

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 Animal

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة
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 Biologique

Spécialité : Génétique

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Association du polymorphisme I/D de l'enzyme de conversion de
l'angiotensine (ECA) au cancer colorectal**

Présenté et soutenu par : Dabouz Belhadj

le : 15/07/2021

Djoudi Yousra

Jury d'évaluation :

Président du jury : Pf SATA Dalila (PROF - Université des Frères Mentouri, Constantine 1)

Encadreur : Dr SEMMAME Ouarda (MCB - Université des Frères Mentouri, Constantine 1)

Examinatrice : Dr SEDRATI Khadidja ((MCB - Université des Frères Mentouri, Constantine 1)

Année universitaire : 2020/2021

**« Nous remercions Allah le tout puissant, qui
grâce à sa puissance et sa Majesté, nous a
donné le courage, la force, et la santé
nécessaires tout au long de notre *parcours pour
accomplir ce travail* ».**



*C'est avec respect que nous adressons nos remerciements les plus sincères à l'égard de notre encadreur Mme **SEMMAME** Ouarda pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire, ses encouragements, sa sympathie, ses commentaires et ses corrections à tout moment, nous sommes très heureux de vous connaître et de travailler avec vous.*

*Nous tenant à remercier sincèrement Mme **SATA** Dalila d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.*

*Nous remercions également à Mme **SEDRATI** Khadidja d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

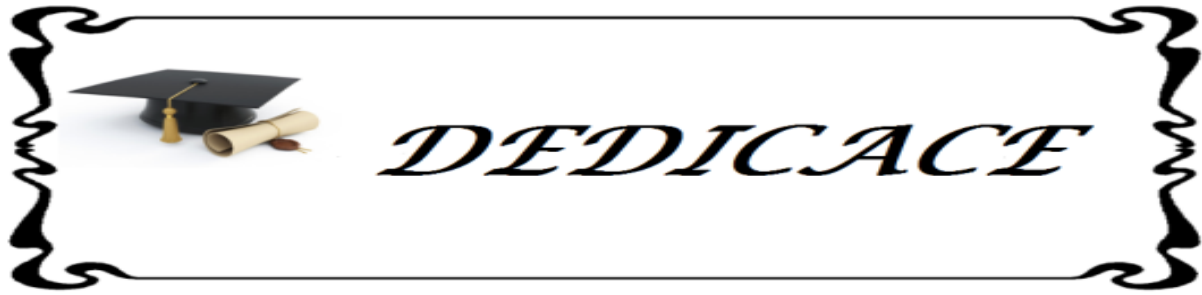
*Sans oublier Mme **YADA-BOUCHAR** Hadia pour son aide en nous procurant les **ADN** des patients.*

On n'oublie pas nos parents pour leur contribution, leur soutien et leur patience.

Nous remercions tous ce qui nous ont aidé à réaliser notre partie pratique au laboratoire de biologie moléculaire à L'université des frères Mentouri.

Enfin nous adressons nos plus sincères remerciements au corps professoral et administratif de l'Université, pour la richesse et la qualité de leur enseignement et qui déploient de grands efforts pour assurer à leurs étudiants une formation actualisée.

Merci, à tous ceux qui ont participé à ce travail



Je dédie ce modeste travail ...

A mes parents, Chemes Eddine et Latifa

Zui peuvent être fières qu'ils trouvent ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans ma vie. Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de vous.

A mes sœurs, Ines et Malika

Merci pour tout, pour votre amour, la confiance et l'énergie que vous me donnez.

A mon adorable grand-mère, Cherifa

Je tiens particulièrement aujourd'hui à te dire combien ton rôle a été primordial tout au long de mes études. Que Dieu le tout puissant vous garde et vous procure santé et bonheur.

A toute ma famille, Djoudi

Merci pour vos encouragements et votre compréhension.

A mon binôme, Belhadj

Avec qui j'ai partagé le tout merci.

Tous mes enseignant(e)s : « l'équipe de génétique moléculaire »

Merci chaleureusement à vous avec mes cordiales salutations

Yousra

Je dédie ce modeste travail ...

*A ma mère, **Souad** et mon père, **Mohammed***

*Nos chers parents : Qui n'ont jamais cessé de nous encourager et nous conseiller
Ils nous ont beaucoup aidé tout au long de notre chemin, grâce à leur amour,
leur dévouement, leur compréhension et leur patience sans jamais nous quitter
des yeux ni baisser les bras et leurs soutien moral et matériel, on ne saurait
jamais traduire ce qu'on ressent vraiment envers eux.*

A mes sœurs et frère

Pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral,

*Oncle **Ibrahim** et sa femme*

*Je les remercie beaucoup pour leur soutien, leurs encouragements, et leur
gentillesse*

*A toute ma famille, **Dabouz** et **Meharzi***

Merci pour vos encouragements et votre compréhension

*Mes amis proches, **Saifi Taha** et **Benzeggouta Bilel**.*

Je dois vous dire que vous n'êtes pas amis mais mes vous êtes mes frères

A tous mes amis et mes collègues

*Pour passer les bons moments ensemble et les soutenir et être à mes côtés dans
les moments difficiles.*

*A mon binôme, **Youssef***

Tous mes enseignant(e)s : « l'équipe de génétique moléculaire »

Merci chaleureusement à vous avec mes cordiales salutations

BELHADJ

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction 01

La partie théorique

Généralités sur le cancer colorectal

1-Rappel sur le colon et le rectum.....03

1-1-Aspect anatomique..... 03

1-2-Histologie du colon et du rectum.....03

1-3- Rôle principal du colon et du rectum.....04

2- Définition du CCR.....04

3- Aspect épidémiologique du CCR.....05

3.1. Dans le monde.....05

3-2- En Algérie.....05

4- Classifications histopronostiques des adénocarcinomes colorectaux.....07

4-1- Classification TNM.....07

4-1-1- Taille et profondeur de la tumeur primitive.....07

4-1-2- Atteinte ou non des ganglions lymphatiques et nombre de ganglions atteints.....07

4-1-3- Présence ou non de métastases autres que dans les ganglions lymphatiques.....08

4-2- Stades du CCR.....09

5- Facteurs de risque.....10

5-1- Régime et mode de vie.....10

5-1-1- Inactivité physique.....10

5-1-2- Tabagisme.....10

5-1-3- Obésité et calories.....11

5-1-4-Comportement alimentaire.....11

5-1-5-Alcool11

5-2- Age.....11

5-3- Sexe.....11

5-4- Facteurs héréditaires et génétiques.....11

5-5- Maladies inflammatoires chroniques12

6- Signes cliniques.....	12
7- Dépistage du cancer colorectal	12
7-1- Coloscopie.....	12
8- Traitement	13

Génétique du cancer colorectal

1-Différents types de cancers du côlon.....	16
1-1-Formes sporadiques.....	16
1-2-Formes héréditaires	17
1-2-1-Formes polyposiques	17
1-2-2-Formes non polyposiques	19
2- Mécanismes de la carcinogénèse du CCR	20
2-1-Instabilité chromosomique.....	20
2-2-Instabilité microsatellite	20
2-3-Hyperméthylation des ilots CpG.....	21

Enzyme de conversion de

l'angiotensine (ECA)

1-Système Rénine Angiotensine (SRA)	23
2-Rôle du SRA.....	23
3-Enzyme de conversion de l'Angiotensine	24
3-1- Protéine ECA.....	24
3-2 Homologue de l'ECA.....	24
3-3- Structure de l'ECA.....	24
3-4- Rôle de l'ECA.....	25
3-5- Gène de l'ECA	26
4- Polymorphismes génétiques de l'ECA.....	26
4-1- Polymorphisme I/D de l'ECA.....	27
4-2- Corrélation génotype –phénotype.....	27
4-3- Le polymorphisme I/D d'ECA et les cancers.....	28
5-Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (iECA).....	28

Partie pratique

Matériels et méthodes

1-Population d'étude.....	30
1-1-Population témoin.....	30

1-2- Population malade.....	30
2- Méthodes de travail.....	31
2-1- Recueil des données.....	31
2-2- Prélèvement sanguins.....	31
3-Étude Moléculaire.....	31
3-1- Extraction de l'ADN.....	31
3-1-1- Principe de l'extraction d'ADN.....	32
3-2- Recherche du polymorphisme I/D de l'ECA.....	32
3-2-1- Amplification par PCR.....	32
3-2-2- Contrôle des produits de la PCR.....	34
4-Étude statistique.....	35
4-1- Calcul de l'odds Ratio.....	35
4-2- Choix de la P « value ».....	36

Résultat et discussion

1-Répartition des sujets selon l'âge et le sexe.....	37
1-1-Les témoins.....	37
1-2-Les patients.....	38
2- Étude des facteurs de risque	39
2-1- Le tabagisme	39
2-2- Les boissons alcoolisées	40
2-3 - les maladies inflammatoires.....	41
3- Étude des caractéristiques cliniques de la tumeur.....	41
3-1- Selon la localisation de la tumeur.....	41
3-2-Selon le stade TNM.....	42
3-3- Selon les antécédents familiaux.....	43
4- Étude moléculaire.....	44
4-1-Répartition des fréquences génotypiques du gène ECA.....	44
Conclusion et perspectives	47
Références bibliographiques.....	49
Webographie.....	59

Annexes

Résumés

Liste des abréviations

ACS : *American Cancer Society*
AND : Acide DésoxyriboNucléique
ANG : Angiotensinogène
Ang I : Angiotensine I
Ang II : Angiotensine II
APC : *Adenomatous Polyposis Coli*
ARN : Acide RiboNucléique
AT1R : Récepteur de l'angiotensine II de type 1
AT2R : Récepteur de l'angiotensine II de type 2
BAX : Bcl-2-Associated X protein
BER : Base Excision Repair
CCR : Cancer Colorectal
CDK : Cyclin-Dependent kinase
CGH : Hybridation Génomique Comparative
CHUC : Centre Hospitalier Universitaire de Constantine
CIMP : *CpG Island Methylator Phenotype*
CIN : Cervical Intraepithelial Neoplasia
CpG : Cytosine-Phosphate-Guanine
D/D : Délétion/Délétion
dNTP : désoxyribonucléotides triphosphates
ECA 1F : ECA Forward
ECA 1R : ECA Reverse
ECA 2 : Enzyme de Conversion de l'Angiotensine de type 2
ECA : Enzyme de Conversion de l'Angiotensine
EDTA : *Ethylene Diamine Tetraacetic Acid*
EPCAM : *Epithelial cell adhesion molecule*
ESMO : Société Européenne d'Oncologie Médicale
FAP : Polypose Familiale Adénomate
FIT : *Fecal immunochemical test*
GRE : Glucocorticoides
HPNCC : *Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer*

