avec un canal cervical de 2 mm de diamètre tandis que chez la multipare, l'utérus pèse 70g, le col mesure 3 cm de longueur et 3 cm d'épaisseur avec un canal cervical de 3 mm (Fenton, 1999).

Les dimensions et la morphologie du col varient en fonction de l'âge, la parité et du statut hormonal (Boukili, 2016).

2.1.4. Fixité

Le col est très fixe par rapport au corps utérin qui est mobile, il est maintenu fixe par (Benmansour *et al.*, 2017) :

- **les paramètres** : situés de chaque côté de la partie sus-vaginale, constitués par un tissu fibro-musculaire dense, contenant des fibres musculaires lisses.
- **le vagin** : inséré sur le col selon un plan oblique en bas et en avant, le col s'appuie ainsi sur la paroi postérieure du vagin.

2.2. Rappel histologique

Le col de l'utérus est tapissé par deux épithéliums, l'exocol, qui correspond à la partie inférieure du col, s'avance dans le vagin, et l'endocol, qui correspond aux deux tiers supérieurs du col, se situe au-dessus du vagin. Avec une zone de transition entre les deux épithéliums, la zone de jonction. (Isautier, 2012) (Figure 02).

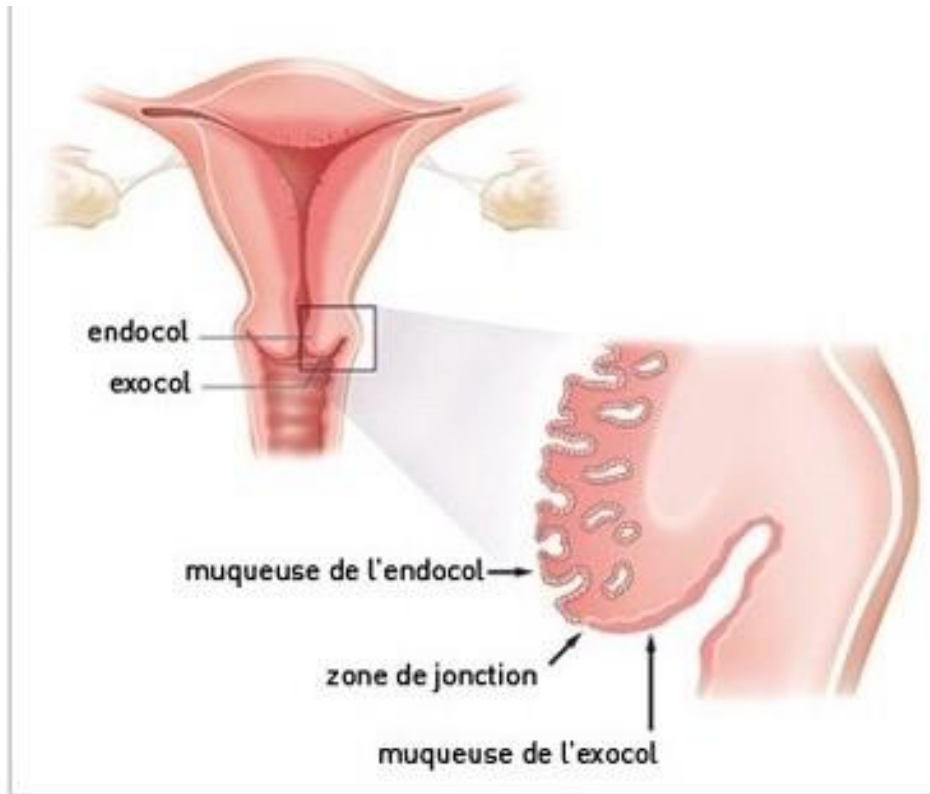


Figure 02 : Les muqueuses du col de l'utérus (<https://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-col-de-l-uterus/Le-col-de-l-uterus>)

2.2.1. Exocol

L'exocol est la partie intra-vaginale du col avec son orifice externe, sa configuration dépend de l'âge et du nombre de grossesses de la femme (Sanogo, 2006). Il est normalement recouvert d'un épithélium pluristratifié de type pavimenteux ou malpighien, de couleur rose pâle, chargé en glycogène et réparti en 5 couches (Kessabi, 2009).

2.2.2. Endocol

L'endocol est tapissé par un épithélium unistratifié mucosécrétant, de couleur rouge, qui est moins épais que l'épithélium pavimenteux de l'exocol (Kessabi, 2009).

L'endocol est constitué d'une couche de cellules cylindriques hautes avec un cytoplasme clair riche en mucine et des cellules de réserve qui participent à la régénération de l'épithélium (Leno, 1993).

2.2.3. Zone de jonction

La zone de jonction est la zone de transition entre l'épithélium malpighien et l'épithélium glandulaire endocervical, elle doit se situer dans les cas normaux, à moins de 5 mm de l'orifice du canal cervical (Leno, 1993).

2.3. Fonctions

La fonction première du col de l'utérus est d'accueillir le sperme et que « ça colle », sa cancérisation équivaut une sorte d'« effet ventouse » pour essayer à tout prix de conserver l'homme, il joue aussi un rôle capital dans l'accouchement (Boagert, 2016 ; Benmansour *et al.*, 2017).

3. Cancer du col de l'utérus

Le terme médical pour ce cancer est le carcinome cervical, il correspond dans la majorité des cas à une affection d'origine tumorale à évolution lente, c'est un cancer sexuellement transmissible qui implique certains papillomavirus, il met plusieurs dizaines d'années à se développer avec apparition de lésions précancéreuses curables. Il s'agit d'un carcinome épidermoïde lorsqu'il apparait dans les cellules du museau de tranche ou d'un adénocarcinome lorsqu'il apparait dans les cellules glandulaires du canal cervical (Mariko, 2008 ; Ebrother, 2010).

4. Types du cancer du col de l'utérus

Il existe différents types du cancer du col de l'utérus, le type le plus courant est le carcinome épidermoïde (85%), rarement l'adénocarcinome (10%) et 5% pour d'autres cancers (Courbiere*et al.*, 2014).

4.1. Carcinome épidermoïde

Le carcinome épidermoïde est le cancer le plus fréquent du col selon le plan histologique (85 %), développé aux dépens de l'épithélium malpighien exocervical, se présente sous forme d'ilots ou de travées épithéliales tumorales, de forme et de taille variable qui infiltrent plus ou moins largement la paroi cervicale, sa fréquence diminue systématiquement du fait du dépistage. Cette tumeur est plutôt observée chez les femmes âgées (Bernard, 2005 ; Aznague, 2013).

- **Carcinome épidermoïde *in situ***

Dans le carcinome épidermoïde *in situ*, il ya une prolifération cellulaire anarchique dans l'épithélium malpighien avec augmentation du nombre de couches sans franchissement de la membrane basale. Au stade précoce, ces lésions ne donnent pas d'altérations macroscopiques du col, mais des lésions identifiables à l'examen coloscopique. Cependant, au stade tardif, les tumeurs changent la taille du col et donnent des lésions tumorales bourgeonnantes ulcérantes (Boubli *et al.*, 2005).

- **Carcinome épidermoïde micro invasif**

Sur le prélèvement histologique, l'invasion du chorion par la prolifération tumorale maligne du carcinome épidermoïde micro invasif ne dépasse pas 5 mm en profondeur et 7 mm en largeur (Noel *et al.*, 2003).

- **Carcinome épidermoïde invasif**

On parle du carcinome épidermoïde invasif lorsque l'invasion du chorion s'étend au-delà de 5 mm en profondeur. C'est une prolifération néoplasique maligne avec rupture de la membrane basale et pénétration par les cellules néoplasiques de la sous-muqueuse. Au stade précoce, les lésions sont invisibles sauf à la coloscopie, mais au stade avancé, les lésions augmentent le volume global du col (Boubli *et al.*, 2005).

Cliniquement, la tumeur est ulcérée et infiltrée. Histologiquement, et selon le degré de maturation et de différenciation, on distingue des formes peu, moyennement ou bien différenciées, kératinisant ou non (Noel *et al.*, 2003).

4.2. Adénocarcinome

L'adénocarcinome représente 10 % des cas, mais il est de plus en plus fréquent en raison de sa moindre accessibilité au dépistage, développé au sein de la muqueuse cylindrique endocervicale, il touche les cellules de réserve plus probablement que les cellules glandulaires différenciées et il est de pronostic plus sombre (Vanderbroucke *et al.*, 2012 ; Courbiere *et al.*, 2014).

- **Adénocarcinome *in situ***

L'adénocarcinome *in situ* est une tumeur maligne non invasive, caractérisée par la transformation des glandes endocervicales sans invasion du chorion ; considérée comme le précurseur de l'adénocarcinome invasif, il est asymptomatique, son diagnostic précoce repose uniquement sur le cytopathologiste, causé par l'infection persistante et transformante par un HPV oncogène, ces lésions présentent une certaine parenté avec les lésions du carcinome épidermoïde, mais ont leurs propriétés épidémiologiques, diagnostiques et thérapeutiques (Tranbaloc, 2002 ; Vanderbroucke *et al.*, 2012).

- **Adénocarcinome invasif**

L'adénocarcinome invasif est la pathologie maligne cervicale la plus rare en comparaison du carcinome épidermoïde. Ainsi, la littérature médicale est peu disert concernant cette pathologie et rares sont les essais thérapeutiques dédiés à l'adénocarcinome invasif du col utérin. Il présente ses propres particularités épidémiologiques, diagnostiques, thérapeutiques et pronostiques qui le distinguent du carcinome épidermoïde (Vanderbroucke *et al.*, 2012).

5. Classification du cancer du col de l'utérus

La classification de la Fédération Internationale des Gynécologues et Obstétriciens (FIGO) 1994 est la plus répandue, basée sur l'extension locale et locorégionale sous anesthésie générale (Courbiere *et al.*, 2014) (Tableau 01).

Tableau 01 : Classification de la FIGO des cancers du col utérin (Courbiere *et al.*, 2014)

Stade	Description
0	Cancer in situ
I	Cancer limité au col
IA	Cancer micro invasif d'une invasion stromale < 5 mm en profondeur et < 7mm en horizontale
IA1	Invasion du stroma < 3 mm en profondeur et < 7 mm horizontalement
IA2	Invasion du stroma > 3 mm, < 5 mm en profondeur et extension < 7 mm en horizontale
IB	Cancer invasif supérieur à IA2
IB1	Cancer cliniquement visible de moins de 4 cm
IB2	Cancer cliniquement visible de plus de 4 cm
II	Cancer dépasse le col, mais sans atteindre la paroi pelvienne ni le tiers inférieur du vagin
IIA	Cancer sans atteindre les paramètres
IIA1	Cancer inférieur à 4 cm
IIA2	supérieur à 4 cm
IIB	Cancer atteint les paramètres
III	Lésion atteinte le 1/3 inférieur du vagin et/ou la paroi pelvienne et/ou présence d'une hydronéphrose
IIIA	Lésion atteint le 1/3 inférieur du vagin sans atteindre la paroi pelvienne
IIIB	Lésion atteint la paroi pelvienne et/ou présence d'une hydronéphrose
IV	Tumeur étendue aux organes de voisinage
IVA	Cancer étendu à la vessie ou au rectum
IVB	Métastase à distance

6. Épidémiologie du cancer du col de l'utérus

Le cancer du col utérin est le deuxième cancer féminin après le cancer du sein à l'échelle mondiale, et le quatrième cancer parmi les cancers les plus fréquents dans le monde, ce cancer est la première cause de mortalité par cancer dans la population féminine, il est plus fréquent dans les pays en développement. Cependant, son incidence dans les pays développés a largement diminué grâce au dépistage. Ainsi, le risque d'être atteint d'un cancer du col au cours de la vie estimé à 4 % dans les pays en voie de développement et 1 % dans les pays développés. L'incidence est exceptionnelle avant 25 ans, puis augmente progressivement jusqu'à 70 ans, avec une incidence maximale à 48 ans (Courbiere *et al.*, 2014).

Chaque année, 500.000 nouveaux cas de cancer du col utérin surviennent, et d'environ 260.000 décès (Guérin, 2012). 85 % des cas surviennent dans les pays en voie de développement où le cancer du col représente 12 % de tous les cancers chez les femmes (Memon *et al.*, 2019).

Il existe une grande inégalité de répartition de l'incidence selon les pays, certains pays d'Afrique, d'Asie et d'Amérique du Sud sont les plus touchés par le cancer du col de l'utérus, car ces régions sont les plus pauvres du monde, ceci s'explique par le manque des traitements et de dépistage (Hill *et al.*, 2005).

En Algérie, le cancer du col utérin représente le quatrième cancer chez les femmes (5 % des cancers féminins), il occupe une position intermédiaire entre les pays développés et les pays arabes. En 2014, 1108 nouveaux cas ont été enregistrés, les taux d'incidence bruts sont de 5.5 pour 100.000 femmes et les taux d'incidence standardisés de 7.1. L'âge moyen au moment du diagnostic est de 54 ans (Hamdi cherif *et al.*, 2015).

7. Causes et facteurs de risque du cancer du col de l'utérus

Le manque de dépistage ainsi que de traitements fiables est l'une des raisons essentielles pour lesquelles les taux des cancers du col sont bien plus élevés dans les pays en développement que dans les pays développés, cela est considéré comme un véritable agent de risque (Ashford *et al.*, 2005). Néanmoins, les infections cervicales à HPV sont en effet considérées comme des causes nécessaires, mais pas suffisantes pour générer un cancer, des facteurs endogènes, des facteurs exogènes, des facteurs liés à la vie sexuelle de la femme et l'hérédité expliquent pourquoi l'infection à HPV est une condition obligatoire, mais pas suffisante aux néoplasies cervicales (Kessabi, 2009).

7.1. Papilloma virus humain

L'agent étiologique principal du cancer du col de l'utérus est l'infection par les HPV dits de haut risque ou oncogènes. En effet, dans 99 % des biopsies, leur ADN est retrouvé, les HPV les plus fréquents sont les HPV 16 et 18 (70 %). L'HPV étant le virus le plus sexuellement transmis, sa transmission s'effectue le plus souvent par contact direct de la peau et de la muqueuse, l'infection par ce virus sera le plus souvent transitoire sans aucune conséquence clinique et s'élimine en quelque mois, seule la persistance de l'infection à HPV expose au risque de développer une lésion précancéreuse ou néoplasie intraépithéliale cervicale (CIN), puis un cancer du col (Courbiere *et al.*, 2014).

7.2. Facteurs endogènes

Les facteurs endogènes sont les facteurs liés à l'hôte et propres à l'individu tels que les facteurs génétiques, le statut immunitaire et l'hérédité.

- **Facteurs génétiques**

La présence de locus de susceptibilité à la tumeur du cancer du col utérin représente un point essentiel dans les facteurs génétiques liés à l'hôte interagissant avec les propriétés tumorigènes de l'HPV. Des recherches ont montré l'existence de plusieurs variations génétiques dans les loci de susceptibilité du cancer du col utérin (Bahrami *et al.*, 2017), des polymorphismes des gènes p53 et HLA de classe 2 sont parfois associés à une prédisposition au développement de dysplasies cervicales et des cancers ont été caractérisés, par exemple : les haplotypes HLA de classe 2 (tels que DRB1*1501-DQB1*0602) sont significativement associés aux cancers dus à HPV 16, alors que les haplotypes DR13 étaient négativement associés (Apple *et al.*, 1994 ; Maciag et Villa, 1999).

- **Statut immunitaire**

La réponse immunitaire de l'hôte élimine la majorité des infections à HPV, comme il existe chez certaines patientes l'établissement de l'infection persistante par le virus HPV. Une étape importante dans la configuration du cancer du col utérin est le développement de plusieurs mécanismes par les HPV pour éviter le système immunitaire de l'hôte. Ainsi, l'immunodépression joue un rôle dans la persistance des infections à HPV et donc dans la survenue du cancer du col utérin, l'immunodépression est la cause d'affaiblissement du

système immunitaire par le VIH ou par des médicaments ou encore par une greffe d'organes (Moodley *et al.*, 2009 ; Nunes *et al.*, 2018).

- **Hérédité**

L'hérédité favorise un terrain plus susceptible. En effet, l'incidence des cancers (ou certains cancers) est probablement élevée chez certaines familles (Bouuaert *et al.*, 1995). Le cancer de l'utérus est lié à une prédisposition héréditaire dans 5 % à 10 % des cas (Carrel, 2008).

7.3. Facteurs exogènes

Les facteurs exogènes favorisent soit l'infection par un HPV, soit la persistance de cette infection, parmi les facteurs exogènes : le tabagisme, les contraceptifs oraux et les facteurs nutritionnels.

- **Tabagisme**

Le tabagisme actif (> 15 cigarettes par jour) ou passif favorise la persistance de virus HPV et donc le développement du cancer du col utérin. La période de tabagisme intervient pour installer le virus sur les muqueuses du col utérin. Ainsi, les femmes fumeuses ont des quantités de nicotine plus importantes dans les mucus cervicaux que dans le sérum, ce qui s'explique par le pH du mucus cervical. Le risque d'avoir un cancer du col diminue chez les anciennes fumeuses, mais reste présent (Moore *et al.*, 2001 ; Hill *et al.*, 2005).