HSP : Protéines de choc thermiques
I/D : Insertion/Délétion
I/I : Insertion/Insertion
iECA : Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine
IND : Institut National Du cancer
Kb : Kilobase
KDa : KiloDalton
KRAS : Kirsten Ras
LOH : *Loss of Heterogytie*
MAP : *MUTYH Associated Polyposis*
MLH : *MutL Homolog Human*
MMR : *MisMatch Repair*
MSH : *MutS Homolog Human*
MSI : Microsatellite Instable
MSS : Stabilité des microsatellites
MUTYH : MutY DNA glycosylase
NCBI : National Center for Biotechnologie Information
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
OR : Odds Ratio
Pb : Pair de base
PCR : Polymerase Chain Reaction
PMS : *Postmeiotic Segregation increased*
SDS : Sodium Dodécyle Sulfate
SRA : Système Rénine Angiotensine
TCF4 : Transcription Factor 4
THBS1 : Thrombospondine 1
TNM : Tumeur Nodes et Métastases
TP53 : Tumor protein 53
UICC : Union International Contre le Cancer
5-FU : 5-Fluorouracile

Liste des figures

Figure 1 : Anatomie du colo-rectum	3
Figure 2 : Différentes couches de la paroi du côlon.....	4
Figure 3 : Répartition du cancer colorectal dans le monde.....	5
Figure 4 : Estimation de l'incidence des cancers en Algérie en 2020.....	6
Figure 5 : Estimation de l'incidence du CCR en Algérie en 2020, homme.....	6
Figure 6 : Estimation de l'incidence du CCR en Algérie en 2020 femme.....	6
Figure 7 : Schéma montrant les différents stades du développement du CCR.....	10
Figure 8 : Répartition des différents types du CCR	15
Figure 9 : Localisation du gène APC	16
Figure 10 : Génétique de la polypose adénomateuse familiale	17
Figure 11: Génétique du syndrome MAP	17
Figure 12 : Localisation du gène MUTYH	18
Figure 13 : Système rénine angiotensine	22
Figure 14 : Structure de l'enzyme de conversion de l'angiotensine	24
Figure 15 : Représentation schématique de certains polymorphismes du gène ECA humain avec des positions.....	26
Figure 16 : Localisation du gène de l'ECA	25
Figure 17 : Localisation des 2 promoteurs	25
Figure 18 : Mode d'amplification de l'ADN dans les différents cycles de PCR.....	31
Figure 19 : Profil électrophorétique des fragments amplifiés par PCR du gène de l'ECA sur gel d'agarose à 2%	34
Figure 20 : Logiciel statistiques médicale et épidémiologiques.....	35
Figure 21 : Répartition des témoins selon le sexe	36
Figure 22 : Répartition des témoins selon l'âge et le sexe	36
Figure 23 : Répartition des patients selon le sexe.....	37
Figure 24 : Répartition des patients atteints du CCR selon l'âge.....	38
Figure 25 : Répartition des patients selon la consommation du tabac	38
Figure 26 : Répartition des patients selon la localisation de la tumeur.....	40
Figure 27 : Répartition des sujets malades selon le stade TNM.....	41
Figure 28 : Répartition des malades selon les antécédents familiaux.....	42
Figure 29 : Répartition des fréquences génotypiques.....	43

Liste des tableaux

Tableau 1: Différents stades du cancer colorectal.....	9
Tableau 2 : Composants du milieu réactionnel de la PCR.....	32
Tableau 3 : Conditions d'amplification de la PCR.....	33
Tableau 4 : Tableau de contingence pour le calcul de l'odds ratio.....	35

Introduction

Le cancer colorectal (CCR), par sa fréquence et sa gravité, constitue un véritable enjeu de santé publique dans les pays développés. Annuellement, un total de près d'un million deux cent mille cas de cette pathologie sont diagnostiqués et près d'un demi-million de personnes en meurent (Bogaert et Prenen, 2014), c'est le deuxième cancer dans le monde chez femmes et le troisième chez les l'homme (Heike *et al.*, 2017).

En Algérie, le CCR est le deuxième cancer le plus fréquent après le cancer du sein, affectant plus de 6526 cas par ans (Globocan, 2020).

Le risque de développer un CCR est influencé par des facteurs environnementaux, à savoir, le mode de vie, les facteurs alimentaires et certains médicaments, qui peuvent être impliqués dans le déclenchement de certaines affections malignes. Dans le monde, l'incidence CCR a augmenté en parallèle avec développement de l'économie, la majorité des cas survenant dans les pays industrialisés, car il a été fortement associé à un mode de vie occidental : l'obésité, consommation de viande rouge excessive, la cigarette et l'alcool (Heike *et al.*, 2017).

Le CCR commence par une croissance anormale, connue sous le nom de polype, finit par devenir cancéreuse, elle peut former une tumeur sur la paroi du rectum ou du côlon, puis se développe en vaisseaux sanguins ou en vaisseaux lymphatiques, augmentant ainsi le risque de métastases à d'autres sites (Marley et Nan, 2016).

Le CCR serait le résultat de plusieurs combinaisons de gènes mutés ou polymorphes interagissant avec une variété de facteurs environnementaux, à la fois biologiques et psychosociaux. Parmi les gènes polymorphes impliqués dans le déterminisme du CCR, nous avons le polymorphisme I/D du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA).

Le polymorphisme I/D est une insertion (allèle I) ou une délétion (allèle D) d'une séquence génomique de 287 pb au niveau de l'intron 16 du gène de l'ECA. Plusieurs études épidémiologiques ont lié le polymorphisme I/D du gène de l'ECA à la pathogenèse et à l'évolution des cancers humains notamment le CCR (Zheng *et al.*, 2017 ; Benenemissi *et al.*, 2019). L'explication de cette association peut être mise en évidence par le fait que l'angiotensine II, le principal substrat de l'ECA est le régulateur majeur de la tension artérielle et de l'homéostasie cardiovasculaire soit impliqué dans la régulation de la prolifération cellulaire, de l'angiogenèse, de l'inflammation et du remodelage des tissus, ce qui suggère que ce peptide pourrait également jouer un rôle dans les cancers (Deshayes et Nahmias., 2005).

Nous avons assigné comme objectifs d'explorer les facteurs de risques les plus courants chez les sujets avec un CCR, et démontrer une possible association entre un nouveau marqueur génétique qui est le polymorphisme insertion/délétion de l'ECA et la carcinogenèse du CCR.

Généralités sur le cancer colorectal

1- Rappel sur le colon et le rectum

1-1-Aspect anatomique

Le côlon et le rectum forment le gros intestin, c'est-à-dire la dernière partie du tube digestif, le côlon est la partie du tube digestif, situé dans l'abdomen, entre l'intestin grêle et le rectum, son diamètre moyen est de 4 cm pour une longueur de 1.5 m (Faucheron, 2005).

Le colon se divise en 4 parties (Figure 1) :

- le côlon droit, qui débute avec le cæcum auquel est accolé l'appendice, continu par le côlon ascendant et se termine à l'angle droit, sous le foie ;
- le côlon transverse qui s'étend de l'angle droit à l'angle gauche, il est voisin de l'estomac ;
- le côlon gauche, qui commence à l'angle gauche, continue par le côlon descendant ;
- enfin le côlon sigmoïde, il relie le côlon gauche au rectum.

Le rectum constitue la dernière partie du tube digestif. Il est situé entre le côlon et le canal anal. Il se divise en haut, moyen et bas rectum (Thierry *et al.*, 2015).

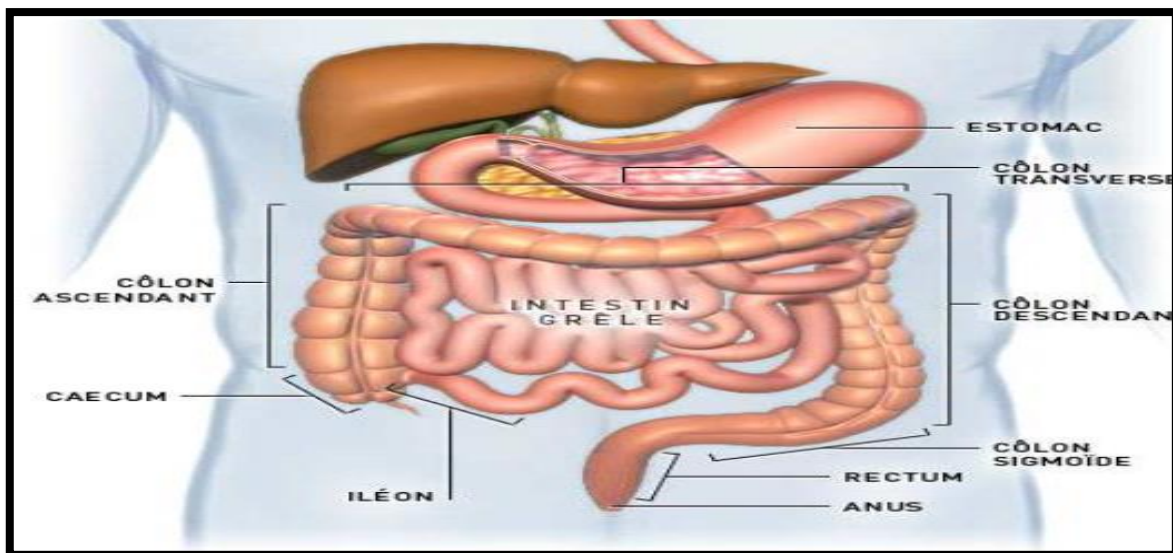


Figure 1: Anatomie du colo-rectum (w1).