- **Contraceptifs oraux**

Une corrélation a été établie entre l'usage d'oestroprogestatifs et la survenue du cancer du col chez les femmes HPV positives, chez ces femmes, le risque est multiplié par quatre dès lors qu'elles utilisent une telle contraception pendant au moins 5 ans, il augmente avec la durée d'utilisation et diminue après l'arrêt du contraceptif. Les oestroprogestatifs agiraient en favorisant l'expression des gènes de certains HPV et en stimulant la prolifération des cellules du col, cette dernière action est mise en œuvre par des éléments hormonaux-dépendants du génome viral et par l'activation de récepteurs hormonaux. La pilule aurait donc un rôle essentiellement promoteur de l'infection à HPV (Moreno *et al.*, 2002 ; Munoz *et al.*, 2006).

- **Facteurs alimentaires**

Le facteur nutritionnel le plus probablement impliqué semble être une concentration plasmatique élevée en homocystéine (marqueur d'une carence en vitamine B6, B12 et en folate en l'absence de tout déficit enzymatique). Il semblerait qu'une alimentation riche en fruits, en légumes, en vitamines C, E et A ou encore en alpha et bêta carotène ait un rôle protecteur sur le cancer du col utérin (Munoz *et al.*, 2006 ; Isautier, 2012).

7.4. Facteurs liés à la vie sexuelle

La multiparité et précocité de la première grossesse, la précocité des rapports sexuels, la multiplicité des partenaires et le rôle du comportement masculin sont les caractéristiques de la vie sexuelle de la femme qui peuvent être des facteurs de risque du cancer du col de l'utérus.

- **Multiparité et précocité de la première grossesse**

La grossesse agit sur la zone de remaniement entre l'exocol et l'endocol et favorise l'infection par les HPV. La multiparité augmente le risque de développer un cancer du col chez les femmes ayant mené 7 grossesses. Le risque est quatre fois plus élevé par rapport aux nullipares. De même, le jeune âge lors d'une première grossesse est un facteur de risque (Hill *et al.*, 2005 ; Munoz *et al.*, 2006).

- **Précocité des rapports sexuels**

Le risque d'avoir un cancer est multiplié par deux si les premiers rapports sexuels ont lieu entre 15 ans et 17 ans du fait de l'immaturation cellulaire de la jonction pavimenteuse cylindrique (Rotkin, 1967 ; Courbiere *et al.*, 2014).

Les adolescentes sont plus sujettes au cancer du col utérin, en raison de la composition physiologique des muqueuses glandulaires et l'immunodépression cellulaire et humorale locale, ceci rend le col très vulnérable aux traumatismes subis lors des coïts, ces traumatismes facilitent les transformations malignes des cellules du col utérin (Baldauf *et al.*, 2011).

- **Multiplicité des partenaires**

La multiplicité des partenaires résulte du nombre de partenaires sexuels au cours de la vie ou du nombre de partenaires récents, elle augmente le risque de contracter des HPV et donc de développer des CIN (Munoz *et al.*, 2002). Certains chercheurs font intervenir

également le nombre élevé de rapports sexuels par semaine comme facteur d'aggravation du risque d'atteinte par l'HPV (Giraud *et al.*, 1997).

- **Rôle du comportement masculin**

Les partenaires masculins jouent un rôle dans la genèse du cancer du col utérin, les maris avaient des relations sexuelles avant et pendant le mariage, le risque de cancer du col augmentait chez leurs femmes. Ainsi, le risque augmente avec les maris ayant trois partenaires sexuels extraconjugaux ou plus (Agarwal *et al.*, 1993).

8. Symptômes du cancer du col de l'utérus

Il est possible que le cancer du col de l'utérus ne cause aucun signe ni symptôme aux tout premiers stades de la maladie. Les symptômes apparaissent souvent une fois que la tumeur s'est développée dans les tissus et organes voisins (Isautier, 2012).

Les signes et symptômes du cancer du col de l'utérus peuvent être:

- saignements vaginaux anormaux survenant après une relation sexuelle
- menstruations inhabituellement longues ou abondantes
- douleur lors des relations sexuelles
- difficulté à uriner
- difficulté à aller à la selle (Isautier, 2012)

9. Dépistage du cancer du col de l'utérus

Le dépistage du cancer du col par la réalisation de frottis cervico vaginal (FCV) tous les deux ou trois ans a montré qu'on pouvait obtenir une réduction importante de la mortalité par cancer du col. Le prélèvement se fait en dehors des règles et de toute infection avec un balayage large de la zone de jonction et écouvillonnage de l'endocol. Le prélèvement est étalé sur lame, fixé et envoyé au laboratoire, accompagné de renseignements cliniques (Courbiere *et al.*, 2014).

Le FCV doit être effectué selon le schéma suivant (Courbiere *et al.*, 2014) :

- premier FCV au début de l'activité sexuelle
- deuxième FCV un an après le premier
- puis un FCV tous les deux ou trois ans

10. Traitements du cancer du col de l'utérus

Le but est de traiter le col, le vagin, les paramètres et les ganglions qui drainent le col.

- **Chirurgie** : la colpo-hystérectomie élargie classiquement réalisée par laparotomie associée systématiquement à un curage pelvien (Courbiere *et al.*, 2014).
- **Radiothérapie** : on utilise généralement une association d'irradiation externe et de curiethérapie (Courbiere *et al.*, 2014).
- **Chimiothérapie** : elle s'adresse aux formes métastatiques, la chimiothérapie entraîne une réduction du volume tumoral dans 50 % des cas (Courbiere *et al.*, 2014).

Chapitre II :
physiopathologie
du cancer du col
de l'utérus

1. Papillomavirus humain

Les HPV sont des virus à ADN caryotrope de petite taille, de la famille papovaviridea, ils mesurent 50 nm de diamètre, ils se présentent comme une boucle d'ADN double hélice entourée d'une enveloppe protéique, la capsid, d'une forme icosaédrique formée de 72 capsomères. Ils n'infectent que les muqueuses (buccale et génitale) et les épithéliums séchés (peau), et ils sont responsables de tumeurs bénignes et malignes (Alba *et al.*, 2009 ; Santos-Lopez *et al.*, 2015).

Des études successives ont montré que ce virus était la principale cause du cancer du col utérin (Alba *et al.*, 2009 ; Alain *et al.*, 2010).

2. Génome des HPV

Le génome des HPV est un génome circulaire double brin avec une taille de 8 Kb, constitué de trois régions principales : une région précoce, une région tardive et une région de contrôle (LCR ou région non codante) (Figure 03). Les trois régions sont séparées par deux sites de polyadénylation (pA) : site pA précoce (A_E) et site pA tardif (A_L) (Zhi-Ming *et al.*, 2006).

La région précoce occupe plus de 50 % du génome et code six cadres de lectures E1, E2, E4, E5, E6, E7 codant pour des protéines individuelles. E1 et E2 sont impliqués dans la réplication de l'ADN viral et la régulation de transcription précoce, E4 est exprimé dans une infection productive associée à un collapsus de filaments de cytotkératine, E5, E6 et E7 sont des oncogènes viraux, leur expression induit l'immortalisation et la transformation des cellules (Zhi-Ming *et al.*, 2006).

La région tardive couvre près de 40 % du génome viral, se situe en aval de la région précoce et code les Open Reading Frame (ORF) L1 et L2 pour la traduction des protéines de capsid majeure (L1) et mineure (L2) (Zhi-Ming *et al.*, 2006).

La région LCR est un segment de 850 pb (environ 10% du génome de HPV), c'est une région non codante, mais porte l'origine de réplication ainsi que de multiples sites de liaison au facteur de transcription (Zhi-Ming *et al.*, 2006).

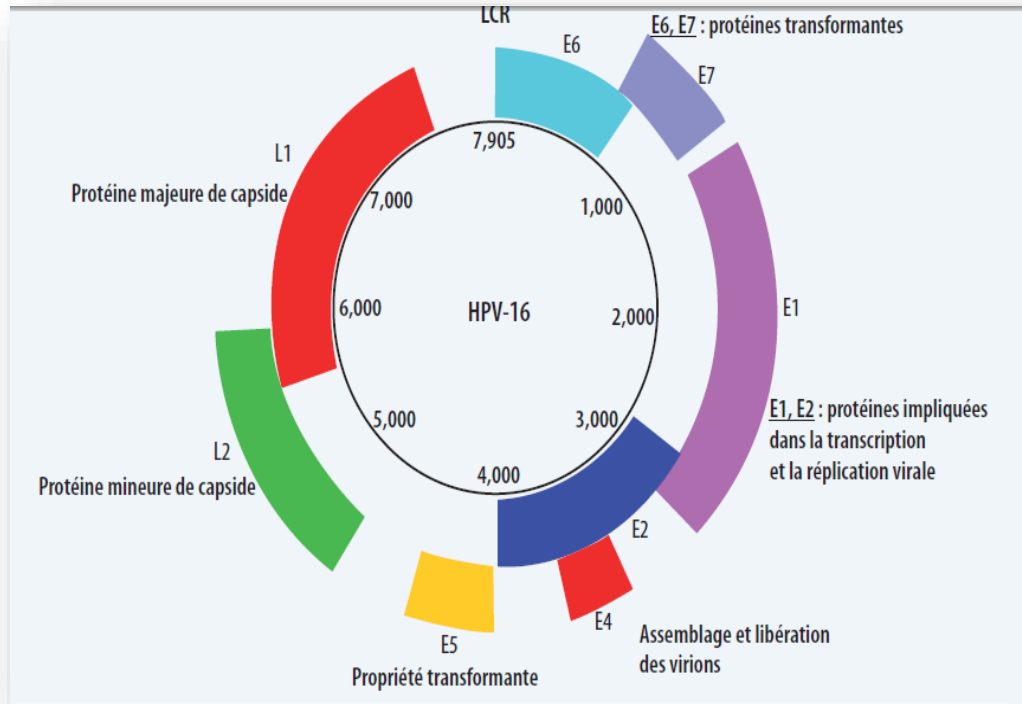


Figure 03 : Le génome d'HPV 16 (Roncin *et al.*, 2009)

3. Classification des HPV

3.1. Selon la séquence génomique

La séquence la plus utilisée pour la classification des HPV est celle du gène L1, qui est hautement conservée, bien que d'autres gènes tels qu'E6 et E7 aient également été utilisés. Pour qu'un nouveau type d'HPV soit reconnu, il faut que la séquence du gène L1 varie de plus de 10 % par rapport aux types viraux déjà connus. Si la différence est de 2 à 10 %, il est classé en tant que sous-type viral et si la différence est inférieure à 2 %, il est défini en tant que variant viral (Santos-Lopez *et al.*, 2015).

3.2. Selon le tropisme viral

On distingue les types d'HPV à tropisme cutané et les HPV à tropisme muqueux. Les HPV à tropisme muqueux appartiennent au genre alpha-papillomavirus et ils sont impliqués dans le développement des maladies bénignes et malignes par exemple : cancer du col utérin, de la tête, anal et du cou, alors que les HPV à tropisme cutané appartiennent au genre bêta-papillomavirus, gamma, mu et nu. Cependant, cette distinction n'est pas toujours absolue, certains types d'HPV nommés (mixte) n'ayant pas un tropisme strict pour la peau ou les muqueux (Segondy, 2008).

3.3. Selon le potentiel oncogénique

Les HPV peuvent également être classés en fonction de leur potentiel oncogénique, mais cette classification prend en considération principalement les HPV à tropisme muqueux, car elle est basée sur le risque du cancer du col de l'utérus associé à HPV. Le centre international de recherche sur le cancer (CIRC) a classé les HPV en trois groupes : oncogènes, possiblement/probablement oncogènes et non oncogènes (Kozańska *et al.*, 2019).

4. Transmission des HPV

Les rapports sexuels sont considérés comme la principale voie de transmission des HPV. La probabilité médiane de transmission des HPV par sexe est de 40%. Cependant, il existe également d'autres modes de transmission non sexuelle possibles, mais représentent des voies mineures de contamination, notamment la transmission par vêtements et surface de contact, la transmission maternofoetale ainsi que la transmission par lait maternel (Gavillon *et al.*, 2010 ; Kero *et al.*, 2019) (Tableau 02).

Tableau 02 : Modes de transmission de l'infection à HPV (Gavillon *et al.*, 2010)

Voies de transmission possibles	Impact réel sur la contamination par HPV
Transmission sexuelle	+++
Rapports avec pénétration vaginale ou anale	+++
Rapports sans pénétration	+
Transmission non sexuelle	+
Transmission par vêtements ou surface de contact	+/-
Transmission maternofoetale	+
Transmission par lait maternel	-

5. Cycle viral des HPV

Les HPV présentent une spécificité d'espèce et ne se répliquent que dans les cellules des épithéliums stratifiés. Les HPV infectent les cellules épithéliales pour mener à bien leur cycle de vie (Alain *et al.*, 2010) (figure 04).

Les cellules de la couche basale donnent l'accès à des particules infectieuses pour initier l'infection virale. L'attachement du virus à la cellule hôte nécessite la reconnaissance entre ces derniers via des récepteurs. Le virus pénètre dans l'épithélium à la faveur d'une microlésion. La décapsidation se fait ensuite par la rupture des liaisons disulfures intacapsomériques permettant à l'ADN viral d'être transporté dans le noyau (Doorbar, 2004 ; Alain *et al.*, 2010).

Après l'infection, le virus maintient son génome sous forme d'un épisome à faible nombre de copies (de 10 à 200) dans les cellules basales de l'épithélium. Les protéines virales E1 et E2 sont exprimées afin de maintenir l'ADN viral tant qu'épisome et de faciliter la ségrégation correcte des génomes lors de la division cellulaire (Doorbar, 2004 ; Alain *et al.*, 2010).

Une fois le virus maintient son génome, la différenciation terminale normale est retardée et le cycle cellulaire est maintenu. Les HPV stimulent la progression du cycle cellulaire par les deux oncoprotéines E6 et E7 (Doorbar, 2004).

Pour la production de virions, les HPV doivent amplifier leur génome viral. Au niveau des cellules basales, seuls les gènes précoces sont exprimés, y compris E1, E2, E4 et E5. L'assemblage du complexe E1/E2 sur l'origine virale permet la réplication des génomes viraux en l'absence de synthèse d'ADN cellulaire. Les autres protéines telles que les ADN polymérase/primase sont fournies par la cellule hôte. Les génomes nouvellement répliqués serviraient de matrices pour l'expression ultérieure d'E1 et d'E2, ce qui faciliterait une amplification supplémentaire des génomes viraux (Doorbar, 2004 ; Kozańska *et al.*, 2019).

Une fois l'amplification du génome viral terminée, les HPV expriment deux protéines structurales (L1 et L2) dans les couches supérieures du tissu infecté, ce qui permet l'assemblage de virions dans les couches supérieures de l'épithélium. Pour réussir, le virus doit finalement échapper aux cellules infectées et survivre extracellulairement avant la réinfection. Les HPV ne sont pas lytiques et ne sont libérés que lorsque les cellules infectées atteignent la surface épithéliale (Doorbar, 2004).

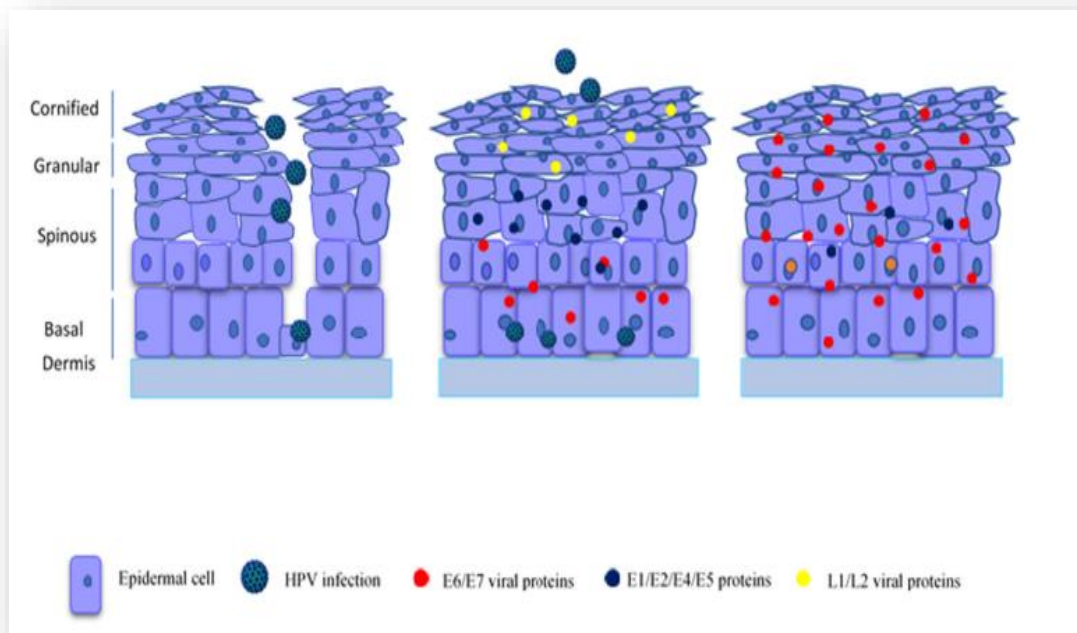


Figure 04 : Cycle viral des HPV (Estevao *et al.*, 2019)

6. HPV et carcinogénèse

Lors d'infection par l'HPV, certains sujets développent des lésions cervicales de bas grade, témoins d'une dysplasie légère qui peuvent se transformer en lésions de haut grade, mais sans intégration de l'ADN viral au génome de la cellule haute. En cas d'une dysplasie sévère, le virus intègre son génome à celui de l'hôte. L'intégration est une étape indispensable à la transformation, ce processus est régulièrement observé dans les cancers, l'intégration virale se fait généralement au niveau des régions E1 E2 et conduit à une linéarisation du génome. La perte d'expression d'E2 induit une dérégulation des gènes E6 et E7 ce qui contribue à une augmentation de leur expression (Alba *et al.*, 2009 ; Kozańska *et al.*, 2019) (Figure 05).

Lorsque les cellules épithéliales sont infectées, les mécanismes de défense cellulaires consistant en un contrôle de la séquence d'ADN sont activés. La phase de la révision est réalisée en utilisant un groupe de protéines centrées sur la p53 et la protéine Rb. La cellule est programmée pour éliminer les régions virales, mais leur élimination est impossible. Le grand danger ici est que l'HPV évite la cellule de défense en produisant ses propres protéines. Les ORF E6 et E7, transcrivent et produisent les oncoprotéines E6 et E7 qui pourraient bloquer la p53 et la protéine Rb par l'intermédiaire de différents mécanismes (Alba *et al.*, 2009) (Figure 06).

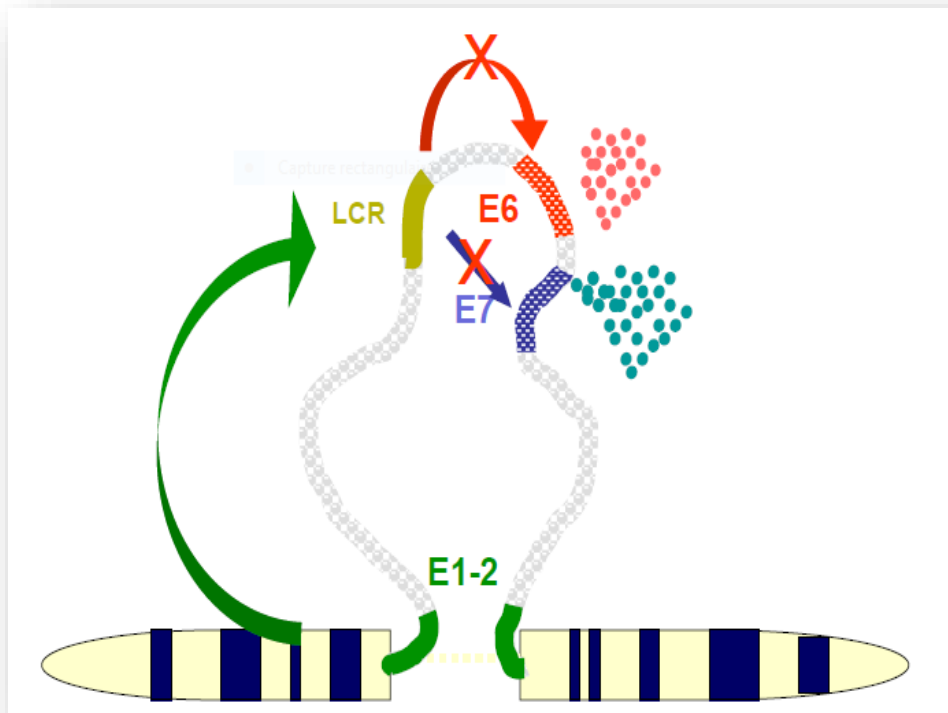


Figure 05 : Intégration d'HPV dans le génome de la cellule hôte (Alba *et al.*, 2009)

6.1. Rôle d'E6 dans la transformation

L'oncoprotéine E6 joue plusieurs rôles dans le développement tumoral via différents mécanismes. Néanmoins, dans l'inactivation et la dégradation de la protéine p53, dans l'inactivation de l'apoptose ainsi que dans le maintien des télomères par activation de la télomérase (Mantovani *et al.*, 2001).

- **Inactivation de p53 par E6**

La principale caractéristique de l'activité oncogénique de l'oncogène E6 des HPV à risque élevé est la dégradation du suppresseur de la tumeur p53. Normalement, le taux de p53 est régulé au sein de la cellule par mdm2. Cependant, en cas d'inhibition par HPV, cette régulation se retrouve inhibée. La liaison de l'oncoprotéine E6 à p53 conduit à l'ubiquitinylation de la protéine p53 via le complexe E6/E6AP puis finalement à sa dégradation par la protéasome, l'E6AP seul est incapable de lier la p53 et de la dégrader. Les E6 de bas et hauts risques sont capables de lier l'extrémité C-terminale de p53, seuls les E6 de hauts risques sont capables de lier la région cœur de p53. La dégradation de p53 va permettre à la division cellulaire de se poursuivre (Mantovani *et al.*, 2001).

E6 inhibe l'activité de p53 par différents mécanismes, premièrement l'interaction d'E6 avec p53 induit un changement de la conformation de p53 ce qui conduit à une inhibition de sa liaison à l'ADN ou à une dissociation des complexes ADN/p53 déjà formés, le second mécanisme est sa séquestration au niveau du cytoplasme, celle-ci résulterait d'un masquage des signaux de localisation nucléaire au niveau C-terminal de p53 ou à l'activation de son export. Le troisième mécanisme par lequel E6 inhibe la p53 consiste à un arrêt de la transactivation induite par p53 grâce à une interaction avec CBP/p300 (Patel *et al.*, 1990 ; Mantovani *et al.*, 2001).

- **E6 et apoptose**

Une des premières conséquences de la dégradation de p53 est l'inhibition de l'apoptose qui permet d'éliminer les cellules infectées. Les protéines E6 inhibent l'apoptose. Deux voies d'apoptose sont utilisées par la cellule : la voie extrinsèque et la voie intrinsèque. E6 perturbe les deux mécanismes (Mantovani *et al.*, 2001).

La voie extrinsèque est induite par des signaux extérieurs qui vont conduire à l'activation des récepteurs de mort au niveau de la surface cellulaire. Ces récepteurs sont des récepteurs au ligand TNF (comme TNF R-1), après liaison du ligand, les récepteurs recrutent des molécules adaptatrices comme FADD, TRADD et les caspases 8 et 10. E6 inhibe cette apoptose en interagissant avec TNF-R1, FADD et la caspase-8 (Finzer *et al.*, 2002 ; Estevao *et al.*, 2019).

La voie intrinsèque implique un signal cellulaire tel qu'un dommage à ADN ou un stress oxydatif. En cas de stress, les protéines pro-apoptotiques sont activées ce qui induit la formation de pores au sein de la membrane mitochondriale et conduit à la libération de cytochrome C dans le cytoplasme et à la formation de l'apoptosome. Les protéines E6 sont capables d'inhiber cette voie d'apoptose en liant la protéine BAK et BAX (membres des protéines pro-apoptotique) et en induisant ses dégradations (Thomas *et al.*, 1999 ; Yeo-Teh *et al.*, 2018).

- **E6 et activation des télomérases**

La télomérase est responsable du maintien des télomères. Elle est activée au sein des cellules germinales, au sein des cellules souches et au sein des cellules cancéreuses. La protéine E6 des HPV à haut risque active la transcription du gène hTERT qui code la sous unité catalytique limitante de la télomérase favorisant son activité et donc le maintien des télomères au cours des divisions successives (Yeo-Teh *et al.*, 2018).

6.2. Rôle d'E7 dans la transformation

Le gène E7 code pour une phosphoprotéine qui est très efficace pour dérégler le cycle cellulaire. E7 est impliquée dans la liaison avec la protéine Rb et avec les protéines de la même famille p107 et p130 qui sont impliquées dans la régulation du cycle cellulaire. Le rôle d'E7 dans l'abolition de la fonction de Rb au cours du cycle cellulaire est que l'oncoprotéine E7 se fixe spécifiquement à la forme hypophosphorylée de pRb, ce qui conduit à la libération du facteur de transcription E2F. E2F va être libéré non pas suite à la phosphorylation de pRb, mais suite à sa dégradation. Cela entraîne l'expression des gènes de la phase S, cycline A et la cycline E ainsi que l'accumulation de p16INK4A (une kinase inhibitrice cyclique indépendante). De plus, E7 inactive les régulateurs essentiels de la transition G1/S, à savoir les inhibiteurs de cycline p21 et p27, ces protéines régulent la prolifération cellulaire et leur inactivation conduit à une prolifération cellulaire non contrôlée en maintenant l'activité de la CDK2. L'induction d'une prolifération aberrante par l'oncoprotéine E7 est un signal inducteur d'apoptose qui est bloqué par les actions de l'oncoprotéine E6 (Estevao *et al.*, 2019).

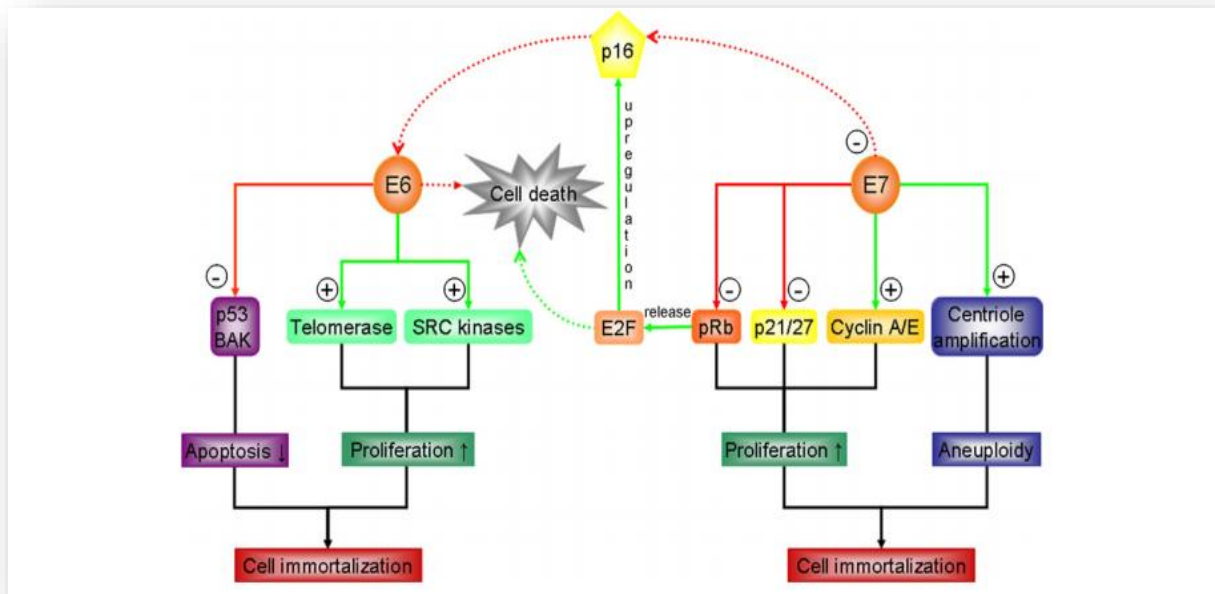


Figure 06 : Interactions cellulaires des oncoprotéines E6 et E7 et leur synergie dans l'induction de l'immortalisation cellulaire. E6 active la télomérase et les SRC kinases et inhibe p53 et BAK. E7 inhibe la pRb, entraînant la libération d'E2F et la régulation de p16, qui est inactivée par E7. De plus, E7 stimule les cyclines A et E, inactive p21 et p27 et induit une amplification du contrôle. E6 et E7 sont en synergie dans l'immortalisation cellulaire. E6 empêche l'apoptose induite par les taux élevés d'E2F, tandis qu'E7 protège E6 de l'inhibition par p16 (Boulet *et al.*, 2007).

Chapitre III :
enzyme de
conversion de
l'angiotensine

1. Enzyme de conversion de l'angiotensine

L'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) ou kininase II ou encore dipeptidyl-carboxypeptidase est une protéine métalloprotéase de la famille M2, avec une activité dépendante du zinc et des ions de chlorure basés sur un site actif His-Glu-X-X-His, d'une forme elliptique comme « coquille de noix » creusée d'un sillon central situé sous un couvercle formé par trois hélices alpha, et qui est le siège de l'activité catalytique, elle est largement distribuée sur la surface des cellules endothéliales et épithéliales et elle possède plusieurs substrats comme l'angiotensine I, la bradykinine et l'enképhaline. Trois ECA coexistent chez l'homme, l'ECA somatique (ECAso) de 146 kDa particulièrement abondante au niveau des endothéliums vasculaires produit l'angiotensine II vasoactive, l'ECA testiculaire (ECAt) ou germinale (ECAg) de 80 kDa est indispensable à la fertilité et l'ECA membranaire présente à la surface des cellules, comprend un domaine extracellulaire, transmembranaire et cytosolique. L'ECAso et l'ECAt diffèrent en ce que la forme somatique a deux sites actifs (domaine C et N) alors que la forme testiculaire possède un seul site actif analogue à la partie C-terminale de la forme somatique (Baudin, 2002 ; Sayed-tabatabaei *et al.*, 2006 ; Guillaume, 2009 ; Soubrier *et al.*, 2018) (Figure 07).

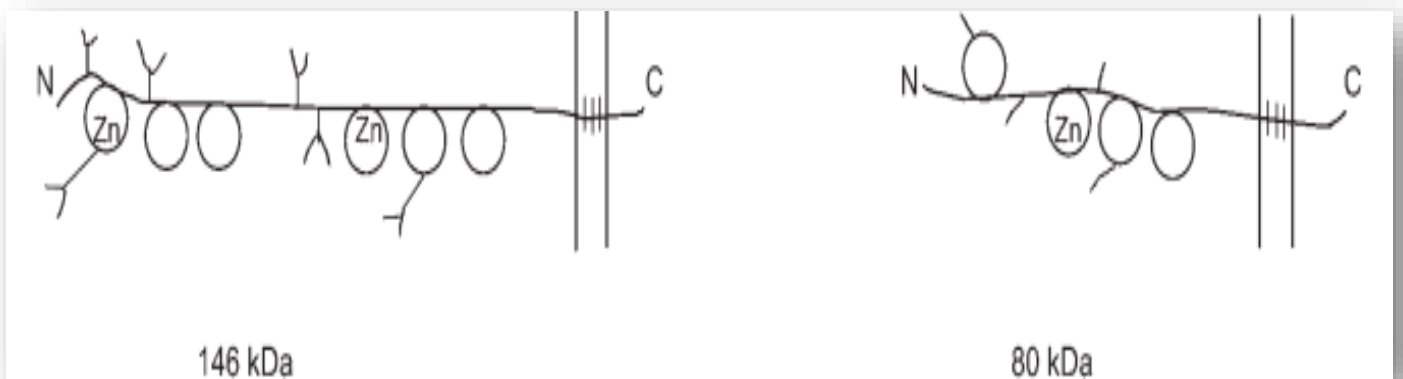


Figure 07 : Structure de l'enzyme ECA somatique et germinale (Baudin, 2002)

2. Gène de l'ECA

Les ARNm somatiques et germinaux d'ECA sont transcrits à partir d'un seul gène unique, ceci est démontré par des expériences de Southern blot et un clonage de gène. Les ARNm somatiques et germinaux pourraient être générés soit par transcription à partir de sites d'initiation alternatifs sous le contrôle de promoteurs séparés, soit par épissage différentiel d'un transcrit d'ARN primaire commun (Soubrier *et al.*, 2018).

Le gène ECA possède deux promoteurs fonctionnels, le promoteur somatique (Spro) est situé dans l'extrémité 5' du premier exon de gène, alors que le promoteur germinale (Gpro) est un promoteur interne spécifique, de 91 pb situé dans l'intron 12 (Figure 08). La structure intron-exon du gène ECA a été déterminée par cartographie de restriction des clones génomiques et par séquençage des frontières intron-exon (Sayed-tabatabaei *et al.*, 2006 ; Guillaume, 2009 ; Soubrier *et al.*, 2018).