1-2-Histologie du colon et du rectum

La paroi du rectum, comme celle du colon, est constituée de 5 couches différentes qui se superposent. Les couches de l'intérieur vers l'extérieur sont (Figure 2) :

- la muqueuse (couche la plus interne) ;
- la musculaire muqueuse ;
- la sous-muqueuse ;

- la musculature (deux couches de muscles) ;
- la couche séreuse (couche externe), qui constitue une partie du péritoine (Guillaume, 2008).

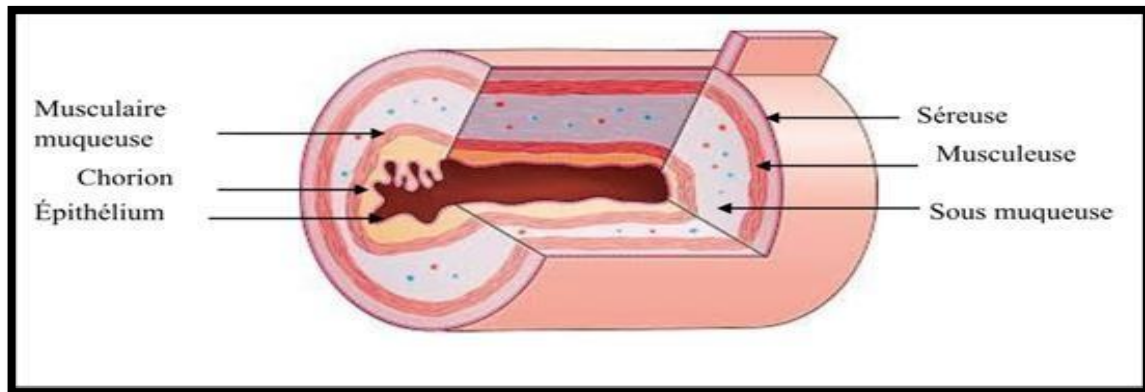


Figure 2 : Les différentes couches de la paroi du côlon (Schäffler *et al.*, 2004).

1-3- Rôle principal du colon et du rectum

Le rôle principal du colon est la réabsorption de l'eau et des sels, alors que le rôle du rectum est le stockage et l'évacuation des selles.

Les principales fonctions sont :

- motricité : celle-ci constitue surtout dans le stockage et le brassage des matières alimentaires et se traduit par des mouvements de contraction segmentaire.
- absorption : il s'agit principalement de la réabsorption d'eau, des éléments minéraux, de vitamines et de sels minéraux.
- sécrétion : la sécrétion exocrine concerne le mucus des cellules caliciformes qui permet la protection de la muqueuse vis-à-vis de matières fécales formant ainsi de plus en plus solides.
- digestion : la dégradation des matières alimentaires ayant échappé à l'absorption intestinale est assurée par flore bactérienne du côlon (Kohler, 2010).

2- Définition du CCR

Le cancer colorectal est une maladie des cellules qui tapissent l'intérieur du côlon ou du rectum, c'est aussi un cancer siégeant dans la région du colon et du rectum caractérisé par une prolifération anormale de cellules dans gros intestin et par la formation de carcinomes glandulaires aux adénocarcinomes (ESMO, 2016).

C'est le cancer le plus fréquent du tube digestif, résulte de l'accumulation de mutation dans différents gènes au sein des cellules qui tapissent la couche la plus interne de la paroi colique appelée « muqueuse ». Ces mutations sont responsables de la prolifération excessive

et anarchique de ces cellules qui aboutit à la formation de petites tumeurs initialement bénignes appelées « adénomes » ou « Polypes adénomateux ». Ces polypes peuvent se transformer secondairement en tumeurs malignes, c'est à dire cancéreuse également appelées « adénocarcinomes », avec le temps, et si aucun traitement n'est effectué, pour donner naissance à des métastases (Morere, Mitry, 2010).

3- Aspect épidémiologique du CCR

3-1- Dans le monde

International Agency for Research on Cancer a enregistré 1 849 518 CCR dans le monde en 2018. Les régions où l'incidence des cas est la plus élevée sont en Asie (51.8 %) en Europe (27 %) et en Amérique du Nord (9.7 %). On retrouve dans les pays d'Afrique (3.3 %) et d'Asie Sud-Central les incidences les plus faibles (Ferlay *et al.*, 2018).

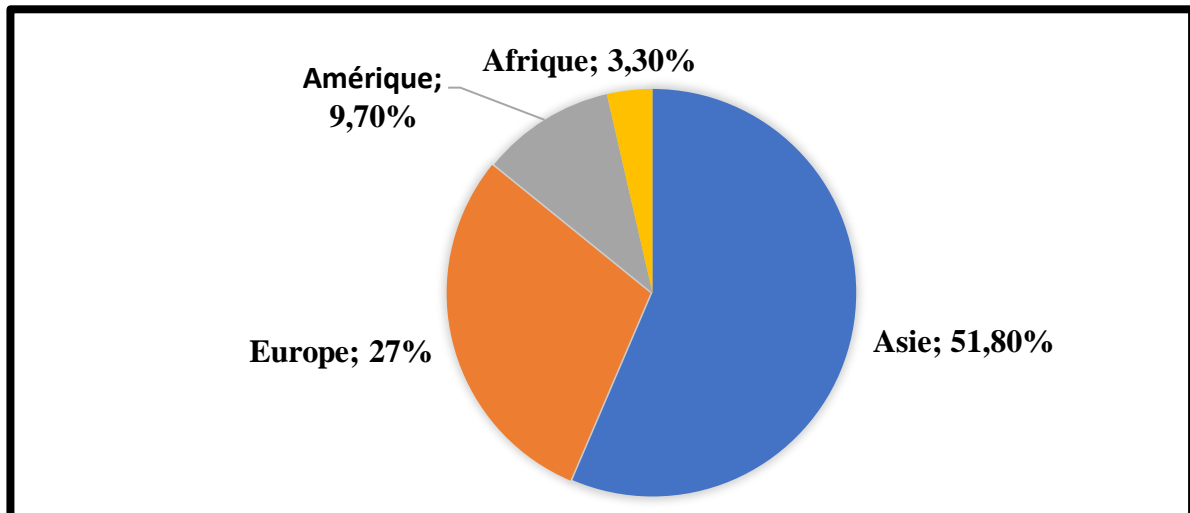


Figure 3 : Répartition du cancer colorectal dans le monde (Globocan,2018).

3-2- En Algérie

En Algérie, l'incidence du CCR est de 6526 cas par an (Figure 4). Il est classé en deuxième position après le cancer du sein. Il constitue le troisième cancer après celui du poumon et de la prostate chez les hommes soit 3458 cas/ans (Figure 5), et le deuxième après celui du sein chez les femmes 3068 cas (Figure 6) (GLOBOCAN, 2020).

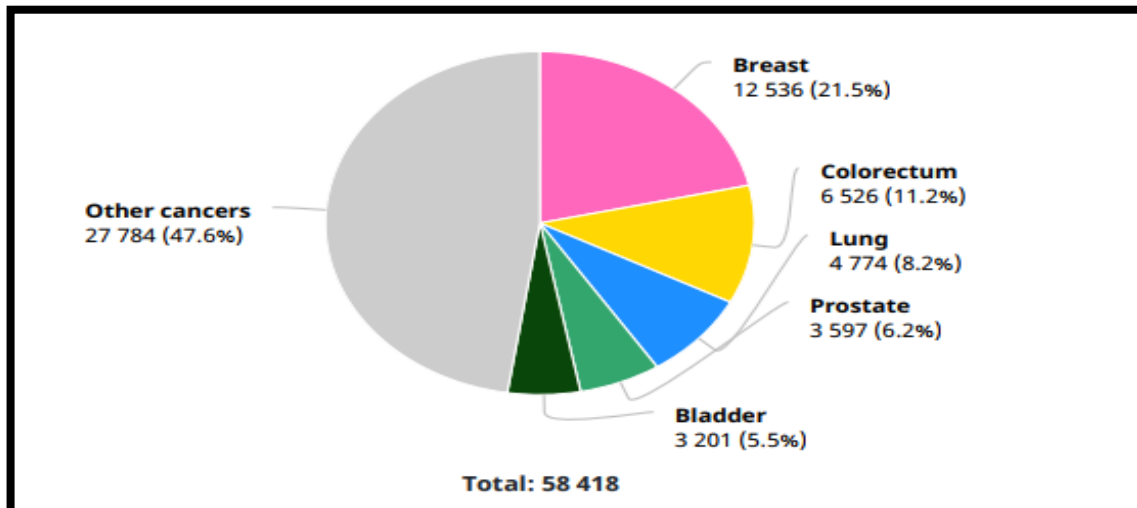


Figure 4 : Estimation de l'incidence des cancers en Algérie en 2020 (Globocan,2020).

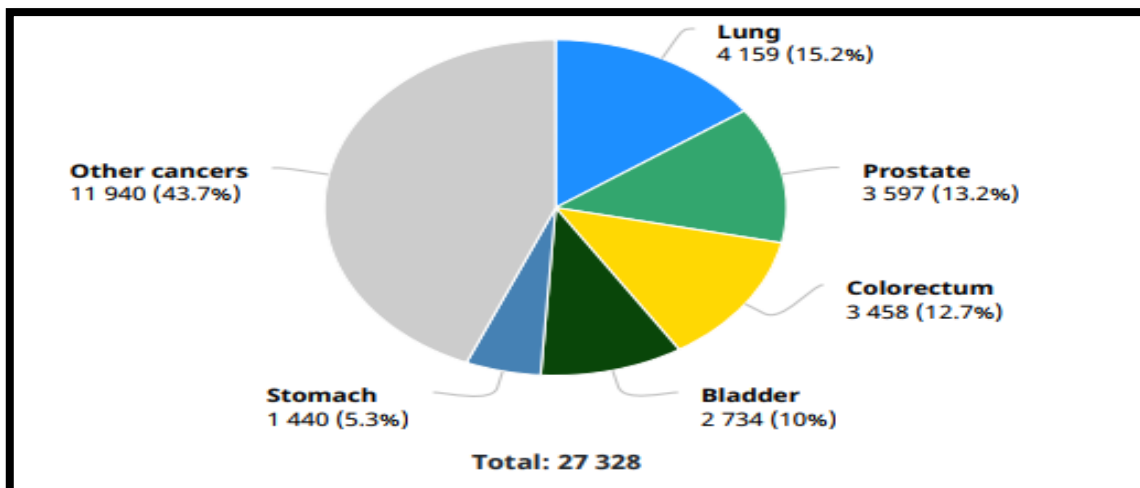


Figure 5 : Estimation de l'incidence du CCR en Algérie en 2020, homme (Globocan,2020).