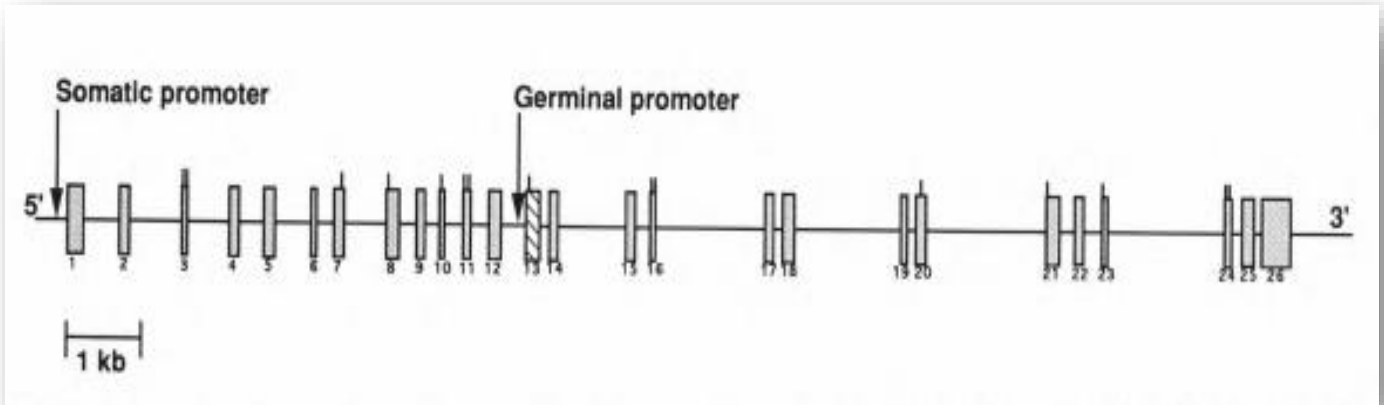


Figure 08 : Localisation des promoteurs somatique et germinale de gène ECA (Soubrier *et al.*, 2018)

Le gène ECA est situé sur le bras long du chromosome 17 (17q23) (Figure 09), de 21kb, possède 26 exons et 25 introns. L'ARNm somatique transcrit de l'exon 1 à 26, mais l'exon 13 est épissé dans la transcription de ce gène pour former 25 exons dans le transcrit endothéliale mature. Tandis que, l'ARNm germinale est transcrit de l'exon 13 jusqu'à l'exon 26 (Sayed-tabatabaei *et al.*, 2006 ; Guillaume, 2009 ; Soubrier *et al.*, 2018).

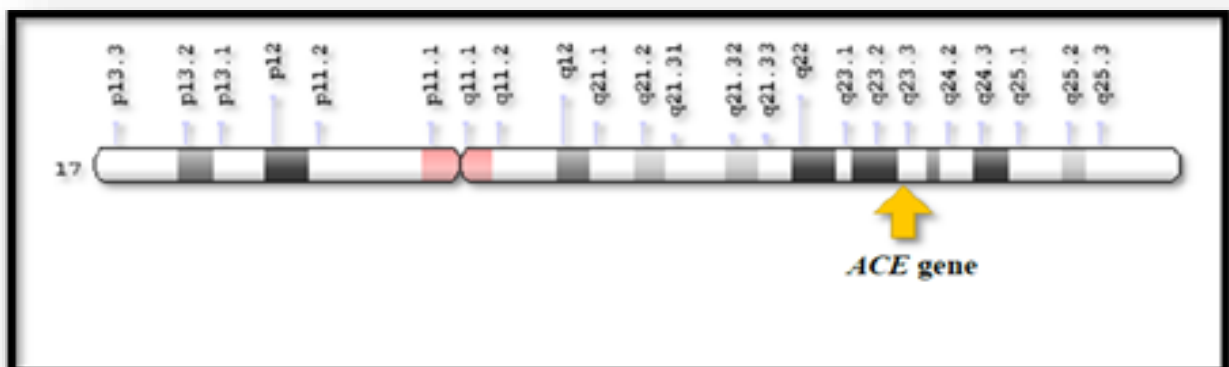


Figure 09 : Localisation du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine sur le chromosome 17 (Saquer *et al.*, 2016).

Les exons 11 à 14 codent pour le domaine N-terminal de la protéine ECA et les exons 17 à 24 codent pour le domaine C-terminal, ces exons sont très similaires en taille et en séquence. Cependant, la taille des introns séparant les exons homologues n'est pas conservée.

L'ADNc de l'ECA présente une homologie interne endothéliale, cette homologie a démontré que le gène ECA pourrait résulter d'une duplication du gène ECA ancestral, le gène ECA semble être dupliqué chez toutes les espèces de mammifères où le gène ECA a été cloné. La duplication du gène produite tôt dans l'évolution (Sayed-tabatabaeiet *al.*, 2006 ; Guillaume, 2009 ; Soubrieret *al.*, 2018).

3. Fonctions de l'ECA

La forme testiculaire d'ECA est nécessaire à la fertilité alors que l'ECA somatique joue un rôle crucial dans l'homéostasie vasculaire. En présence de Zn^{2+} , l'ECA hydrolyse la liaison peptidique de Phe 8-His 9 de décapeptide angiotensine I (Ang I) pour libérer l'octapeptide angiotensine II (Ang II) et le dipeptide C-terminal His-Leu. L'ECA peut également dégrader plusieurs peptides vasoactives tels que l'enképhaline, la substance p et la neurotensine. Ainsi, elle dégrade *in vitro* la surexpression de peptides amyloïdes dans la maladie d'Alzheimer (Zhao *et al.*, 2008 ; Guillaume, 2009).

En plus de son action sur l'activation de l'Ang II, cette enzyme a également une action inhibitrice des kinines : l'une d'entre elles, la bradykinine, avec comme conséquence directe une vasodilatation impliquée dans les réactions inflammatoires (Sayed-tabatabaeiet *al.*, 2006).

Dans les cellules germinales testiculaires, l'ECA est un facteur qui libère la protéine GPIase ancrée dans le glycosylphosphatidyinositol (GPI) à partir de la membrane du spermatozoïde. En raison de l'ECA knock-out, le spermatozoïde a perdu la capacité de liaison à l'ovule. (Kondohet *al.*, 2006).

4. Polymorphismes de l'ECA

Plus de 160 polymorphismes du gène de l'ECA sont recensés par les dossiers du centre national d'information sur la biotechnologie (NCBI), dont la plupart sont des polymorphismes mononucléotidique (SNP), seulement 34 de ces polymorphismes sont situés dans des régions codantes, 18 d'entre eux sont des mutations faux-sens (Sayed-tabatabaeiet *al.*, 2006).

Le clonage de l'ADNc a permis d'identifier un polymorphisme d'insertion (I) ou de délétion (D) (I/D), qui consiste en l'absence (allèle D de délétion) ou la présence (allèle I d'insertion) d'un fragment d'ADN de 287 pb près de l'extrémité 3' de l'intron 16 du gène ECA et correspond à une séquence répétitive Alu (Figure 10).

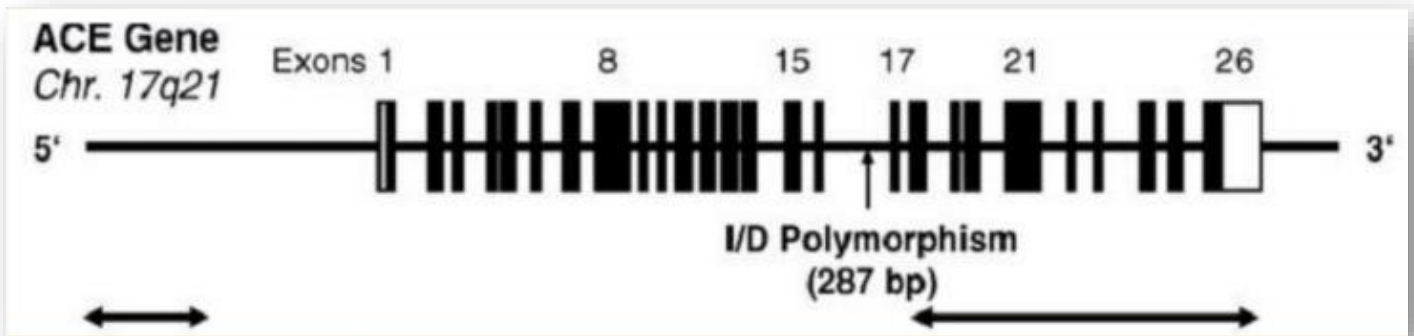


Figure 10 : Polymorphisme génétique de l'ECA (Roskopf *et al.*, 2007)

Il existe trois génotypes : homozygotes de suppression DD, homozygotes d'insertion II et hétérozygotes ID, de sorte que les paramètres cinétiques sériques de l'ECA ne diffèrent pas en raison du génotype, mais le polymorphisme représente 47% de la variance phénotypique totale du taux sérique d'ECA. On observe chez les individus homozygotes pour l'allèle I (génotype II) des taux sérique moindre que les individus homozygotes pour l'allèle D (génotype DD) (Génotype DD étant deux fois plus élevé que celui du génotype II) (Hiroshi *et al.*, 1997 ; Baudin, 2002 ; Soubrier *et al.*, 2018).

5. ECA et cancers

Ces dernières années, plusieurs preuves ont montré que l'ECA était associé à la pathogenèse du cancer, elle influence l'adhésion, la prolifération, la migration, l'angiogenèse et les comportements métastatiques des cellules tumorales. Il existe certaines études sur le polymorphisme de gène ECA et le risque avec divers cancers. Cependant, les résultats restent incohérents et conflictuels (Zhang *et al.*, 2014).

Dans plusieurs études, les tumeurs de plus grande taille et les métastases étaient associées de manière significative au génotype DD. Ainsi, les individus qui possèdent les allèles à faible activité (génotype II) auraient un risque de cancer plus faible que ceux à allèles à forte activité (génotype DD) (Dolley-Hitze *et al.*, 2013 ; Zhang *et al.*, 2014).

Le génotype DD perd la régulation de l'expression de l'ECA en raison de l'absence d'une séquence d'ADN de 287 pb, ce qui augmente les concentration et l'activité plasmatique de l'ECA et conduit à l'augmentation de l'activité de l'angiotensine II, ce qui peut favoriser le développement de la tumeur (Han *et al.*, 2012).

Certains chercheurs ont montré que le risque du cancer peut être réduit en raison d'inhibition de l'ECA. En 1998, a été démontré pour la première fois que l'utilisation à long

terme d'inhibiteurs de l'ECA pourrait jouer un rôle protecteur contre le cancer (Lever *et al.*, 1998).

Partie pratique

Patients et méthodes

Notre étude cas témoin de 12 patientes présentant un cancer du col utérin, recrutées et prises en charge au niveau du service de radiothérapie du Centre Hospitalier Universitaire de Constantine (CHUC) durant la période de mars et mai 2019. Les données des patientes ont été recueillies à partir des dossiers des malades et suite à un interrogatoire fait par nous-mêmes.

1. Population d'étude

1.1. Population malade

L'étude que nous avons entreprise est constituée de 12 sujets présentant un cancer du col de l'utérus, sélectionnés parmi les patientes admises au sein du service de radiothérapie du CHUC et qui réfèrent à nos critères d'exclusion et d'inclusion.

- **Critères d'inclusion**

- Des patientes présentant un cancer du col de l'utérus diagnostiqué par des médecins spécialistes

- Tous âges confondus

- **Critères d'exclusion**

- Tous sujets refusant de faire le prélèvement

1.2. Population témoin

15 femmes volontaires saines constituent la population témoin selon les critères d'inclusion et d'exclusion suivants.

- **Critères d'inclusion**

- Sujets de sexe féminin

- Tous âges confondus

- Sujets mariées

- **Critères d'exclusion**

- Sujets ayant des antécédents personnels ou familiaux de cancer du col utérin

- Femmes enceintes

- Sujet sous traitement médical

2. Méthodologie

2.1. Questionnaire

Un questionnaire (Annexe 1) est établi pour la population d'étude comprenant toutes les informations nécessaires suite à un interrogatoire soit de la patiente, soit du témoin effectué par nous-mêmes, en plus d'une consultation du dossier médical de la patiente.

2.2. Prélèvement sanguin

Le prélèvement sanguin s'effectue selon certains critères :

- le prélèvement se fait lors de la consultation ou lors de l'hospitalisation d'une patiente

- il est fait par des infirmier (e) (s)

- il est réalisé par ponction veineuse sur deux tubes EDTA de 4 ml.

2.3. Étiquetage

Tous les prélèvements sont étiquetés, portant le nom et le prénom des patientes et la date du prélèvement. Les tubes sont conservés pour l'extraction de l'ADN à une température de 4 °C au sein du laboratoire de biochimie CHUC, jusqu'au temps de manipulation.

3. Étude moléculaire

Deux étapes sont effectuées dans notre étude moléculaire : une extraction de l'ADN et une PCR directe pour la recherche du polymorphisme I/D du gène de l'ECA.

3.1. Extraction de l'ADN

L'extraction de l'ADN est une technique d'isolement de l'ADN contenu dans les cellules. Les méthodes d'extraction des acides nucléiques sont diverses, celle employée dans notre étude est une méthode utilisant un solvant inorganique, le NaCl.

- **Principe**

L'ADN de chaque patiente est extrait à partir de leucocytes du sang périphérique recueillis dans un tube EDTA, suivant la technique au NaCl. Les leucocytes sont séparés du sang total par une lyse hypotonique des globules rouges, ensuite, ils seront 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, et une protéinase K qui dénature et dégrade les protéines. Dans le lysat, l'ADN nucléaire ainsi libéré est associé aux différentes protéines qui seront digérées et éliminées par précipitation au NaCl. La pelote d'ADN formée dans le surnageant par précipitation avec l'éthanol pur. L'ADN est solubilisé en phase aqueuse par de l'eau distillée stérile (Annexe 2).

3.2. Recherche du polymorphisme I/D de l'ECA

Le polymorphisme de l'ECA est une délétion (D) ou une insertion (I) d'un fragment de 287 pb dans l'intron numéro 16 du gène de l'ECA. La détermination du génotype a été effectuée selon une amplification par PCR suivie d'un contrôle de PCR sur gel d'agarose.

3.2.1. Amplification par PCR

La PCR est une méthode d'amplification génique *in vitro*, son principe repose sur la duplication en grand nombre d'une séquence d'ADN connue, au cours desquels deux amorces dirigent l'amplification du fragment d'ADN double brin qu'elles encadrent.

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

Un milieu réactionnel de la PCR ou un mix de PCR d'un volume final de 10 µl a été préparé. Le mix comprend des désoxyribonucléotides triphosphates, une enzyme d'amplification *in vitro* (la Taq polymérase), un environnement réactionnel (tampon, MgCl₂, H₂O) et deux amorces oligonucléotidiques (Tableau 03). La quantité est multipliée par le nombre de tubes voulus + un tube témoin négatif (uniquement le mélange sans ADN). Les amorces utilisées sont :

ECA 1R (Reverse): 5' CTG GAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT 3'

ECA 1F (Forward): 5' GAT GTG GCC ATC ACA TTC GTC AGA T 3'

Tableau 03: Composants du milieu réactionnel de la PCR.

MIX	Vol (µl)/tube de PCR
H2O	4,02
Tampon	1
MgCl2	0,3
dNTP	1,6
ECA 1R	1
ECA 1F	1
Taq polymérase	0,08
ADN	1

- **Déroulement des cycles de la PCR**

La réaction de la PCR comporte trois étapes (dénaturation, hybridation, élongation) qui se dérouleront à des températures différentes de façon cyclique. Le procédé s'effectue en une trentaine de cycles.

Nous avons programmé le thermocycleur pour 30 cycles dont chacun est constitué d'une série de trois étapes : dénaturation de l'ADN double brin, hybridation des amorces et élongation par la polymérase (Tableau 04).

Tableau 04: Conditions d'amplification de la PCR.

Nombre de cycles	Étapes	Température (°C)	Durée
1	Dénaturation initiale	95	5 min
30	Dénaturation	95	30 s
	Hybridation	65	30s
	Elongation	72	30s
1	Élongation finale	72	2 min

3.2.2. Contrôle des produits de la PCR

Il nous permet de vérifier le bon déroulement de la technique de PCR et d'observer si une éventuelle contamination de l'ADN a eu lieu (grâce au témoin négatif). Ce contrôle est assuré par une électrophorèse sur gel d'agarose à 2% sur une cuve horizontale.

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

Le gel a été préparé en mélangeant 2g de poudre d'agarose avec 100ml du TBE 1X(Tris Borate EDTA) (Annexe 03) auquel nous avons ajouté 10 µl de BET (Bromure d'éthidium), un agent intercalant se fixant entre les bases nucléiques rendant l'ADN fluorescent par exposition aux UV. Le gel est déposé sur une plaque d'une cuve horizontale où l'on a déposé un peigne. Nous laissons le gel se polymériser à l'air libre.

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

Le contrôle de la taille des fragments amplifiés s'effectue par une électrophorèse horizontale sur un gel d'agarose à 2 %. Dans chaque puits du gel, la quantité de 10 µl du produit de PCR mélangée à 3µl d'un tampon de charge a été déposée. Ce dernier permet de suivre le front de migration. Parallèlement un échantillon sans ADN (blanc), est inclus dans la série à amplifier et sert de contrôle négatif (-). Un marqueur de poids moléculaire 100 pb est déposé dans le dernier puits pour déterminer la taille des fragments. Le dépôt se fait du côté cathode (-) et le système est soumis à une migration sous un courant de 100 volts pendant 40 minutes.

Après la migration, le gel est soumis au rayon UV dans un Transilluminateur. Les molécules du BET fixées à l'ADN émettent une lumière visible (fluorescence) et photographiable et permettent de visualiser les fragments amplifiés sous forme de bandes fluorescentes.

- **Profil électrophorétique**

Le profil électrophorétique montrant une seule bande de 490 pb, représente le phénotype homozygote inséré I/I, une seule bande de 190 pb correspond au type homozygote délété D/D, le génotype hétérozygote I/D est représenté par deux bandes de 190 et 490 pb (Figure 13).

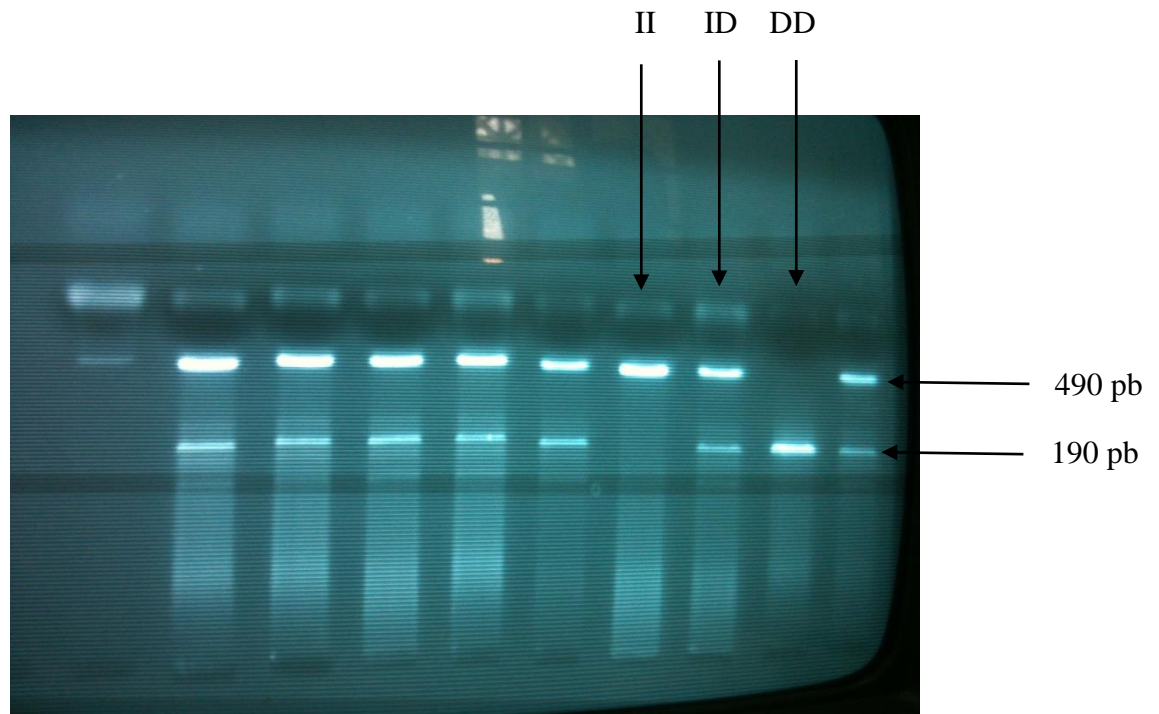


Figure 11 : Profil électrophorétique des fragments amplifiés par PCR du gène de l'ECA sur gel d'agarose à 2 %.

4. Étude statistique

Notre enquête de type cas témoins consiste à comparer la fréquence d'exposition antérieure à un ou plusieurs facteurs(s) de risque dans un groupe de « cas » atteints de la maladie étudiée, et dans un groupe de « témoins » indemnes de celle-ci. Toutes les données de notre étude ont été traitées à l'aide de logiciel Microsoft Excel 2007 et par feuille de calcul des Odds ratio.

4.1. Calcul de l'Odds Ratio (OR)

L'OR représente une mesure d'association épidémiologique entre un facteur et une maladie, en particulier lorsque la maladie est rare parmi la population.

Pour calculer l'OR nous avons établi un tableau de contingence : il est sous forme de tableau croisé 2x2. Le statut malade /non malade des sujets de l'étude est présenté en colonne et le caractère exposé/non expose en ligne.

	Malades	Témoins
Exposé	A	C
Non exposé	B	D

L'intensité de l'association entre le polymorphisme et la maladie est calculée comme

Suit: $OR = \frac{A \times D}{B \times C}$

4.2. Choix de la « p value »

Le seuil critique a priori est de 0.05 (risque α). Si la valeur de p calculée a posteriori est inférieure à ce seuil, la différence entre les paramètres est déclarée statistiquement significative. L'usage a retenu de manière consensuelle l'ensemble des seuils (0.05, 0.01, 0.001) qui représentent des risques raisonnables pour prendre une décision.

Résultats et discussion

1. Répartition selon l'âge

1.1. Répartition des témoins selon l'âge

La population témoin composée de 15 sujets de sexe féminin avec une moyenne d'âge de 46 ans. Les sujets témoins sont classés selon des tranches d'âge de 10 ans (Tableau 05).

Tableau 05 : Répartition des témoins selon l'âge

Âge	Nombre	Pourcentage (%)
[35-45[9	60
[45-55[3	20
[55-65[1	6,66
[65-75[2	13,33
Total	15	100

1.2. Répartition des malades selon l'âge

Les sujets sont classés selon des tranches d'âge de 10 ans sauf pour les sujets de moins de 50 ans et plus de 80 ans (Tableau 06). L'âge moyen du cancer du col est de 62ans, avec des extrêmes d'âge de 52 à 76 ans.

Tableau 06 : Répartition des malades selon l'âge

Âge	Nombre	Pourcentage (%)
< 50	0	0
[50-60[6	50
[60-70[3	25
[70-80[3	25
≥ 80	0	0
Total	12	100

La tranche d'âge la plus touchée par le cancer du col utérin est celle de 50 à 60 ans avec 50%. L'incidence diminue au-delà de 60 ans, elle est à 25 % chez les sujets âgés de 60 à

70 ans et également celles entre 70 et 80 ans. Dans notre échantillon il n'y a pas de sujets âgés de moins de 50 ans ni de plus de 80 ans (Figure 12).

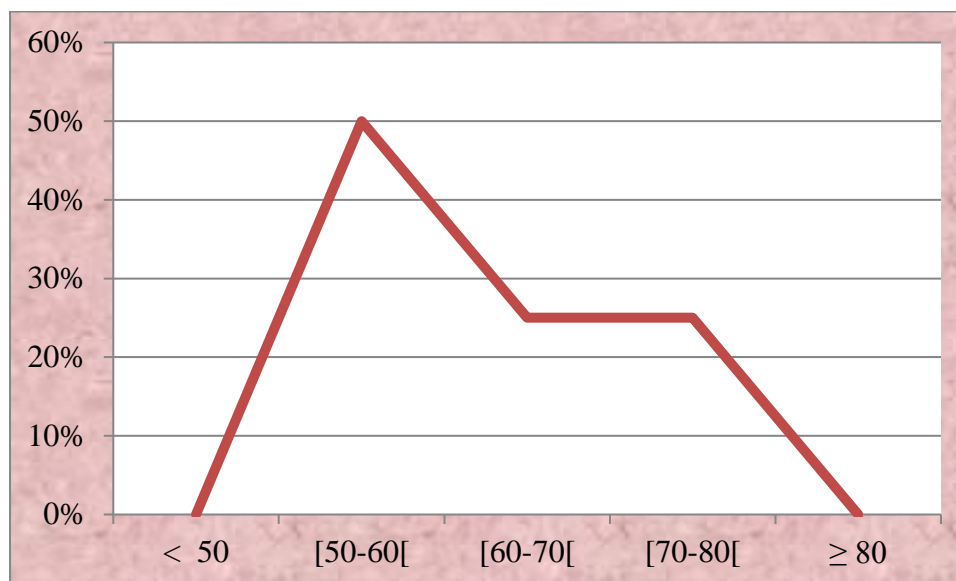


Figure 12 : Répartition des patientes selon l'âge

La répartition des patientes selon l'âge montre que le cancer du col utérin survient le plus souvent à un âge tardif, cela s'explique par le fait que l'HPV prend plusieurs dizaines d'années pour qu'il se développe (Courbière *et al.*, 2014). Nos résultats sont semblables aux résultats de Sreedevi *et al.* qui confirment que le risque du cancer du col utérin augmente avec l'âge, et atteint principalement les sujets de 55 à 59 ans (Sreedevi *et al.*, 2015). Cependant Durowade *et al.* ont montré que le cancer du col utérin peut également survenir à un âge précoce (25 ans) (Durowade *et al.*, 2012).

2. Étude des facteurs de risque

Le cancer du col utérin est une maladie d'origine infectieuse avec l'interaction de plusieurs cofacteurs qui interviennent dans l'apparition et le développement de cette maladie. Parmi les facteurs de risque, nous avons pris en considération les plus connus à savoir : le tabagisme, la précocité des rapports sexuels, la multiplicité des partenaires, l'âge de la première grossesse, la multiparité, la contraception orale, les antécédents familiaux et le niveau socio-économique.

2.1. Tabagisme

Dans notre étude, aucune des patientes n'est fumeuse. Le tabagisme est considéré comme un facteur de risque dans la majorité des cancers notamment le cancer du col de l'utérus. Cependant, le tabac chez les femmes algériennes est un sujet tabou et difficile à préciser. Néanmoins, ces femmes peuvent être victimes d'un tabagisme passif suite à leur entourage fumeur.

Le tabagisme est associé à une incidence plus grande de cancer du col utérin, et peut être plus étroitement lié aux lésions de haut grade du col, cela s'explique par l'existence d'une association entre l'HPV, le tabac, et le cancer du col (Moore *et al.*, 2001). Ainsi, il a été trouvé des carcinogènes du tabac dans la muqueuse du col utérin des fumeuses (Hill *et al.*, 2005). Le risque du cancer est en fonction de la durée d'exposition au tabac, la dose et le nombre de paquets consommés par jour (Hill *et al.*, 2005). L'étude menée par Roura *et al.* a marqué que l'arrêt de tabac pendant au moins 10 ans permet de réduire deux fois le risque de développer le cancer du col utérin (Roura *et al.*, 2013).

2.2. Précocité des rapports sexuels

Nos résultats mettent en évidence, une nette prédominance de l'âge précoce du mariage. En effet, le mariage à un âge entre 15 et 20 ans était noté dans 41,66% des cas par rapport à 0% chez les témoins. 8,33 % des patientes se sont mariées entre l'âge de 25 et 30 ans, contre 41,66 % des témoins. Aucune femme malade n'a été mariée à l'âge de 30 ou au-delà de ceci, alors que 16,66% des témoins sont mariées à un âge tardif (Figure 13).

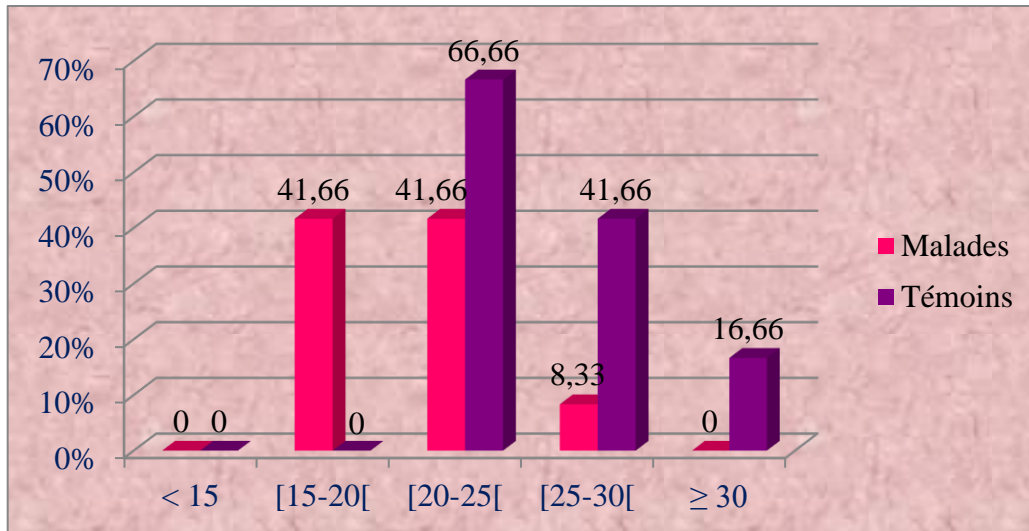


Figure 13 : Répartition des patientes selon l'âge du mariage

L'activité sexuelle précoce (établie par l'âge de mariage) accroît le risque du cancer du col de l'utérus parce que les adolescentes sont plus exposées aux infections en raison de l'éversion physiologique de la muqueuse glandulaire (épithélium monocouche plus exposé aux brèches permettant l'entrée du virus), ce qui rend le col vulnérable aux traumatismes subis lors des rapports sexuels. Ces traumatismes facilitent les transformations malignes par un renouvellement très rapide (Baldauf *et al.*, 2011).

Nos résultats sont en accord avec celles de N'guessen et Tebeu *et al.* qui ont confirmé que la précocité des rapports sexuels et le mariage précoce constituaient des facteurs de risque importants du cancer du col utérin (Tebeu *et al.*, 2005 ; N'guessen, 2009).

2.3. Multiplicité des partenaires

La multiplicité des partenaires a été précisée selon l'état matrimonial des sujets. En effet, 91% des femmes malades sont mariées une seule fois, donc ayant une vie sexuelle active. Cependant, 8,33% des patientes (1 seul cas) sont des célibataires (Figure 14).

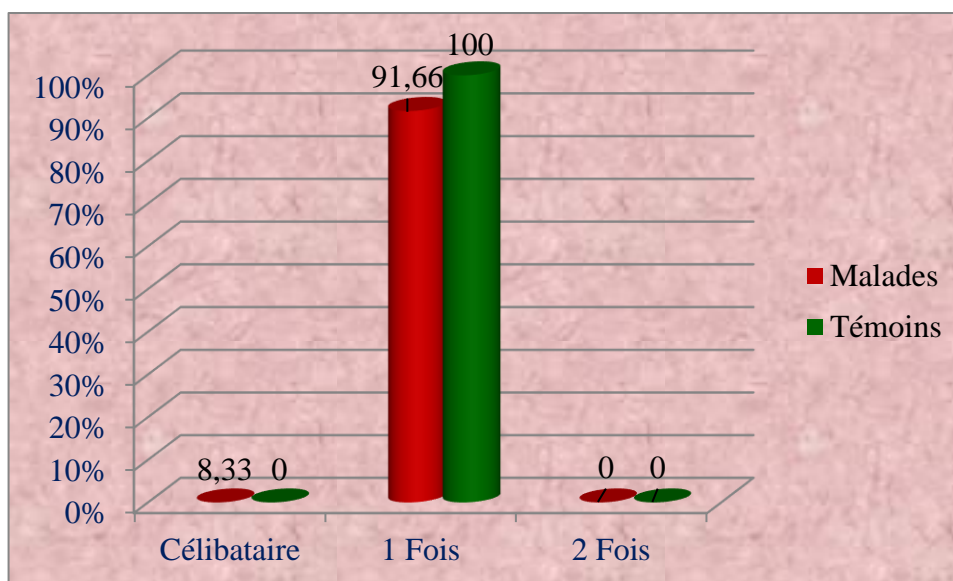


Figure 14 : Répartition des patientes en fonction du nombre de mariages

Plus le nombre de partenaires différents est important plus la chance d'être exposé à l'HPV augmente et donc plus le risque du cancer du col utérin accroit. Probablement en raison d'une plus grande exposition au HPV, qui est souvent transmise sexuellement. Cependant, une femme peut être infectée par le HPV même si elle n'a eu qu'un seul partenaire sexuel (Leno, 1993). D'après l'étude de Tebeu *et al*, le cancer du col de l'utérus touche les célibataires avec un pourcentage de 4,4 % de la population étudiée (Tebeu *et al.*, 2005) ce qui est en accord avec nos résultats.

2.4. Âge de la première grossesse

16,66% des femmes malades ont eu leur première grossesse à un âge très précoce, entre 15 ans et 20 ans, contre 0% pour les témoins. 0% des patientes ont eu des grossesses après l'âge de 30 ans. Cependant, 26,66% des témoins ont eu leur première grossesse à un âge tardif (Figure 15).