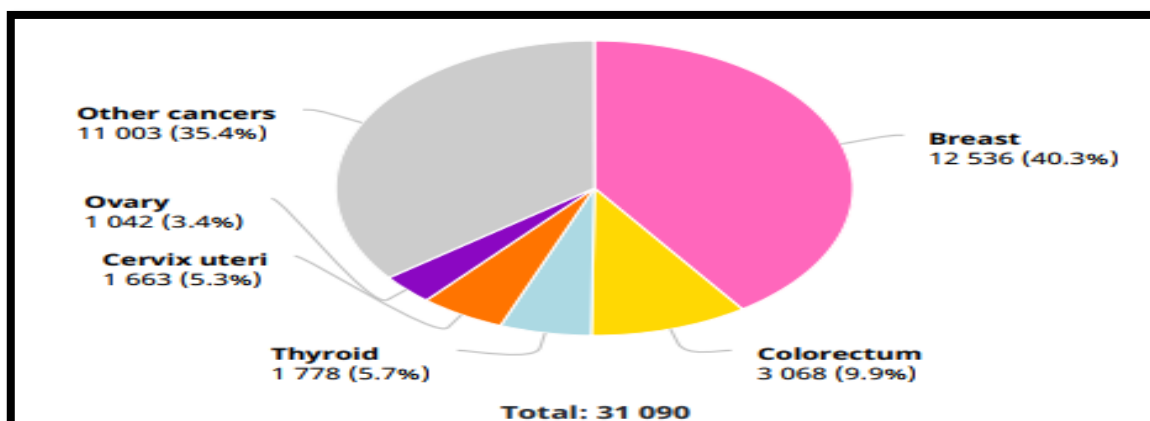


Figure 6 : Estimation de l'incidence du CCR en Algérie en 2020, femme (Globocan,2020).

4- Classifications histopronostiques des adénocarcinomes colorectaux

Il existe plusieurs classifications telles que Classification de Dukes proposée en 1932 ou Classification d'Astler-Coller proposée en 1954, mais cette classification, plus simple, et la plus ancienne.

La classification la plus récente est celle proposée par l'UICC (l'Union International contre le Cancer), c'est la classification TNM (Tumeur Nodes et Métastases), elle est indiscutablement la meilleure classification histopronostique, elle fait l'objet d'un consensus international et est sensiblement identique dans tous les segments du tube digestif. La classification TNM est la classification recommandée actuellement en pratique par les sociétés savantes (Hari *et al.*, 2013).

4-1- Classification TNM

Les stades du CCR décrivent la taille de la tumeur, à quelle profondeur elle a pénétré dans paroi du colon ou du rectum et si le cancer s'est propagé aux ganglions lymphatiques ou à d'autres endroits du corps au-delà du lieu où il est d'abord apparu. Les 5 stades du CCR sont représentés dans le tableau 1 (ACS, 2009) et prennent en compte 3 critères :

4-1-1 - Taille et profondeur de la tumeur primitive

- Tis : développement intraépithélial ou chorion ;
- T0 : Carcinome in situ, tumeur intraépithéliale ou envahissant la muqueuse sans extension à la sous-muqueuse ;
- T1 : Tumeur envahissant la sous-muqueuse sans la dépasser ;
- T2 : Tumeur envahissant la musculature sans la dépasser ;
- T3 : Tumeur envahissant, à travers la sous-muqueuse, la sous-séreuse sans atteindre le revêtement mésothélial et le tissu péricolique non péritonéalisé ;
- T4 : Tumeur perforant le péritoine viscéral et/ou envahissant les organes de voisinage.

T4a : tumeur qui perfore le péritoine viscéral.

T4b : tumeur qui envahit directement d'autres organes ou structures, dont d'autres segments du colon ou du rectum par la séreuse.

4-1-2 - Atteinte ou non des ganglions lymphatiques et nombre de ganglions atteints

Après prélèvement, les ganglions lymphatiques sont analysés au microscope pour observer s'ils contiennent ou non des cellules cancéreuses. Si aucun ganglion n'est atteint, le cancer est resté localisé. Moins il y a de ganglions atteints et meilleures seront les chances de guérison.

- N0 : Absence de métastase ganglionnaire régionale.

– N1 : Métastase dans un à trois ganglions lymphatiques régionaux.

N1a : un seul ganglion

N1b : 2 à 3 ganglions

N1c : ganglion péricolique

– N2 : Métastase dans quatre ou plus ganglions lymphatiques régionaux.

N2a : 4 à 6 ganglions

N2b : plus de 7 ganglions

-Nx : statut ganglionnaire non évaluable

4-1-3 - Présence ou non de métastases autres que dans les ganglions lymphatiques

Lors du diagnostic de la tumeur primitive, un bilan d'extension est réalisé afin de savoir s'il y a présence ou non de métastases.

– M0 : Absence de métastases.

– M1 : Présence de métastases (l'atteinte des ganglions iliaques externes ou iliaques communs est considérée comme M1).

M1a : un seul organe

M1b : plus d'un organe

-Mx : statut métastatique méconnu (Dhifallah *et al.*, 2020).

4-2-Stades du CCR

Le CCR se développe selon 5 stades différents (Figure 7).

Tableau 1: les différents stades du cancer colorectal (Viguiier *et al.*, 2003)

Stade	Description
0 (T0 N0 M0)	Les cellules anormales sont localisées dans le revêtement interne (muqueuse) du colon ou du rectum. Ces cellules peuvent devenir cancéreuses et se propager. Le stade 0 du CCR est aussi appelé carcinome in situ. Il n'y a ni ganglions lymphatiques atteints ni métastases.
1 (T1 N0 M0, T2 N0 M0)	La tumeur (cancer) s'est propagée dans la paroi interne du colon ou rectum (La sous-muqueuse ou la musculuse) mais ne l'a pas traversé. Les ganglions lymphatiques ne sont pas atteints et il n'y a pas de métastase à distance.
2 (T3 N0 M0, T4 N0 M0)	La tumeur (cancer) s'est propagée plus profondément dans la paroi du colon ou du rectum ou l'a traversée, et elle peut envahir les tissus environnants, mais n'a pas atteint les ganglions lymphatiques.
3 (T1T2N1N2 M0, T3N1N2 M0, T4N1N2M0)	Les cellules cancéreuses ont traversé plusieurs couches de la paroi du côlon ou du rectum ; aucun ganglion lymphatique n'est atteint et il n'y a pas de métastase.
4 (Tout T, tout N, M1)	Le cancer s'est propagé à d'autres parties du corps comme le foie et les poumons.

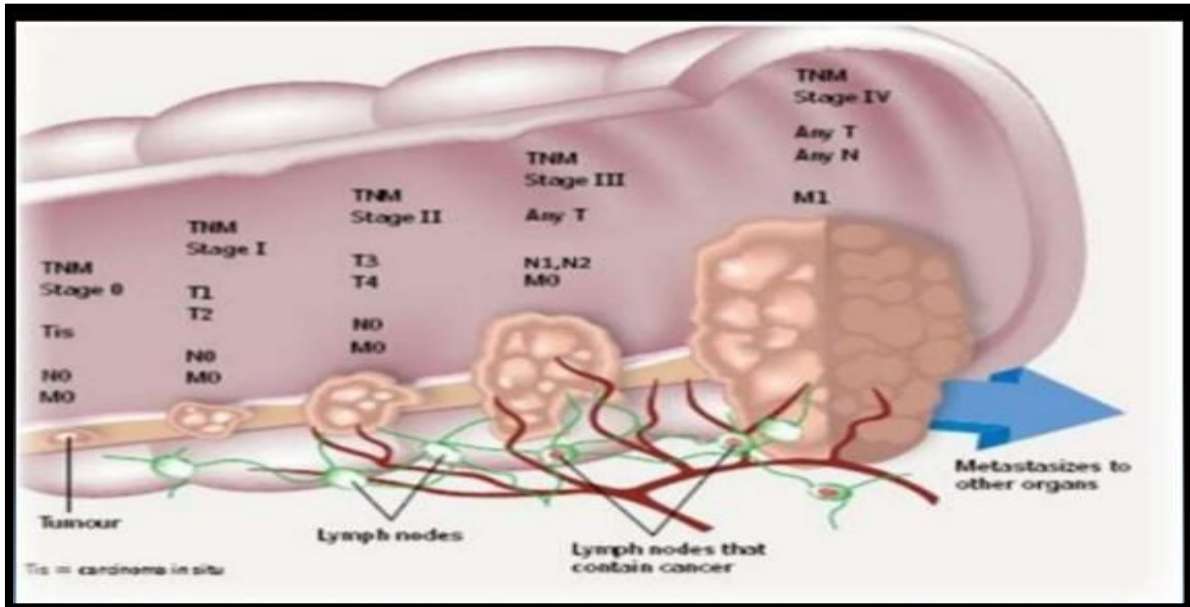


Figure 7 : Schéma montrant les différents stades du développement du CCR
(Association Canadienne, 2008).

5- Facteurs de risque du CCR

Le CCR n'est pas attribuable à une cause unique, mais certains facteurs connus pourraient augmenter le risque qu'une personne en soit atteinte.

5-1- Régime et mode de vie

Le CCR est lié au mode de vie, l'obésité, la consommation d'alcool, du tabac, et une grande consommation de la viande transformée ou rouge. Tous ces facteurs augmentent le risque de développer ce type de cancer, tandis qu'un exercice physique quotidienne et une alimentation riche en fruits, légumes et céréales pourraient le réduire (Sharon, 2011).

5-1-1 - Inactivité physique

La pratique régulière d'exercices physiques au cours de la vie est liée à une baisse du risque de CCR (réduit le temps de passage des selles dans le côlon) (Leitzmann, 2011). L'activité physique peut atténuer l'inflammation, accroître la fonction immunitaire et aider à régulariser les taux d'insuline, ce qui est susceptible de réduire le risque de CCR (Kushi *et al.*, 2012).

5-1-2 - Tabagisme

Des indications suffisantes de cancérogénicité chez l'homme ont été mises en évidence entre le tabagisme et les CCR. Le tabagisme augmente le risque de développer de grands polypes colorectaux, qui sont connus pour être des lésions précancéreuses, et les produits de dégradation du tabac constituent aussi un facteur de risque dans la survenue du CCR (Yang *et al.*, 2016).

5-1-3-Obésité et calories

Une obésité de type androïde ainsi que la sédentarité sont associées à un risque augmenté d'adénome ou de CCR (Manceau *et al.*, 2014).

La relation entre surpoids, obésité et augmentation de risque de cancer est jugée convaincante pour le CCR (WCRF, 2017).

5-1-4-Comportement alimentaire

Le CCR est le cancer le plus directement influencé par l'alimentation, notamment une alimentation riche en viandes rouges, graisses animales et pauvre en fibres (Laour et Daouadi, 2016).

La désorganisation du rythme des repas et le grignotage ont été associés à une augmentation de risque de CCR, et la consommation de 100 g/j de fruits ou de légumes diminue le risque de CCR (Riboli et Norat, 2003 ; Kunzmann *et al.*, 2016).

5-1-5-Alcool

La consommation de boissons alcoolisées est une cause convaincante de CCR. Ceci est basé sur des preuves de consommation supérieure à 30 g/j (WCRF, 2017).

5-2 - Âge

Comme pour la plupart des cancers, l'âge est un facteur de risque important de CCR. Avant 40 ans, les CCR sont rares. Le risque augmente progressivement à partir de l'âge de 50 ans et s'accroît jusqu'à 80 ans. 94 % des CCR se manifestent chez les personnes de plus de 50 ans (Manceau, 2014).

5-3 - Sexe

Les différentes données épidémiologiques révèlent des incidences de CCR occlusifs voisines pour les deux sexes.

Certains auteurs notent une légère prédominance masculine (Kouadio et Turquin, 2003) d'autres notent une certaine prédominance féminine (Rault *et al.*, 2005).

5-4- Facteurs héréditaires et génétiques

La plupart des cas de CCR sont sporadiques (80 %), mais on estime que (15 %) des cas ont une composante héréditaire. Les facteurs génétiques sont évoqués dans la Ppolypose adénomateuse familiale (PAF) qui représente 1 % des cas de CCR, le syndrome de LYNCH où il représente 3 à 5 % des cas de CCR (Manceau *et al.*, 2014).

Le risque d'avoir un CCR est plus élevé si un proche a (ou a eu) un CCR. Le risque est lié plus fort qu'il y a des membres atteints dans la famille, et que ce (s) derniers sont proches

(s) (père, mère, frère, sœur) et jeunes. Sur un identifié des familles à très haut risque, où les gens ont une mutation spécifique qui les prédispose à ce cancer (Viguié, 2003).

5-5 - Maladies inflammatoires chroniques

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin constituent un risque accru d'apparition du cancer digestif en particulier après 8 à 10 ans d'évolution (Barthet, 2004 ; Bilon *et al.*, 2013). Parmi elles nous citons :

- La maladie de Crohn ;
- La rectocolite hémorragique (appelée aussi colite ulcéreuse).

A savoir que le CCR est trois fois plus fréquent chez les patients atteints de maladie de Crohn ou de rectocolite hémorragique par rapport à la population générale (IND, 2011).

6- Signes cliniques

Le CCR reste longtemps discret, mais entraîne progressivement des symptômes digestifs et abdominaux s'il reste non diagnostiqué. Plus le diagnostic tarde à être posé et plus ces symptômes sont nombreux et fréquents (Malleme D, 2009) :

- 30 % ont des signes d'obstruction chronique : constipation alternant avec diarrhée de vidange surtout lorsque la tumeur est située au niveau du côlon gauche ;
- 30 % ont des signes d'anémie chronique surtout lorsque la tumeur est située au niveau du côlon droit ;
- 40 % des douleurs abdominales liées à la contraction de l'intestin, évoluant par crises de deux ou trois jours et accompagnées parfois de bruits abdominaux, souvent calmées par l'émission de matières ou de gaz ;
- 15 % ont une altération de l'état général (dénutrition, perte de poids, fatigue) ;
- 8 % ont une complication aiguë inaugurale (péritonite par perforation, tableau d'abcédation, occlusion).

7- Dépistage du cancer colorectal

La mise en œuvre du dépistage du CCR pour la détection des polypes prémalins a conduit à des améliorations de l'incidence du cancer et de la survie. Plusieurs modalités de dépistage sont disponibles avec différents degrés de sensibilité et de spécificité, mais la visualisation directe avec coloscopie reste la norme de référence pour le dépistage (Montminy *et al.*, 2020).

7-1 - Coloscopie

La coloscopie est un examen qui est prescrit dans le cadre d'un dépistage individuel chez les personnes présentant des facteurs de risque ou des symptômes évocateurs, ou encore chez les sujets dont le test immunologique de dépistage s'est avéré positif.

La coloscopie, dont l'objectif est de visualiser la muqueuse de la paroi intestinale, peut être mise en œuvre selon les protocoles l'un d'entre eux est réalisé sous brève anesthésie générale, consiste à introduire dans le colon, par les voies naturelles, un tube souple muni d'une caméra vidéo et d'une pince permettant d'effectuer des prélèvements (Gandon, 2014).

8- Traitement

Le 5-fluorouracile (5-FU) est le médicament de chimiothérapie de première intention pour le CCR, mais la plupart des patients deviennent résistants au médicament lors d'un traitement plus long. Après l'utilisation réussie de l'immunothérapie dans le traitement du mélanome, elle a été explorée avec enthousiasme dans différents types de cancers solides, y compris le CCR, l'immunothérapie a montré une rémission de longue durée dans un sous-ensemble de patients atteints d'un CCR métastatique.

Le nivolumab et le pembrolizumab (anticorps bloquant la mort cellulaire programmée) ont montré une efficacité dans le sous-type déficient de réparation des mésappariements à haute instabilité microsatellite élevée (dMMR-MSI-H) chez les patients atteints d'un CCR métastatique (Kishore, Bhadra, 2021).

A- Le traitement chirurgical du CCR :

Le traitement chirurgical varie selon la taille de la tumeur :

- La résection d'un polype montrant une lésion cancéreuse très limitée, lors de la coloscopie est parfois suffisante.
- Dans la plupart des cas, la chirurgie est indispensable. Elle est réalisée par laparotomie (ouverture de la paroi abdominale) ou par cœlioscopie.

Elle consiste à enlever la totalité de la tumeur et certains tissus sains environnants (en particulier les ganglions correspondants). Il est souvent nécessaire d'enlever la partie du côlon (colectomie partielle) ou du rectum où se trouve la tumeur.

Le chirurgien peut ensuite recoudre bout à bout les parties saines de l'intestin. Si cette dernière opération n'est pas possible, le côlon est alors rattaché à une ouverture dans la paroi de l'abdomen. Par cette ouverture, le contenu du côlon est évacué dans une poche qu'il faut changer régulièrement. Cette intervention, appelée colostomie, peut être permanente ou temporaire. La plupart des personnes réussissent à vivre le plus normalement possible avec leur colostomie.

Après l'intervention, une surveillance est nécessaire pour rechercher d'éventuelles complications :

- Fistule par défaut de cicatrisation de la suture entre les deux parties restantes du côlon,

- Saignement intra abdominal,
- Abscesses de paroi,
- Infection urinaire,
- Pneumonie,
- Phlébite,
- Diarrhée...

B- Le traitement du CCR par radiothérapie :

Dans certains cas de cancer du rectum, elle permet de détruire les cellules cancéreuses grâce à des rayons X de haute énergie. Elle peut également être utilisée pour le traitement de métastases.

Il existe des effets secondaires à la radiothérapie : rougeur de la peau, un peu comme après un coup de soleil, voire boursoufflement, diarrhée et fatigue. Ces effets secondaires s'estompent habituellement une fois que le traitement est terminé et que les cellules se sont régénérées.

C- Le traitement du CCR par chimiothérapie :

Dans certains cas, la chimiothérapie est nécessaire pour traiter efficacement un cancer du côlon ou du rectum.

Selon les situations, une chimiothérapie peut être pratiquée après la chirurgie pour éviter le risque de propagation des cellules cancéreuses. Elle peut également être nécessaire au traitement de métastases.

La chimiothérapie est administrée, le plus souvent, par injection dans une veine, mais aussi sous forme de comprimés.

En cas d'administration par voie veineuse, la mise en place d'une chambre implantable est nécessaire. Il s'agit d'un petit boîtier placé sous la peau (généralement au niveau du thorax), relié à un cathéter (tuyau souple et fin glissé dans une veine). Ce dispositif reste en place en permanence, pendant toute la durée de la chimiothérapie, puis de la surveillance après traitement. Il est placé sous anesthésie locale et enlevé de la même manière à la fin du traitement. Il permet d'injecter les médicaments à travers la peau tout en préservant les veines du patient.

Des patchs d'anesthésiants cutanés limitent la douleur lors du passage de l'aiguille à travers la peau. La chambre implantable offre aussi un meilleur confort de vie, car elle permet de poursuivre les activités quotidiennes.

Les effets secondaires de la chimiothérapie (nausées, inflammation buccale et aphtes, diarrhée ou constipation, fourmillements, perte des cheveux, fatigue, anomalies sanguines avec baisse des globules rouges, blancs et plaquettes) sont temporaires et non systématiques. D'importants progrès ont été réalisés pour les minimiser.

Génétique du cancer colorectal

1- Différents types du cancer colorectal

Parmi les CCR, on distingue les formes sporadiques (fortement majoritaires) et les formes familiales (ou héréditaires) qui surviennent chez des individus porteurs de prédispositions génétiques (figure 8).

Dans les CCR sporadiques, des altérations génétiques sont retrouvées uniquement dans les cellules somatiques. En revanche, dans les formes héréditaires, on retrouve des altérations dans les cellules germinales (Guillemot, 2013).