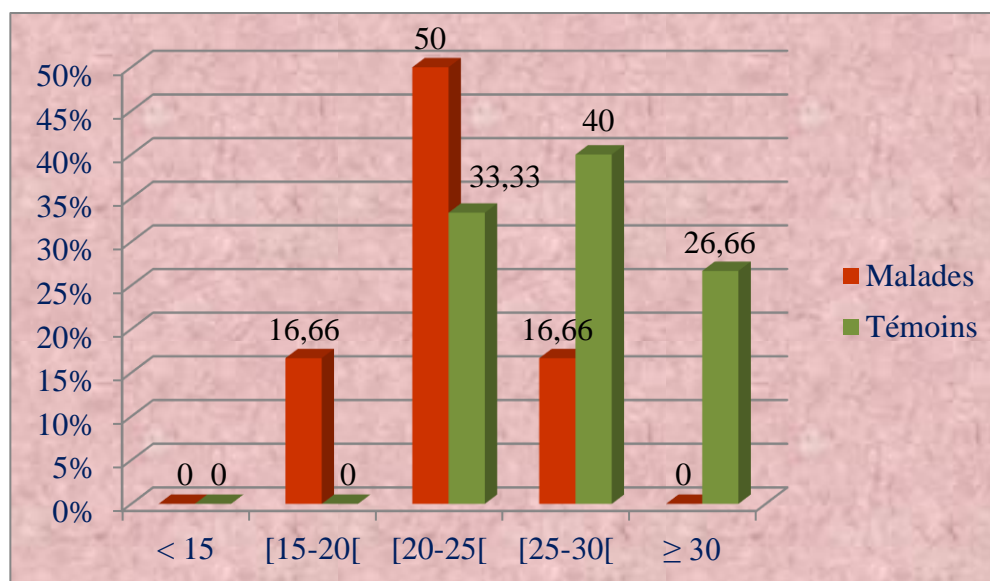


Figure 15 : Répartition des patientes selon l'âge de la première grossesse

La grossesse agit sur la zone de transformation entre l'exocol et l'endocol. La zone de transformation de l'épithélium cervical a été reconnue comme le site dans lequel l'infection à HPV tend à causer le cancer. L'immatunité biologique de la zone de transformation à l'adolescence a été proposée comme facteur de susceptibilité de cette dernière, ce qui conduit à sa dénudation de l'épithélium stratifié, facilitant ainsi l'exposition de la couche basale au HPV. Au cours de l'adolescence et de la grossesse, le col de l'utérus est exposé aux plusieurs changements hormonaux, dans lesquels la stimulation par les œstrogènes facilite l'acidification de la cavité vaginale, facteur déterminant de la métaplasie squameuse lorsque l'épithélium endocervical se développe. Lorsque cette transformation métaplasique stimulée par les œstrogènes se produit en présence de l'HPV, la probabilité de transformation cellulaire augmente, entraînant des modifications néoplasiques (Louie *et al.*, 2009).

2.5. Nombre de grossesses

Nous avons relevé une augmentation de l'incidence du cancer du col de l'utérus en fonction d'augmentation du nombre de grossesses. La plupart des sujets malades sont des multipares, 41,66% ont entre 5 et 10 enfants par rapport à 33,33% des témoins. La grande multiparité (plus que 10 enfants) constitue 25% pour la population malade et 0% pour la population témoin, également chez les nullipares. Les femmes malades représentent un pourcentage moins élevé que les témoins qui ont de 1 à 5 enfants (Figure 16).

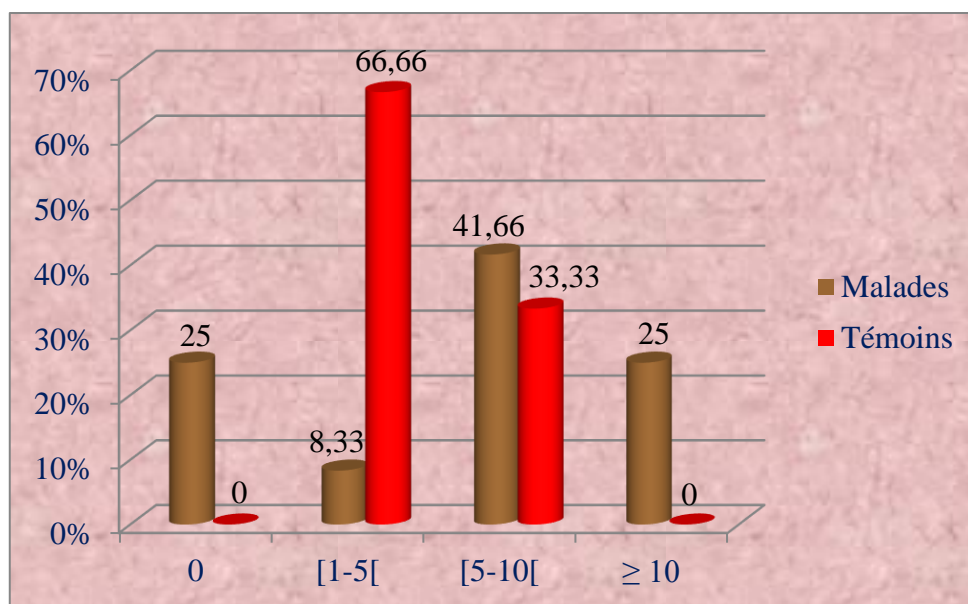


Figure 16 : Répartition des patientes selon le nombre de grossesses

Les mécanismes par lesquels une parité élevée augmentait le risque de cancer du col utérin sont le maintien de la zone de transformation sur l'exocol pendant de nombreuses années, ce qui peut faciliter l'exposition au HPV (Munoz, 2006). La grossesse pourrait aussi avoir un effet néfaste sur le risque de cancer du col utérin grâce à son effet immunosuppresseur bien reconnu, rendrait le col plus accessible aux HPV. Ceci explique l'augmentation des condylomes pendant la grossesse et la découverte après l'accouchement des microtraumatismes (Montcho, 2000).

2.6. Contraception orale

Les patientes utilisant une contraception orale représentent 66,66% de notre population, contre 33,33% de l'ensemble des patientes qui ne prennent plus de contraceptifs oraux. 100% des témoins ne prennent pas de pilule contraceptive (Figure 17).

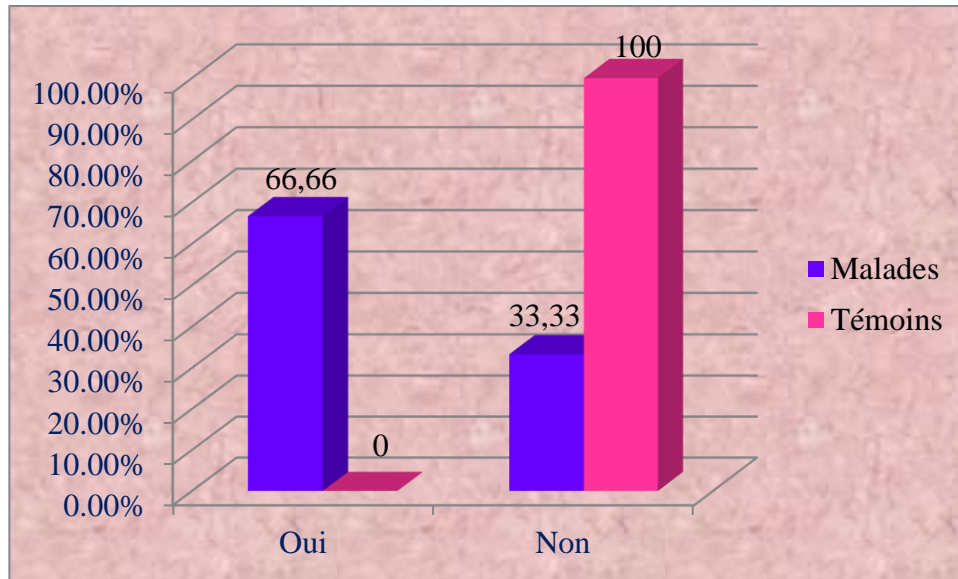


Figure 17 : Répartition des patientes selon la consommation des contraceptifs oraux

Le risque du cancer du col de l'utérus augmente avec la durée d'utilisation de contraceptions orales, de sorte qu'une utilisation à 10 ans était associée à un doublement en risque par rapport à jamais utilisées (Hill *et al.*, 2005). Les mécanismes par lesquels les contraceptifs oraux peuvent agir en tant que cofacteurs du cancer du col de l'utérus sont constitués par les œstrogènes et les progestérones favorisant l'expression de certains gènes de l'HPV dans le col de l'utérus via des mécanismes récepteurs hormonaux et des éléments de réponse hormonale dans le génome viral (Munoz, 2006).

2.7. Antécédents familiaux

Dans notre population d'étude, toutes les femmes n'ont aucun antécédent familial du cancer du col utérin ce qui est en accord avec la littérature.

Le cancer du col de l'utérus n'est pas héréditaire, car ce n'est pas parce que quelqu'un de la famille a souffert d'une infection par HPV qu'un autre membre de la famille en souffrira également. Cependant, l'hérédité favorise un terrain plus susceptible. Les cancers de l'utérus sont liés à une prédisposition héréditaire dans 5 à 10 % des cas (Bouuaert *et al.*, 1995 ; Carrel, 2008).

2.8. Niveau socio-économique

Toutes les femmes de notre étude sont issues d'un niveau socio-économique bas, ce qui peut induire un accès au soin diminué avec absence de dépistage, et une mauvaise hygiène alimentaire.

Selon Kebede, le cancer du col de l'utérus touche les femmes dont le statut socioéconomique était bas (Kebede, 2015).

3. Étude clinique

3.1. Types histologiques du cancer du col de l'utérus

Nous avons classé les différents types du cancer du col utérin d'après les résultats de l'examen histologique mentionné dans les dossiers des patientes. Dans notre population, le carcinome épidermoïde est le type histologique le plus fréquent avec 66,66 %, tandis que, l'adénocarcinome représente 33,33 % des cas (Figure 18).

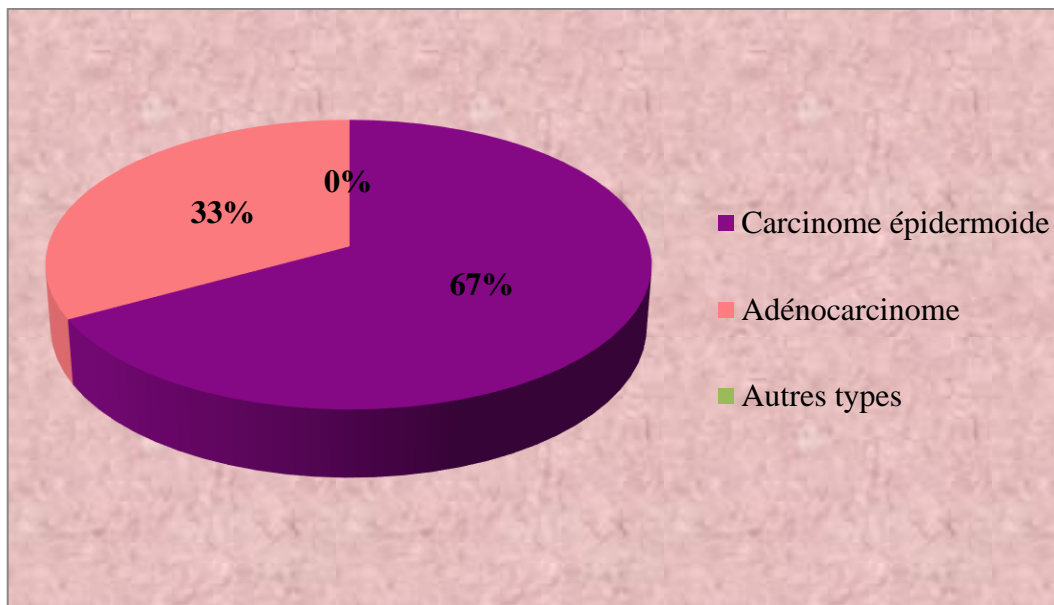


Figure 18 : Répartition des patientes selon les types histologiques du cancer du col de l'utérus

Les carcinomes épidermoïdes sont les types histologiques les plus fréquents des cancers du col utérin et représentent 85 % (Courbiere *et al.*, 2014) cela concorde avec nos résultats.

3.2. Stades du cancer du col de l'utérus

Selon nos résultats, le stade IIB est le plus fréquent avec un pourcentage de 42 %, suivi du stade IVA avec 33 %, puis le stade IB avec 17 % et enfin le stade IIA avec le pourcentage le plus faible 8 % (Figure 19).

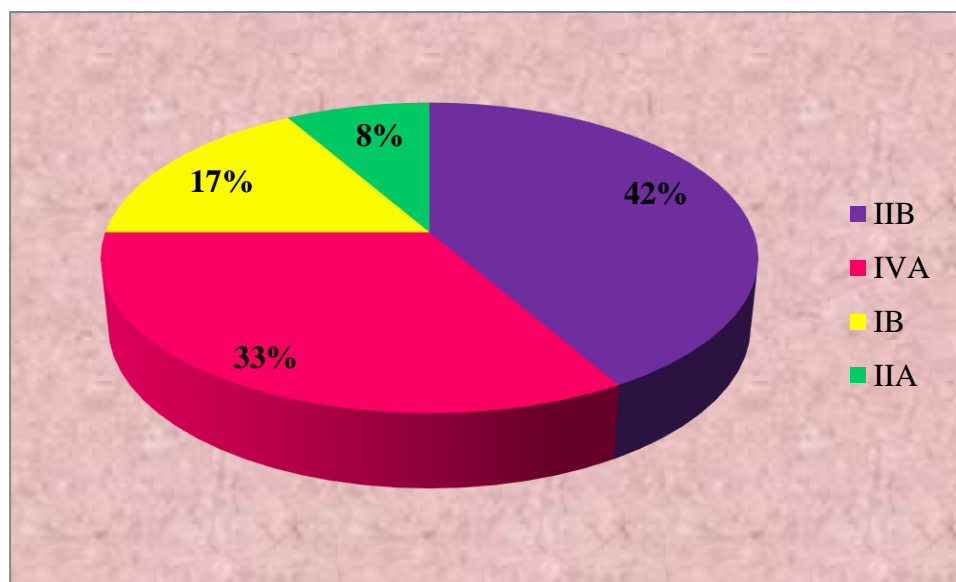


Figure 19 : Répartition des patientes selon les stades du cancer du col de l'utérus

Diop *et al.* ont trouvé que le stade IIB est le plus représentatif (56 %) suivi du stade IVA avec 28 % (Diop *et al.*, 2015).

Nous constatons dans notre étude que ces patientes présentent des stades plus ou moins évolués à cause du délai de consultation qui est tardif et de l'absence du dépistage. Une étude menée par Boulanger *et al.* a montré que l'absence des frottis ou les frottis irréguliers (supérieur à 3 ans) sont responsables de deux tiers des cas du cancer du col de l'utérus (Boulanger *et al.*, 2006).

4. Étude du polymorphisme I/D de l'ECA

Dans la population malade le génotype homozygote II prédomine (55,56 %) alors que le génotype hétérozygote ID prédomine dans la population des témoins (53,33 %). La fréquence des hétérozygotes ID chez les sujets avec cancer du col de l'utérus est de 44,44% et celle du génotype homozygote II est de 55,56%. Nous constatons qu'on n'a pas de sujet avec le génotype DD chez les patientes (Figure 20).

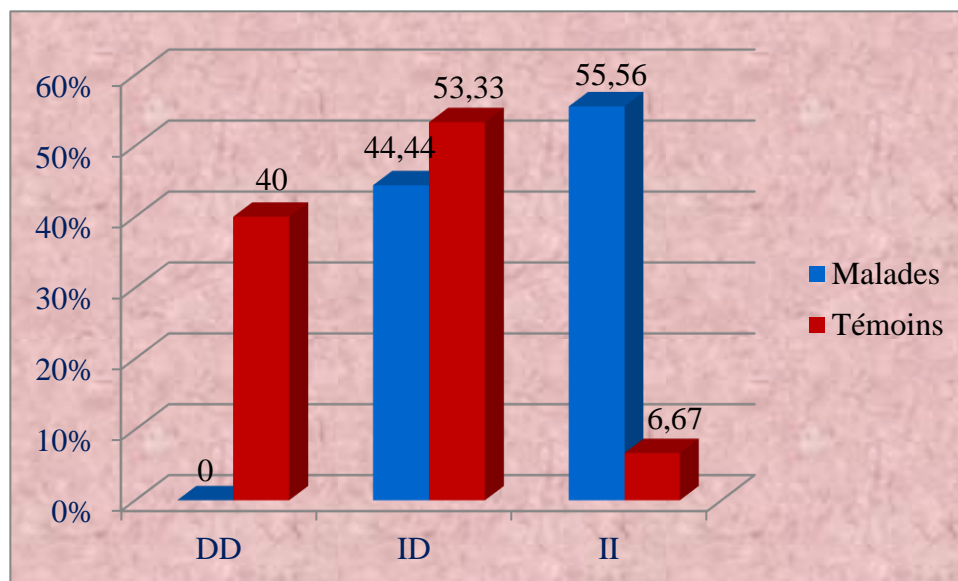


Figure 20 : Répartition des patientes selon les fréquences génotypiques

Tableau 07 : Comparaison des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme I/D du gène de l'ECA chez les patientes et les témoins

	Patients	n (%)	Témoins	n (%)	OR (IC 95 %)	P
ID	4	44,44	8	53,33	-	-
DD	0	0	6	40	-	-
II	5	55,56	1	6,67	10 (0,85 – 117,02)	0,02*
D	4	22,22	20	66,67	0,14 (0,04 – 0,54)	0,0046*
I	14	77,78	10	33,33	-	-

D : délétion ; I : insertion ; OR (CI95%) : odds ratio (intervalle de confiance à 95 %) ; * : $p < 0.05$

Les résultats du tableau 7 ne montrent pas d'association entre la délétion et le cancer du col de l'utérus, à cause de l'effectif 0 des femmes avec le génotype DD. Par contre, il y a une différence significative ($p=0,02$) de génotype II par rapport au génotype normale ID.