Environ 5 des CCR sont liées à des anomalies génétiques constitutionnelles, mutation du gène APC dans la polypose adénomateuse familiale (PAF) et mutation du système de réparation de l'ADN MMR (miss match repair) dans le syndrome de Lynch ou syndrome HPNCC (Weitz *et al.*, 2005).

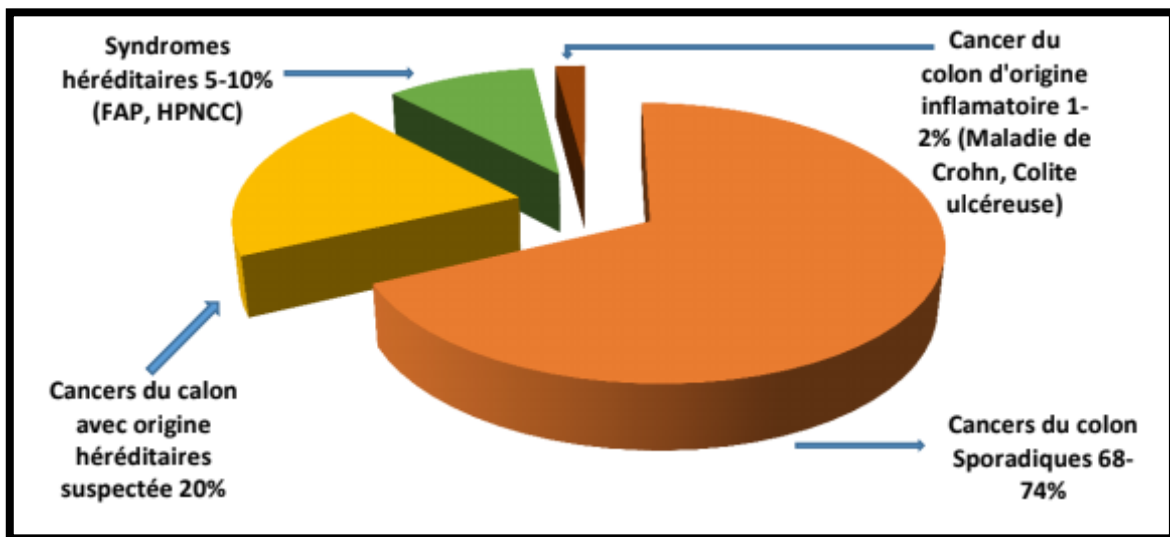


Figure 8 : Répartition des différents types du CCR (Weitz *et al.*, 2005)

1-1-Formes sporadiques

Les CCR sporadiques c'est un cancer acquis ne pas héréditaire, acquièrent des mutations responsables du développement tumoral tout au long de leur vie par exposition à divers cancérrogènes chimiques, viraux ou encore alimentaires, cette forme est caractérisée par un phénotype d'instabilité chromosomique et représente la majorité des CCR (85 à 90 %) (Lamber, 2009), ces formes sporadiques sont peu fréquentes avant 50 ans et augmentent après 60 ans (Chung, 2000).

Ces cancers résultent d'un nombre important des mutations exclusivement somatiques dans différents gènes impliqués dans le processus de cancérisation (Sameer, 2013).

La bonne connaissance de l'évolution phénotypique des CCR a conduit Vogelstein et Fearon à propose pour la première fois en 1990, un modèle génétique de développement des

CCR, qui est défini par une accumulation multi-étape d'anomalies génétiques chronologiquement déterminées.

1-2-Formes héréditaires

Les formes héréditaires de CCR peuvent être regroupées en deux grandes entités : les formes polyposiques et les formes non polyposiques (Buecher, Pauw, 2012).

1-2-1-Formes polyposiques

A-Polypose adénomateuse familiale

La polypose adénomateuse familiale (PAF) est caractérisée par l'apparition de centaines, voire de milliers de polypes pendant ou après l'adolescence, et représente un risque de CCR majeur avant 50 ans. Cette polypose colique peut être associée à d'autres lésions, notamment des polypes du tube digestif haut (à risque dégénératif), des tumeurs desmoïdes et d'autres atteintes extra-intestinales à potentiel malin ou non.

La PAF est liée à une mutation constitutionnelle du gène APC (Adénomateuse Polyposis Coli) (Fearnhead *et al.*, 2001), le gène APC, situé sur le chromosome 5 (figure 9), est un gène suppresseur de tumeur de la catégorie *gatekeeper*, c'est-à-dire régulant et bloquant le cycle cellulaire (figure 10). Constitué de 15 exons avec une séquence de 8 532 paires de bases codant pour une protéine de 2 843 acides aminés qui contribue, entre autres fonctions, à la régulation de la prolifération cellulaire et au maintien de l'apoptose à travers son interaction avec la β -caténine.

La PAF est de transmission autosomique dominante avec une pénétrance complète (la présence de la mutation entraîne systématiquement l'apparition du phénotype). Cette maladie explique environ 1 % de CCR. Le risque de transmission à la descendance est de 50 %. Dans 10 à 30 % des cas, on observe une néomutation.

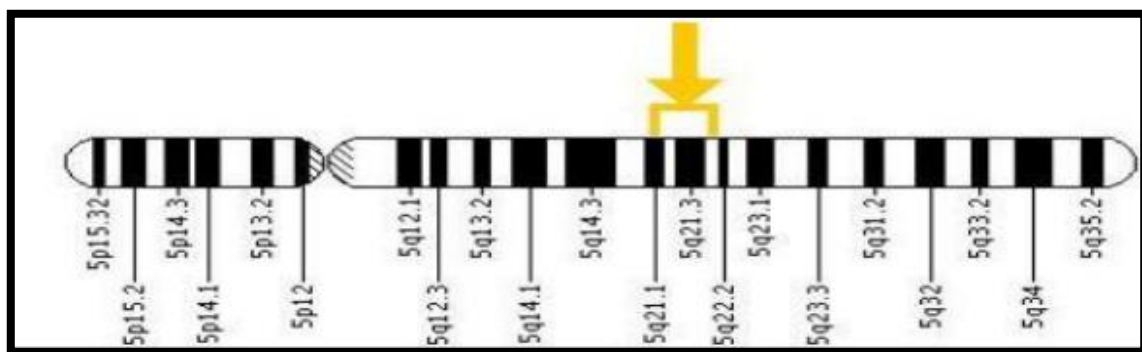


Figure 9 : La localisation du gène APC (W2)

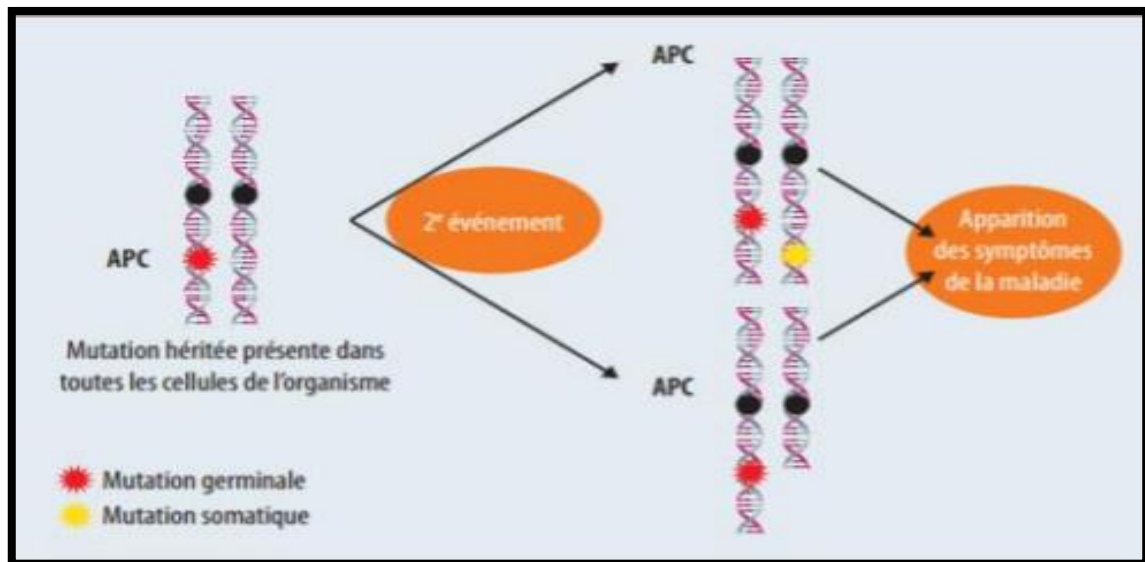


Figure 10 : Génétique de la polypose adénomateuse familiale (Lefèvre ,2013).

B - Polypose liée À MUTYH

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

Le syndrome MAP est de transmission autosomique récessive avec mutation bi allélique des allèles de MUTYH à la naissance. L'absence d'activité de MUTYH entraîne l'accumulation de transversion G :C en T : A. Ces transversions modifient alors l'expression d'autres gènes et particulièrement celle du gène APC et du gène KRAS, niveau des séquences GAA, ce qui conduit à un codon stop. Ce sont ces transversions qui vont finir par inactiver somatiquement APC, entraînant l'apparition de polypes puis d'un cancer colique (Jones *et al.*, 2002) (figure 11).

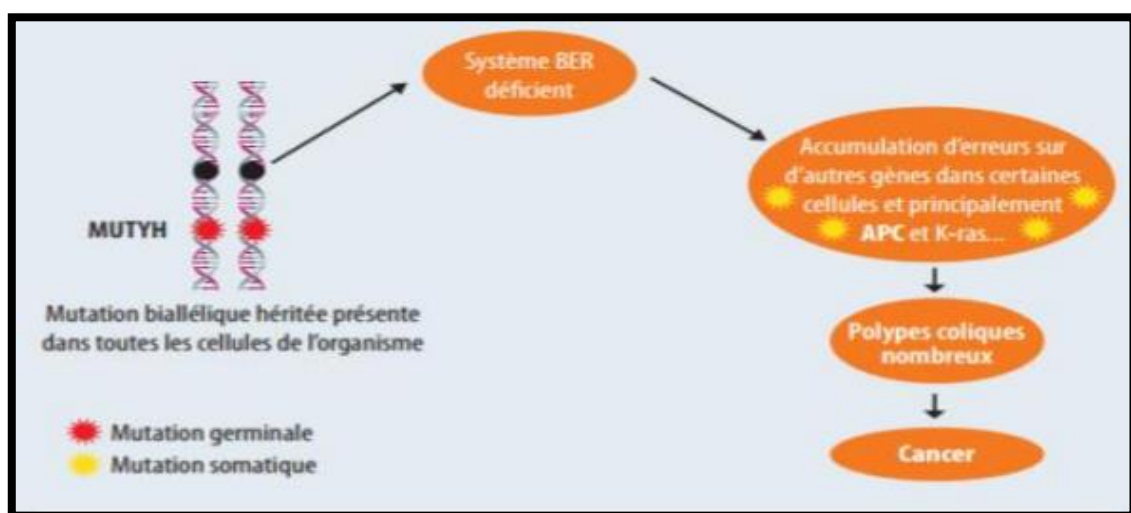


Figure 11 : Génétique du syndrome MAP (Lefèvre ,2013).

La protéine MUTYH, codée par le gène MUTYH se situe sur le chromosome 1 entre les bandes p34.3 et p32.1 et s'étend sur 11.2 kb. Il comprend 16 exons couvrant environ 1.6 de séquence codante (figure 12). La MUTYH est une ADN glycosylase du système de réparation par excision de bases BER qui joue un rôle majeur dans la réparation des lésions oxydatives de l'ADN (Ibosquet, 2012).

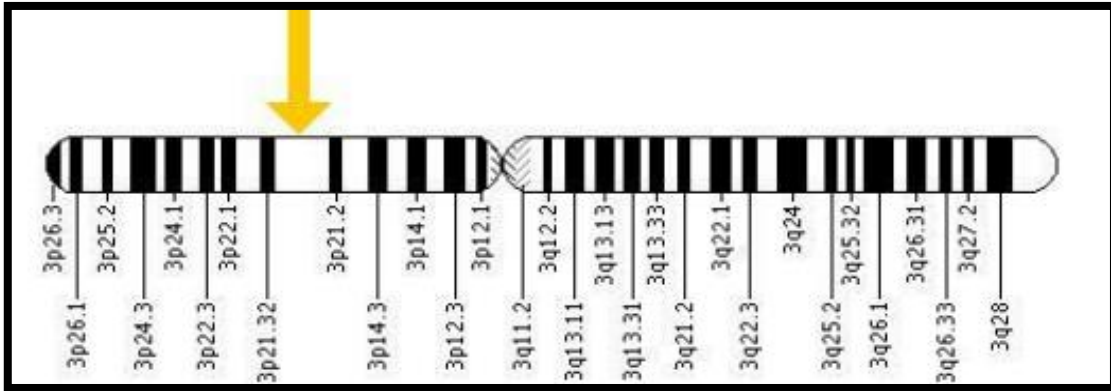


Figure 12 : Localisation du gène MUTYH (Ibosquet, 2012)

1-2-2-Formes non polyposiques

A - Syndrome de lynch

Le syndrome de Lynch prédispose à un risque très élevé de CCR (jusqu'à 46 % de risque à 75 ans). L'âge moyen au diagnostic est jeune (45 ans). Le CCR se développe à partir de polypes adénomateux avec une carcinogénèse accélérée en raison de la perte d'activité d'une des protéines du système MMR. La séquence adénome-cancer est estimée à 35 mois dans le syndrome de Lynch versus plus de 10 ans dans la population générale.

Un dépistage précoce et régulier des lésions pré-cancéreuses par coloscopies (à raison d'un examen tous les 3 ans) permet de diminuer l'incidence et également la mortalité spécifique des CCR (Järvinen *et al.*, 2000 ; Sinicrope, 2018).

Le syndrome de Lynch est un syndrome de prédisposition héréditaire au CCR, de transmission autosomique dominante, caractérisé au plan moléculaire par la présence d'une mutation germinale sur un des gènes du système MMR, ce système comprend une vaste gamme de gène dont l'homologue : MLH1 (chromosome 2), PMS2 (chromosome 7), MSH2 (chromosome 3), MSH6 (chromosome 2) ou EPCAM, les gènes les plus mutés sont les gènes MLH1 et MSH2 (Schischmanoff *et al.*, 2005).

Dans le syndrome HNPCC, les mutations de ces gènes MMR ont pour conséquence une mauvaise correction des erreurs commises par l'ADN polymérase lors de la réplication de l'ADN au cours de la division cellulaire, entraînant une défaillance de ce système, responsable d'une perte de la fidélité de la réplication de l'ADN et d'une accumulation tumorigène de

mutation. Elle se traduit, au niveau tumoral, par un profil d'amplification anormal de séquences d'ADN ayant une structure répétitive appelée : microsatellites (Olschwang *et al.*, 2004).

2- Mécanismes de la carcinogenèse du CCR

Les anomalies génétiques touchant les gènes cibles sont au nombre de 3 :

- L'instabilité chromosomique : les segments les plus fréquemment perdus dans le CCR sont le bras long du chromosome 5 (5 q, contenant APC), le bras court du 17 (17 p, contenant p53), le bras long du 18 (18 q, contenant DCC).
- L'instabilité microsatellite : elles peuvent entraîner un gain de fonction (pour les oncogènes) ou une perte de fonction (pour les gènes suppresseurs de tumeur).
- L'hyperméthylation des îlots CpG : en particulier méthylation du promoteur d'un gène bloquant sa transcription.

2-1-Instabilité chromosomique

L'instabilité chromosomique (CIN) est la voie la plus fréquente dans le CCR (80 % des tumeurs sporadiques). Dans la majorité des tumeurs colorectales, il est observé une aneuploïdie résultant des anomalies de nombre des chromosomes et des pertes alléliques fréquentes (Albertson *et al.*, 2003). Ces remaniements chromosomiques ont été mis en évidence par des études de perte d'hétérozygotie (LOH : *Loss Of Heterozygosity*), d'hybridation génomique comparative (CGH), et de CGH array.

Dans ce groupe de tumeurs, 20 % des chromosomes en moyenne ont subi une délétion majeure. Par ailleurs, les pertes alléliques sont fréquemment associées à des mutations de TP53 ou d'APC conduisant à une inactivation des deux copies de ces gènes suppresseurs. Cette voie de cancérogenèse correspond à la voie impliquée dans PAF.

Les régions les plus fréquemment perdues dans les tumeurs colorectales primitives se situent sur le bras court du chromosome 1p32 et 8p11 et 17p13 et le bras long du chromosome 5 q21 —q22, et 18q21 et 22q12-q13 (Karoui *et al.*, 2007).

Les gènes responsables de cette instabilité chromosomique ne sont pas encore connus, mais il pourrait s'agir entre autres du gène APC, dont la protéine joue un rôle dans la ségrégation des chromosomes lors de la mitose (Järvinen *et al.*, 2000).

2-2-Instabilité microsatellite

L'instabilité des séquences répétées du génome (appelées microsatellites) est une conséquence de l'inactivation fonctionnelle du système de réparation des erreurs produites au cours de la réplication de l'ADN : le système de réparation MMR. Elle signe un phénotype tumoral fréquent appelé MSI (microsatellite instable), ils peuvent être

héréditaires ou, le plus souvent, de survenue sporadique et se caractérisent par une instabilité des régions microsatellitaires.

Les cancers MSI sont fréquents chez l'homme, et sont présents dans 15 % des CCR. Ils peuvent être héréditaires intégrés dans le cadre du syndrome de Lynch, ou CCR héréditaire sans polypose (1/3 des cas environ), favorisés du fait de mutations constitutionnelles hétérozygotes d'un des gènes codant les protéines majeures du système MMR : MLH (mutL homolog human) 1,2, puis MSH6 (MutS homolog human 6) et PMS2 (postmeiotic segregation increased 2) (Peltomaki et Vasen, 2004).

Ce mécanisme est consécutif à 2 phénomènes :

- L'hyperméthylation de la région promotrice du gène hMLH1 dans les CCR sporadiques ;
- Des mutations inactivatrices constitutionnelles ou germinales des gènes hMSH2, hMHL1, hMSH6 et PMS2 dans le cadre du syndrome de Lynch. Ils présentent un profil mutationnel différent de celui des CCR CIN+, avec des mutations plus fréquentes des gènes BRAF, RTGFβII, BAX et TCF4. Par ailleurs, ils s'accompagnent d'une localisation proximale plus fréquente (Duval., *et al.* 2002 ; Lièvre et Laurent, 2004).

2-3-Hyperméthylation des îlots CpG

Plus récemment, des anomalies dans la méthylation de l'ADN ont été observées dans les tumeurs colorectales (Issa, 2004). Ces anomalies ont permis d'isoler un nouveau groupe de CRC, mais qui n'est pas indépendant contrairement aux phénotypes CIN et MSI : Le phénotype CIMP (CpG Island Methylator Phenotype).

Les îlots CpG sont des régions riches en cytosine et guanine. Près de 50 %, des régions promotrices des gènes humains en possèdent et leurs méthylation entraînent des modifications structurales de l'ADN et l'inactivation des gènes associés. Ces anomalies ont donné le nom de ce groupe : CIMP. Au cours du processus tumoral, plusieurs gènes suppresseurs de tumeurs ont ainsi pu être inactivés.

Le gène de la protéine p16, régulatrice du cycle cellulaire, ainsi que la thrombospondine 1 (THBS1), suppresseur de tumeurs, ont été montrés comme hyperméthylés dans des tumeurs CIMP.

Le gène Hmlh1 est aussi fréquemment hyperméthylé dans les tumeurs CIMP, ces tumeurs présentent donc le double phénotype MSI-H et CIMP. La majorité des tumeurs CIMP présentent ce phénotype.

Dans les cellules cancéreuses, l'hyperméthylation des CpG entraîne donc une extinction transcriptionnelle, par modification épigénétique, de gènes suppresseurs de tumeur impliqués

dans certaines fonctions essentielles pour la cellule, comme le contrôle du cycle cellulaire, la réparation des dommages de l'ADN et l'apoptose, à l'exception notable de la méthylation de l'ADN.