Cependant, le calcul de l'OR montre une différence significative ($p= 0,0046$) de l'allèle D par rapport à l'allèle I, ce qui nous permet de confirmer que l'allèle muté D est lié à un risque de cancer du col de l'utérus.

Plusieurs études ont montré l'implication du polymorphisme d'insertion/délétion du gène de l'ECA dans différents cancers. Y compris, le cancer de la prostate et cancer du sein (Koh *et al.*, 2003 ; Medeiros *et al.*, 2004). A notre connaissance, une seule étude en 2012 à travers le monde a évalué la relation entre le polymorphisme étudié et le cancer du col de l'utérus. D'après l'étude de Han *et al* réalisée dans une population située au sud-ouest de la Chine, ils ont constaté que le génotype DD de l'ECA, comparé au génotype II et ID, était significativement associé à un risque accru de cancer du col de l'utérus (DD par rapport à II: OR = 0,41, IC à 95% = 0,18-0,94 ; DD par rapport à ID : OR = 0,34, IC 95% = 0,15-0,78) (Han *et al.*, 2012).

Les polymorphismes de l'ECA existent dans des populations à susceptibilité génétique accrue et contribuent à la susceptibilité et à la progression du cancer chez l'homme (Han *et al.*, 2012). D'autres études avec une population plus large restent envisageables pour l'étude de ce nouveau marqueur génétique du cancer du col de l'utérus dans la population algérienne.

Conclusion et perspectives

Le cancer du col de l'utérus est une néoformation tissulaire à évolution lente qui détruit le col utérin au niveau de la zone de jonction avec envahissement local et à distance. Le cancer du col de l'utérus est un problème important de santé reproductive féminine, surtout dans les pays en développement où il constitue la cause majeure de décès dus au cancer chez la femme après le cancer du sein (Courbiere *et al.*, 2014).

Ce cancer est une maladie d'origine infectieuse sexuellement transmissible due essentiellement aux papillomavirus humain. Ces dernières années, le cancer n'a cessé de reculer grâce à l'amélioration des conditions d'hygiène et de vie et à l'utilisation du test cytologique qui est le frottis cervico vaginal.

L'étude que nous avons réalisée est une étude de type cas témoin incluant 12 patientes et 15 témoins.

L'âge moyen des patientes est 62 ans. La tranche d'âge la plus touchée est située entre 50 et 60 ans. L'étude de certains facteurs de risque du cancer du col de l'utérus est en concordance avec la littérature. 41,66 % de nos patientes ont eu une activité sexuelle entre 15 et 20 ans. 16,66 % des femmes malades ont eu leur première grossesse à un âge très précoce (entre 15 et 20 ans). De plus, la multiparité et la consommation des contraceptifs oraux constituent des facteurs de risque dans notre population. Le tabagisme et la multiplicité des partenaires sont des facteurs primordiaux de risque. Selon nos résultats, le type histologique le plus répondu est le carcinome épidermoïde, et le stade IIB est le plus représenté.

L'étude moléculaire ne montre pas d'association entre le génotype DD et le cancer du col de l'utérus (DD= 0% chez les patientes), cela peut être expliqué par la taille réduite de notre échantillon. Cependant, le calcul de l'OR montre une différence significative ($p=0,0046$) de l'allèle D par rapport à l'allèle I, ce qui nous permet de suggérer une association significative entre l'allèle D et la susceptibilité du cancer du col de l'utérus. Des études supplémentaires resteront nécessaires pour confirmer cela.

À la lumière de notre travail, nous proposons comme perspectives, de poursuivre les travaux et d'élargir la taille de l'échantillon afin de pouvoir tirer des conclusions sur l'association du polymorphisme ID du gène ECA et le cancer du col utérin, ce qui permet de nouvelles approches en matière de détection, de prévention et de traitement des cancers du col utérin. Il est toutefois important d'assurer une bonne information des femmes, notamment sur le dépistage par FCV qui reste le meilleur moyen pour prendre en charge cette pathologie cancéreuse, car cet examen n'est pas encore suffisamment généralisé surtout dans les pays en voie de développement.

Références bibliographiques

A

Abdallah A. Appareil génital féminin. 2009, p.4.

Aboufath K. Cancer de la vulve. Thèse pour l'obtention du doctorat en médecine. Maroc : Université de Sidi Mohammed Ben Abdellah. 2016, p. 249.

Agarwal SS., Sehgal A., Saradana S., et al. Role of male behavior in cervical carcinogenesis among women with one lifetime sexual partner. *Cancer*. 72(5). 1993, p. 1666-1669.

Agnus E. La contraception hormonale : mode d'action, risques et alternatives. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. France : Université Toulouse III Paul Sabatier. 2013, p. 148.

Alba A., Cararach M., Rodríguez-Cerdeira C. Le virus du papillome humain (VPH) en pathologie humaine: description, pathogénèse, rôle oncogène, épidémiologie et techniques de détection. *The open dermatology*. 3. 2009, p. 90-102.

Alain S., Hantz S., Denis F. Papillomavirus : les virus et la physiopathologie de l'infection. *Médecine thérapeutique/ pédiatrie*. 1(13). 2010, p. 5-19.

Apple RJ., Erlich HA., W., et al. HLA DR-DQ associations with cervical carcinoma show papillomavirus-type specificity. *Nature genetics*. 6(2). 1994, p.157-162.

Arne S., Nicole M. Anatomie Physiologie Biologie. 2eme édition. France : Maloine. 2004, 454p.

Ashford L., Collymore Y. Prévenir le cancer du col de l'utérus de par le monde. *PRB*. 2005, p. 1-4.

Aznague L. Traitement chirurgical du cancer du col utérin expérience du service de gynécologie « A » à propos de « 82 cas ». Thèse pour l'obtention du doctorat en médecine. Maroc : université cadi ayyad. 2013, p. 111.

B

Bahrami A., Hasazadeh M., Shahidsales S., et al. Genetic susceptibility in cervical cancer : from bench to bedside. *Cellular physiology*. 233(3). 2017, p. 1929-1939.

Baldauf JJ., Fender M., Akladios YAC., et al. Is early cervical cancer screening justified. *Génecologie obstétrique fertilité.* 39(6). 2011, p.358-363

Barillier H. La stérilité féminine prise en charge actuelle en France. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. France : Université de Caen. 2007, p. 212.

Baudin B. New aspects on angiotensin-converting enzyme : from gene to disease. *Clin Chem Lab Med.* 40(3). 2002, p. 256-265.

Benmansour A., Bouhasina S., Tadj A. le cancer de col de l'utérus. Mémoire de fin des études pour l'obtention de diplôme de docteur en médecine. Algérie : université abou bekr belkaid. 2017, p. 71.

Benrnard P. Cancers invasifs du col utérin (147c). 2005, p. 15.

Bogaert EVD. Cancer du col de l'utérus la répartition d'un conflit de séparation. *Néosanté.* 2016.

Boubli L., Bilan., Taranger-Charpin C. Tumeurs du col utérin, tumeurs du corps utérin. 2005, p. 25.

Boukili K. Les lésions de haut grade du col utérin. Thèse pour l'obtention du doctorat en médecine. Maroc : Université Sidi Mohammed Ben Abdellah. 2016, p. 211.

Boulangier JC., Fauvet R., Urrutiaguer S., et al. Histoire cytologique des cancers du col utérin diagnostiqués en France en 2006. *Génecologie obstétrique & fertilité.* 35. 2007, p. 764-771.

Boulet G., Horvath C., Vanden broeck D., et al. Human papillomavirus: E6 and E7 oncogenes. *Biochem Cell Biol.* 39(11). 2007, p. 2006-2011.

Bouuaert C., Cabut CH. Place du médecin généraliste dans une stratégie de dépistage du cancer du col utérin. 1995, p. 10.

C

Carrel E. Le cancer de l'utérus, carcinome de l'endomètre, sarcome de l'utérus. 2008, p. 43.

Chamard-Jovenin C. Impact d'une surexpression d'ER *alpha* 36 et/ou d'une exposition aux alkylphénols sur la physiopathologie de la glande mammaire. Thèse pour l'obtention de doctorat en biologie-santé-environnement. France : Université de lorraine. 2016, p. 154.

Courbiere B., Carcopino X. Gynecologie obstetrique. Editions vernazobres-grego. 2014, p. 521-543.

D

Dee US. Reproduction et développement. **In** : Eliot TS. Physiologie humaine. 4eme édition. France : Pearson. 2007, p. 803.

Diop AD., Dia AA., Leye MMM., et al. Apport de l'IRM haut champ dans la prise en charge des cancers du col de l'utérus au Sénégal. *Africain d'imagerie médicale*. 3(7). 2015, p. 108-115.

Dolley hitze T., Verhoest G., Jouan F. Récepteurs de type 1 à l'angiotensine-2 (AT1R) et cancer. *Néphrologie & thérapeutique*. 2(9). 2013, p. 85-91.

Doorbar J. The papillomavirus life cycle. *Clinical virology*. 1(32). 2005, p. 7-15.

Durowade KA., Osagbemi GK., Salaudeen AG., et al. Prevalence and risk factors of cervical among women in an urban community of kwara state, North Central Nigeria. *Preventive Medicine and hygiene*. 4(53). 2012, p. 213-219.

E

Ebrother EZ. Cancer du col de l'utérus et lésions précancéreuses. Suisse : Ligue suisse contre le cancer. 2010, p. 48.

Estevao D., Rios casta N., Gil da costa RM., et al. Hallmarks of HPV carcinogenesis :The role of E6, E7 and E5 oncoproteins in cellular malignancy. *BBA-Gene regulatory mechanisms*. 1862(2019). 2019, p. 153-162.

F

Fenton CE. Condylomes, dysplasies et carcinomes épidermoïdes du col utérin : expérience du laboratoire de cytologie clinique, cytogénétique et biologie de reproduction du C.H.U. de dakar(1980-1999). Thèse pour obtenir le grade de docteur en médecine. Sénégal : université cheikh anta diop de dakar. 1999, p. 72.

Finzer P., Aguilar-Lemmaroy A., Rosl F. The role of human papillomavirus oncoproteins E6 and E7 in apoptosis. *Cancer letters*. 188. 2002, p. 15-24.

G

Gavillon N., Hervaet H., Derniaux E., et al. Papillomavirus humain HPV : comment ai-je attrapé ça?. *Gynécologie obstétrique & fertilité*. 38(3). 2010, p. 199-204.

Giraud JR., Coiffic J., Polain P., et al. Travail original intérêt de la recherche des néoplasies intra-épithéliales du col utérin. 26(8). 1997, p.798.

Guérin N. Programme élargi de vaccination. **In :** Imbert P., Minodier P. *Pédiatrie tropicale et des voyages*. France : Doin. 2012.

Guillaume R. L'enzyme de conversion de l'angiotensine : une protéase conservée au cours de l'évolution. 203(4). 2009, p. 281-293.

H

Hamdi cherif M., Bidole E., Birri S., et al. Cancer estimation of incidence and survival in algeria 2014. *Cancer research & therapy*. 3(9).2015, p.100-104.

Han JG., Jin H., Gao LB., et al. Relationship between polymorphisms of angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion, endothelial nitric oxide synthase gene intron 4 VNTR and risk for cervical cancer. *Life science journal*. 9(2). 2012, p. 100-104.

Hill C., Vielh P., Baldauf JJ. Epidémiologie, histoire naturelle et évolution. **In :** Morice P., castaigne D. *cancer du col utérin*. Paris : masson. 2005, p.9.

Hirochi T., Yasutaka I., Yoshiki S., et al. Polymorphism in the angiotensin-converting enzyme (ACE) gene and sarcoidosis. *Respiratory and critical care medicine*. 1(156). 1997, p. 255-259.

<http://app-asap.over-blog.com/article-anatomie-de-l-appareil-genital-feminin-43833987.htm>

<https://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-col-de-l-uterus/Le-col-de-l-uterus>

I

Isautier S. Place de la prévention antipapillomavirus humains dans la prévention du cancer du col de l'utérus. Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie. France : université de lorraine. 2012, p. 218.

K

Kebede ST. Socio-economic and cultural vulnerabilities to cervical cancer and challenges faced by patients attending care at Tikur Anbessa Hospital: a cross sectional and qualitative study. *BMC women's health*. 75(15). 2015.

Kero J., Rautava J. HPV infections in hetero sexual couples: Mechanism and covariates of virus transmission. *Acta cytological*. 2(63). 2019, p. 143-147.

Kessabi S. Prévention du cancer du col utérin : dépistage et prise en charge des néoplasies intra-épithéliales du col utérin. Thèse pour l'obtention du doctorat en médecine. Maroc : université Mohamed 4. 2009, p. 150.

Koh WP., Yuan JM., Sun CL., et al. Angiotensin I converting enzyme (ACE) gene polymorphism and breast cancer risk among Chinese women in Singapore. *Cancer research*, 63. 2003, p. 573-578.

Kohler C. Appareil génital féminin. 2011, p. 16.

Kondoh G., Tojo H., Nakatani Y., et al. Angiotensin-converting enzyme is a GPI-anchored protein factor crucial for fertilization. *Nature medicine*. 12(2). 2005, p. 160-166.

Kozanska A., Pisarska J., Baldy-Chudzik K. The multiple HPV infections and their possible significance in predicting the risk of the cervical cancer. An international scientific. 123. 2019, p. 192-207.

L

Le corgne A. Rôle du pharmacien d'officine dans la prise en charge du cancer du sein après chirurgie mammaire. Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie. France : université de bourgogne. 2016, p. 125.

Le coz S. Traitements actuels de l'infertilité en vue d'une procréation médicalement assistée. Thèse pour l'obtention de doctorat en pharmacie. France : Université de Nantes. 2014, p. 145.

Leno DWA. Etude cyto-epidemiologique des lésions précancéreuses du col utérin en guinee. Thèse pour obtenir le grade de docteur en médecine. Sénégal : université cheikh anta diop de dakar. 1993, p. 120.

Lever AF., Hole DJ., Gillis CR., et al. Do inhibitors of angiotensin I converting enzyme protect against risk of cancer ?. The lancet. 352 (9123). 1998, p. 179-184.

Louie KS., De sanjose S., Castellsagué X., et al. Early age at first sexual intercourse and early pregnancy are risk factors for cervical cancer in developing countries. BJC. 100. 2009, p. 1191-1197.

M

Maciag PC., Villa LL. Genetic susceptibility to HPV infection and cervical cancer. Brazilian journal of medical and biological research. 32(7). 1999, p.915-922.

Mantovani F., Banks L. The human papillomavirus E6 protein and its contribution to malignant progression. Oncogene. 20(54). 2001, p. 7874-7887.

Mariko K. aspects histopathologies des cancers du col de l'utérus au mali : à propos de 845 cas. Thèse pour l'obtention le grade de docteur en médecine. Mali : université de Bamako. 2008, p. 79.

Medeiros R., Vasconcelos A., Costa S., et al. Linkage of angiotensin I converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism to the progression of human prostate cancer. *The journal of pathology*. 202(3). 2004, p. 330-335.

Memon A., Bannister P. Epidemiology of cervical cancer. *Uterine cervical cancer*. 2019.

Montcho EJ. Les lésions précancéreuses et cancéreuses du col utérin et âge : expérience du laboratoire d'histologie du CHU de Dakar de 1980 à 1999 (20 ans). Thèse pour obtenir le grade de docteur en médecine. Sénégal S : université cheikh anta diop de Dakar. 2000, p. 66.

Moodly M., Mould S. Invasive cervical cancer and human immunodeficiency virus (HIV) infection in kwazulu-natal, south africa. *Obstetrics and gynaecology*. 25(7). 2009, p.706-710.

Moore OT., Moore AY., Canasco D., et al. Human papillomavirus, cutaneous medicine and surgery. 5(4). 2001, p.323-328.

Moreno V., Bosch FX., Munoz N., et al. Effect of oral contraceptives on risk of cervical cancer in women with human papillomavirus infection : the IARC multicentric case-control study. *The lancet*. 359(9312). 2002, p. 1085-1092.

Munoz N., Castellsagué X., De Gonzalez AB., et al. Chapter 1 : HPV in the etiology of human cancer. *Vaccine*. 24(3).2006,p.1-10.

N

N'guessen K., Kouakou F., Loué V., et al. Le cancer du col de l'utérus : Aspects épidémiologiques et prise en charge en milieu africain. *Mali médical*. 3. 2009, p. 27-30.

Noel G., Genestie C., Votadoro A. Cancer du col utérin. *In* : Bailler. *Cancérologie*. 2003, p. 127.

Nunes RAL., Morale MG., Silva GAF., et al. Innate immunity and HPV : friends or foes. *CLINICS*. 73(1). 2018, p.1-6.

P

Patel D., Huang SM., Baglia LA., et al. La protéine E6 du papillomavirus humain de type 16 se lie à et inhibe la co-activation par la CBP et la p300. *The EMBO*. 18(18).1999, p. 5061-5072.

R

Robert F. Détection des HPV à haut risque comme alternative pour les femmes non adhérentes au dépistage cytologique du cancer du col utérin : étude pilote sur l'acceptabilité et la faisabilité de l'auto-prélèvement vaginal et du prélèvement urinaire. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie et mémoire du diplôme d'études spécialisées de biologie médicale. France : Université de Poitiers. 2016, p. 100.

Roncín L., Touzalin A., Fleury HJ. Papillomavirus humains et tumeurs des voies aérodigestives supérieures. *La lettre de l'infectiologue*. 1. 2009, p. 19-27.

Roskopf D., Schurks M., Rimbach C., et al. Genetics of arterial hypertension and hypotension. *Naunyn-Schmiedeberg's arch pharmacol*. 5-6(374). 2007, p. 429-469.

Rotkin ID. Adolescent coitus and cervical cancer : associations of related events with increased risk. *Cancer research*. 27(4). 1967, p. 603-617.

Roura E., Castellsagué X., Pawlita M., et al. Smoking as a major risk factor for cervical cancer and pre-cancer: Results from the EPIC cohort. *IJC*. 2(135). 2013, p. 453-466.

S

Sanogo M. Apport de l'hystérosalpingographie dans le diagnostic des affections gynécologiques à propos de 100 cas dans le service de radiologie de l'hôpital gabriel toure. Thèse pour l'obtention de doctorat en médecine. Mali : Université de Bamako. 2006, p. 63.

Santos-Lopez G., Marquez-Dominguez L., Reyes-Reyva J., et al. Aspectos generales de la clasificacion y la replivacion del virus del papiloma humano. *Rev Med Mex Seguro Soc*. 2(53). 2015, p. 166-171.

Saqer LS., Khammash HA., Loai E., et al. Association between angiotensin converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism and coronary heart disease in Gaza strip. *Biomedical materials research*. 3(4). 2016, p. 18-26.

Sayed-Tabatabaei FA., Oostra BA., Isoacs A., et al. ACE polymorphisms. *The american heart association*. 9(98). 2006, p. 1123-1133.

Segondy M. Classification de papillomavirus (HPV). *Francophone des laboratoires*. 405(35). 2008, p. 23-25.

Sellers JW., Sankaranarayanan R. Coloscopie et traitement des néoplasies cervicales intraépithéliales. France : CIRC. 2004, p. 142.

Soubrier F., Wei L., Hubert C., et al. Angiotensin I-converting enzyme (ACE) gene structure and polymorphism : relation to enzyme function and gene expression. **In** : Mohan K., Ian Phillips M., Sunners C. *Cellular and molecular biology of the renin-angiotensin system*. CRC press. 2018, p. 221-242.

Sreedevi A., Javed R., Dinesh A. Epidemiology of cervical cancer with special focus on India. *Women's health*. (7). 2015, p. 405-414.

T

Tranbaloc P. 2002. Adénocarcinome in situ de l'endocol : difficultés du diagnostic cyto-histologique. *Généologie obstétrique & fertilité*. 30(4). 2002, p. 308-315.

Tebeu PM., Sandjong I., Nkele N., et al. Lésions précancéreuses du col utérin en zone rurale : étude transversale. *Médecine d'Afrique noire*. 52(1). 2005, p. 27-31.

Thomas M., Banks L. Human papillomavirus (HPV) E6 interactions with BaK are conserved amongst E6 proteins from high and low risk HPV types. *General virology*. 80. 1999, p. 1513-1517.

V

Vanderbrouke L., Robert AL., Lavoué V., et al. L'adénocarcinome du col utérin : particularités diagnostiques et thérapeutiques. *Journal de gynécologie obstétrique et biologie de la reproduction.* 42(3).2012, p. 207-216.

Y

Yeo-Teh NSL., Ito Y., Jha S. High-risk human papillomaviral oncogenes E6 and E7 target key cellular pathways to achieve oncogenesis. *Molecular sciences.* 19(6). 2018, p. 1-27.

Z

Zhang K., Cheng D., Yi L., et al. Association between angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism and susceptibility to cancer: a meta analysis. *Int J Clin Exp Pathol.* 7(9).2014, p. 6291-6300.

Zhao Y., Xu C. Structure and function of angiotensin converting enzyme and its inhibitors. *Biotechnology.* 24(2). 2008, p. 171-176.

Zhi-Ming Z., Carl CB. Structure, Expression et régulation post-transcriptionnelle du génome du papillomavirus. *HHS public acces.* 1(11). 2006, p. 2286-2303.

Annexes

Annexe 1 : Questionnaire sur le cancer du col de l'utérus

I) Données relatives au patientes :

Nom et prénom :..... Service:.....
Date de naissance ou Age :..... Adresse / Tél :.....
Origine (Région) :.....
Niveau scolaire : Primaire.....secondaire.....lycée.....Universitaire.....
Profession :.....
Situation familiale : marié.....célibataire.....Divorcé.....
Nombre d'enfants :.....
Age du mariage :.....
Age de la première grossesse.....

II) Données sur le mode de vie :

1)- **Tabagisme :** Non Oui Nbre de cigarette / jour :.....

2)- **Prise actuelle de thérapeutique :**

.....

3)-**Contraceptifs oraux :**.....

III) Terrain pathologique:

1)-**Les types du cancer :**

Carcinome épidermoïde Non Oui

Adénocarcinome Non Oui

Autres type

2) **Stade du cancer**

3)-**Antécédents familiaux** Non Oui : Nombre de sujets atteints :.....

4)-**Résultat Biopsie**

.....
.....
.....

Evolution de la maladie sous traitement : Bonne Mauvaise Récidive

Annexe 2 : Technique d'extraction d'ADN

1- Préparation des leucocytes

- Dans un tube falcon de 50 ml, mettre le sang et compléter à 25 ml avec du TE 20 :5. Laisser 10 mn dans la glace.
- Centrifuger 10 mn à 3800 rpm.
- Aspirer le surnageant avec la trompe à vide.
- Ajouter quelques ml de TE 20 :5 au culot et le remettre en suspension.
- Compléter à 25 ml avec du TE 20 : 5 et laisser 10 mn dans la glace.
- Centrifuger dans les mêmes conditions que la première fois.
- Aspirer le surnageant avec la trompe à vide : obtention d'un culot leucocytaire.

2- Extraction de l'ADN

- Transvaser le culot des leucocytes dans un tube flacon de 15 ml.
- Ajouter 3 ml de tampon de lyse (NaCl 400 mM, EDTA 2 mM, Tris 10 mM, pH 8,2) en dilacérant le culot avec une pastette stérile.
- Ajouter 200 µl de SDS à 10%.
- Ajouter 100µl de protéinase K à 10 mg/ml.
- Agiter le tube sur une roue à 37 °C une nuit.
- Le lendemain, refroidir dans la glace.
- Ajouter 1 ml de NaCl 4M et agiter vigoureusement à la main.
- Remettre 5 mn dans la glace (précipitation des protéines).
- Centrifuger 15 mn à 2500 rpm.
- Transvaser le surnageant dans un tube falcon de 50ml, ajouter deux fois son volume d'éthanol absolu préalablement refroidi (environ 8 ml) et agiter en retournant le tube plusieurs fois : la pelote d'ADN se forme.
- Laisser éventuellement 30 mn à -20°C si la pelote ne se forme pas.
- Récupérer la pelote d'ADN avec une pipette pasteur et la rincer deux fois dans l'éthanol à 70 %.
- Mettre la pelote dans un tube nunc (eppendorf) stérile.

3- Solubilisation

- Ajouter 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 (1 à 2 jours).

Annexe 3 : Préparation du TBE 1X

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

Résumés

Résumé

Le cancer du col utérin est une pathologie d'origine infectieuse. Il se place au deuxième rang des cancers féminins dans le monde, son incidence varie en fonction de plusieurs facteurs de risque.

L'objectif de ce travail est d'explorer les facteurs de risque les plus courants dans l'apparition de ce type de cancer et de démontrer une possible association entre le polymorphisme insertion/délétion de l'enzyme de conversion de l'angiotensine et le cancer du col de l'utérus.

Notre étude de type cas-témoin regroupe 12 sujets atteints du cancer du col de l'utérus et 15 sujets témoins. Une extraction de l'ADN leucocytaire est réalisée pour la population d'étude. Le génotypage du polymorphisme de l'ECA est déterminé par la méthode PCR directe. La comparaison des fréquences alléliques et génotypiques entre les deux groupes a été établie par le calcul de l'Odds ratio avec un intervalle de confiance à 95 %.

Les résultats relevés montrent que l'apparition du cancer du col de l'utérus est majoritaire chez les personnes âgées de 50 à 60 ans. 41,66 % de nos patientes ont commencé leur vie sexuelle entre 15 et 20 ans, 16,66 % ont eu leur première grossesse à un âge très précoce (entre 15 et 20 ans). De plus, les patientes multipares, qui ont plus de 10 enfants, constituent 25 % de la population d'étude et 66,66 % des patientes ont utilisé des méthodes de contraception orale. Toutes les femmes malades sont issues d'un niveau socio-économique bas. Par ailleurs, dans notre étude aucune patiente n'est fumeuse et aussi aucune femme n'a eu plusieurs partenaires sexuelles. L'étude clinique montre que le type histologique le plus répondu est le carcinome épidermoïde. Tandis que, le stade IIB est le plus représenté.

Enfin, les résultats de l'étude moléculaire, indiquent que 0 % des patientes sont du génotype homozygote DD, par rapport aux témoins (40 %). Mais, il existe une différence significative ($p= 0,0046$) de l'allèle muté D par rapport à l'allèle I, ce qui confirme le rôle supposé de l'allèle D du gène de l'ECA et la susceptibilité du cancer du col de l'utérus dans notre population. Des études supplémentaires sont nécessaires pour confirmer cela.

Mots-clefs : Cancer du col de l'utérus, facteurs de risque, ECA, polymorphisme I/D.

Abstract

Cervical cancer is a pathology that has an infectious origin. It is classified second in rank among female cancers in the world, its incidence varies according to several risk factors.

The aim of this work is to explore the most common risk factors in the development of this type of cancer and to demonstrate a possible association between the insertion / deletion polymorphism of angiotensin-converting enzyme and cervical cancer.

Our study is based on the molecular study of case/control association of 12 subjects with cervical cancer and 15 controls. Extraction of the leukocyte DNA was carried out for the study population; the sequence of interest was amplified by Polymerase Chain Reaction. The comparison of allelic and genotypic frequencies between the two groups was established by calculating the odds ratio with a confidence interval of 95 %.

The results show that the appearance of cervical cancer is predominant in adults aged between 50 and 60 years. 41,66 % of our patients had sexual activity between 15 and 20 years, 16.66% had their first pregnancy at a very early age (between 15 and 20 years). In addition, multiparous patients with more than 10 children make up 25 % of the study population, 66.66 % of patients used oral contraceptive methods. All sick women come from a low socio-economic level. In addition, no patient consumed tobacco and no one who had sex with different partners. The clinical study shows that the most responded histological type is squamous cell carcinoma while grade IIB is the most represented.

Finally, the results of the molecular study indicate that 0 % of the patients are of the homozygote DD genotype compared with the controls (40 %). However, there is a significant difference ($p = 0.0046$) in the mutated allele D relative to the I allele, confirming an association between I / D polymorphism and susceptibility of cervical cancer. Nevertheless, further studies on an even wider sample are needed to confirm this finding.

Key words: Cervical cancer, risk factors, ACE, polymorphism ID.

ملخص

سرطان عنق الرحم هو مرض من أصل معدي. و يصنف هذا المرض في المرتبة الثانية بين أكبر أنواع السرطانات التي تصيب النساء في العالم، ويختلف معدل الإصابة باختلاف عوامل الخطر.

الهدف من هذا العمل هو استكشاف عوامل الخطر الأكثر شيوعاً في تطور هذا النوع من السرطان وإثبات وجود ارتباط محتمل بين تعدد الأشكال الإدراج / الحذف لأنزيم تحويل الأنجيوتنسين وسرطان عنق الرحم.

تستند دراستنا على دراسة مكونة من 12 شخصاً مصاباً بسرطان عنق الرحم و 15 أصحاء. يتم إجراء استخراج الحمض النووي من الكريات البيضاء لمجتمع الدراسة. يتم تحديد التركيب الوراثي لتعدد الأشكال بواسطة تفاعل البوليميراز المتسلسل المباشر. تم تأسيس مقارنة الترددات الأليلية والوراثية بين المجموعتين من خلال حساب نسبة الأرجحية مع فاصل الثقة 95 %.

أظهرت النتائج أن ظهور سرطان عنق الرحم سائد عند البالغات اللاتي تتراوح أعمارهن بين 50 إلى 60 سنة. 41.66% من مرضانا مارسن نشاطاً جنسياً بين 15 و 20 عامًا ، 16.66% حملن لأول مرة في سن مبكرة جداً (بين 15 و 20 عامًا). بالإضافة إلى ذلك، تشكل النساء المرضى اللواتي تملكن أزيد من 10 أطفال 25 % من مجتمع الدراسة، 66.66 % من المرضى يستخدمن وسائل منع الحمل عن طريق الفم. جميع النساء المرضى يأتون من مستوى اجتماعي واقتصادي منخفض. بالإضافة إلى ذلك، كافتهن لم تستهلكن التبغ وعامتهن لم تمارسن الجنس مع عدة شركاء. أظهرت الدراسة السريرية أن أكثر أنواع سرطان عنق الرحم المنتشرة هو هي سرطان الخلايا الحرشفية. بينما المرحلة الثانية صنف ب هي الأكثر شيوعاً.

أخيراً، تشير نتائج الدراسة الجزيئية إلى أن 0% من المرضى ينتمين إلى النمط الوراثي متماثل الزيجوت، مقارنةً بالأصحاء (40%). ومع ذلك، هناك فرق كبير ($E = 0.0046$) في الأليل المتحور للحذف بالنسبة إلى أليل الإدراج، مما يؤكد وجود علاقة بين تعدد الأشكال الإدراج / الحذف و قابلية الإصابة بسرطان عنق الرحم. و مع ذلك، هناك حاجة إلى مزيد من الدراسات على عينة أكبر لتأكيد هذه النتيجة.

الكلمات الرئيسية: سرطان عنق الرحم، عوامل الخطر، أنزيم تحويل الأنجيوتنسين، تعدد الأشكال الإدراج / الحذف.

<p align="center">Année universitaire : 2018-2019</p>	<p align="center">Présenté par : Dridi Ryma Lemoui Mimouna</p>
<p align="center">Titre Implication du polymorphisme ID du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine I dans la survenue du cancer du col de l'utérus</p>	
<p align="center">Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Génétique</p>	
<p>Résumé</p> <p>Le cancer du col utérin est une pathologie d'origine infectieuse. Il se place au deuxième rang des cancers féminins dans le monde, son incidence varie en fonction de plusieurs facteurs de risque. L'objectif de ce travail est d'explorer les facteurs de risque les plus courants dans l'apparition de ce type de cancer et de démontrer une possible association entre le polymorphisme insertion/délétion de l'enzyme de conversion de l'angiotensine et le cancer du col de l'utérus.</p> <p>Notre étude de type cas-témoin regroupe 12 sujets atteints du cancer du col de l'utérus et 15 sujets témoins. Une extraction de l'ADN leucocytaire est réalisée pour la population d'étude. Le génotypage du polymorphisme de l'ECA est déterminé par la méthode PCR directe. La comparaison des fréquences alléliques et génotypiques entre les deux groupes a été établie par le calcul de l'Odds ratio avec un intervalle de confiance à 95 %.</p> <p>Les résultats relevés montrent que l'apparition du cancer du col de l'utérus est majoritaire chez les personnes âgées de 50 à 60 ans. 41,66 % de nos patientes ont commencé leur vie sexuelle entre 15 et 20 ans, 16,66 % ont eu leur première grossesse à un âge très précoce (entre 15 et 20 ans). De plus, les patientes multipares, qui ont plus de 10 enfants, constituent 25 % de la population d'étude et 66,66 % des patientes ont utilisé des méthodes de contraception orale. Toutes les femmes malades sont issues d'un niveau socio-économique bas. Par ailleurs, dans notre étude aucune patiente n'est fumeuse et aussi aucune femme n'a eu plusieurs partenaires sexuelles. L'étude clinique montre que le type histologique le plus répondu est le carcinome épidermoïde. Tandis que, le stade IIB est le plus représenté.</p> <p>Enfin, les résultats de l'étude moléculaire indiquent que 0 % des patientes sont du génotype homozygote DD, par rapport aux témoins (40 %). Mais, il existe une différence significative ($p=0,0046$) de l'allèle muté D par rapport à l'allèle I, ce qui confirme le rôle supposé de l'allèle D du gène de l'ECA et la susceptibilité du cancer du col de l'utérus dans notre population. Des études supplémentaires sont nécessaires pour confirmer cela.</p>	
<p>Mots-clefs : Cancer du col de l'utérus, facteurs de risque, ECA, polymorphisme I/D.</p>	
<p>Laboratoires de recherche :</p> <p align="center">Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire (Université des Frères Mentouri, Constantine 1).</p>	
<p>Président du jury : Rezgoune Mohamed Larbi (MCA - Université des Frères Mentouri, Constantine 1). Encadreur : Semmame Ouarda (MCB - Université des Frères Mentouri, Constantine 1). Examinatrice : Rezgoune-Chellat Djalila (MCA - Université des Frères Mentouri, Constantine 1).</p>	