Il n'existe pas à l'heure actuelle de consensus sur les gènes définissant le phénotype CIMP. Cependant différents groupes au sein de ce phénotype CIMP semblent se dégager en fonction de la mutation de KRAS et BRAF (Minoo *et al.*, 2006). Les tumeurs CIMP-H, à forte hyperméthylation, sont fréquemment associées à la mutation BRAF et présentent une méthylation plus importante de l'ADN. Alors que les tumeurs CIMP-L, à hyperméthylation plus faible, sont plutôt associées à la mutation KRAS et possèdent moins de gènes méthyles suggérant un phénomène épigénétique plus localisé (Shen *et al.*, 2007). Ce phénotype est plus fréquent dans les tumeurs du côlon proximal (droit) et dans les tumeurs peu différenciées (Ogino *et al.*, 2007).

**Enzyme de conversion
de l'angiotensine
(ECA)**

1-Système Rénine Angiotensine (SRA)

Le SRA est une énorme cascade enzymatique faisant partie du système endocrinien. C'est en 1898 que Tigerstedt obtenait des extraits d'une substance du cortex de reins de lapin ayant des effets presseurs, lorsque injectés à d'autres lapins. Cette substance sécrétée par l'appareil juxtaglomérulaire fut appelée « rénine ».

Plus tard, il fut montré que la rénine n'était pas l'agent presseur, mais un enzyme clivant l'angiotensinogène (substrat spécifique de la rénine active) hépatique en angiotensine I (Ang I).

L'angiotensine I est ensuite clivée par l'enzyme de conversion de l'angiotensine et donne naissance à l'angiotensine II (AngII) qui est l'élément le plus actif du système (figure 13).

Des angiotensinases cliveront ensuite l'angiotensine II en angiotensine III, et l'angiotensine III en angiotensine IV (Cesari *et al.*, 2002).

Le SRA est un système beaucoup plus complexe qu'on ne le pensait à première vue, avec des implications physiologiques et pathologiques de grande portée (Fyhrquist et Saijonmaa, 2008).

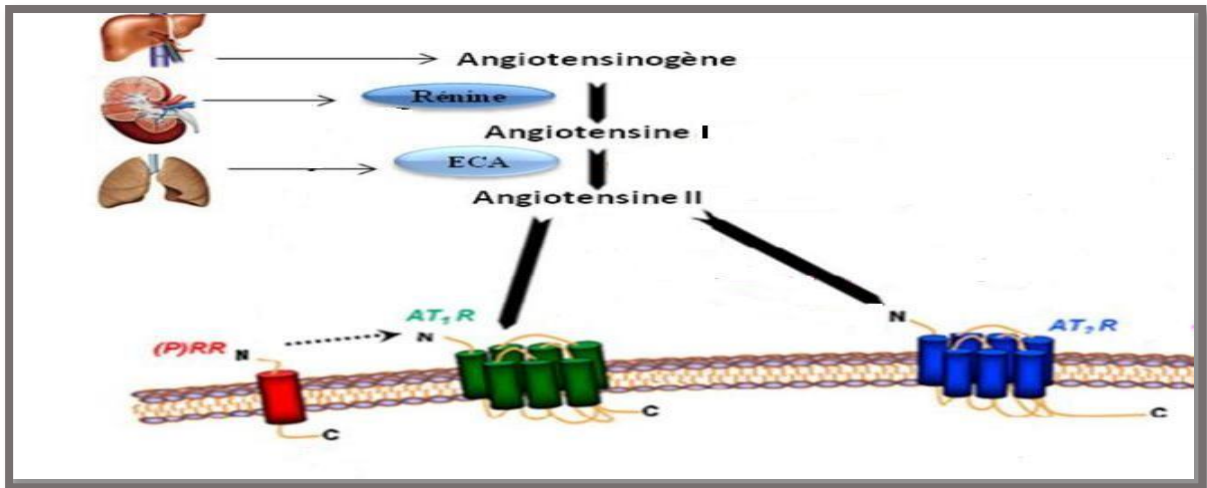


Figure 13 : Le système rénine angiotensine (Jones *et al.*, 2008).

2-Rôle du SRA

Le SRA est bien connu pour son rôle dans la régulation de la pression artérielle, l'équilibre électrique et le remodelage vasculaire. Le système SRA présenterait aussi diverses autres fonctions non nécessairement associées à la régulation de la pression sanguine. Ce système pourrait en effet :

- activer la glycogénolyse hépatique ;
- stimuler l'agrégation plaquettaire ;
- améliorer les mécanismes associés à l'apprentissage et la mémoire ;

- et pourrait démontrer des propriétés pro-inflammatoires (Re, 2004).

L'activation anormale de ce système est impliquée dans la pathogenèse de plusieurs maladies, dont l'hypertension, l'insuffisance cardiaque et l'insuffisance rénale.

3-Enzyme de conversion de l'Angiotensine

3-1 Protéine ECA

L'enzyme de conversion de l'angiotensine est l'un des membres les plus importants de la famille SRA. Il s'agit d'une enzyme ubiquitaire largement présente dans tous les tissus des mammifères et dans les fluides corporels (Gliem *et al.*, 2013). Cette enzyme existe sous trois formes : une forme membranaire pourvue de peptide d'ancrage, de poids moléculaire 160 kDa, une forme circulante soluble légèrement plus petite, qui résulte d'un clivage protéolytique au niveau de la partie ancrée à la membrane cellulaire, de PM 140 kDa et une forme testiculaire de PM 90 kDa.

L'ECA est connu sous différentes dénominations, comme la dipeptide carboxypeptidase ou la peptidyl peptide hydrolase ou Kinase II (EC 3.4.15.1) (Laraqui, 2006 ; Lefebvre, 2008). Elle possède plusieurs substrats : angiotensine I, bradykinine, enképhaline.

3-2 Homologue de l'ECA

Il y a dix ans, un nouveau membre du SRA, l'enzyme de conversion de l'angiotensine de type 2 (ECA 2), a été découvert à partir de banque d'ADNc d'insuffisance cardiaque humaine et de lymphome. Cet homologue de l'ECA a été identifié chez l'homme au niveau du rein, du cœur et des testicules. Le gène de l'ECA 2 est localisé sur le chromosome X et présente 83% d'homologies entre la souris et l'homme (Komatsu *et al.*, 2002).

Les domaines catalytiques de type métalloprotéase sont identiques à 42% avec l'ECA. Il régulerait négativement le SRA. L'ECA 2 clive respectivement l'Ang I et l'Ang II en Ang 1-9 et Ang 1-7 inactif (Oudit *et al.*, 2003).

Des études récentes ont suggéré un rôle de l'ECA 2 dans la régulation de la pression sanguine et le développement de l'hypertension. Le rôle physiologique de l'ECA 2 dans le rein et dans la régulation de la pression sanguine n'est pas encore clair (Donoghue *et al.*, 2000 ; Tumer *et al.*, 2002).

3-3 Structure de l'ECA

L'ECA est une protéine de 1340 acides aminés, fortement glycosylée (30% en poids). L'étude de sa séquence membranaire a montré quatre domaines distincts : un court domaine intracellulaire carboxyl-terminal de 24 acides aminés, un domaine transmembranaire hydrophobe de 20 acides aminés servant d'ancrage de la protéine dans la membrane cellulaire

et deux domaines extracellulaires montés en séries (le domaine N et le domaine C) qui constituent les sites catalytiques de l'enzyme, ces sites ayant entre eux une forte homologie (60%) et possédant chacun un site actif pouvant lier le zinc (Diall, 2011) (figure 14).

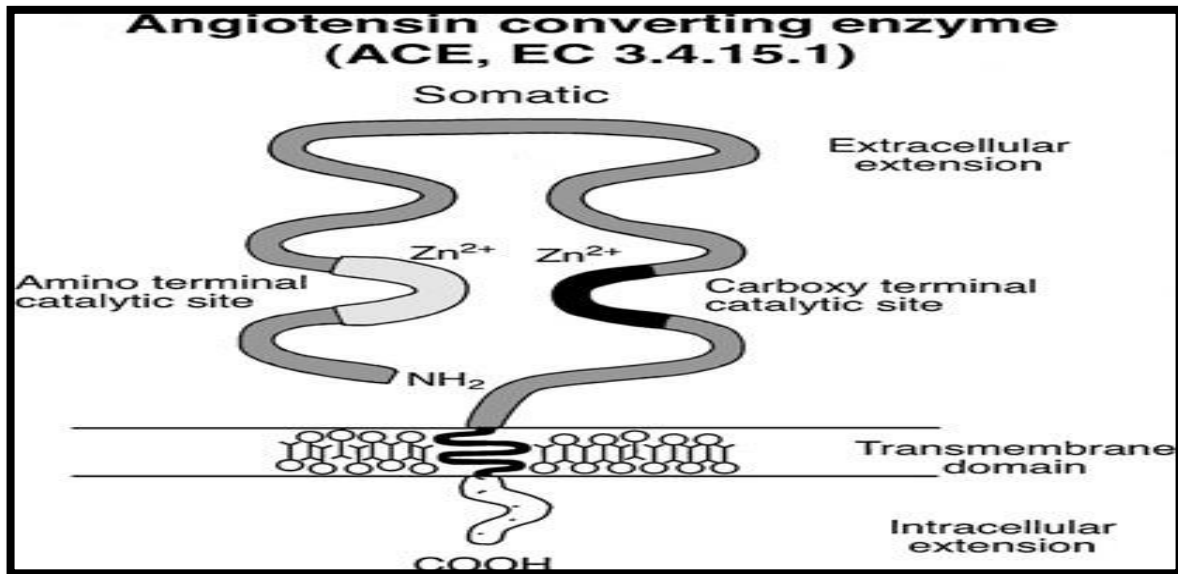


Figure 14 : Structure de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (Dzau *et al.*, 2001).

Deux formes distinctes d'ECA sont exprimées chez l'homme ; une forme plus longue connue sous le nom ECA somatique, de masse moléculaire 170 kDa, abondante à la surface des cellules endothéliales pulmonaires (Sayed *et al.*, 2006) et une forme plus petite trouvée exclusivement dans les testicules connus sous le nom d'ECA germinale ou testiculaire, avec une masse moléculaire plus faible de 100 kDa, qui est requise pour la fertilité masculine (Riordan, 2003).

3-4 Rôle de l'ECA

Le rôle clé dans le fonctionnement du SRA appartient à l'enzyme de conversion de l'angiotensine, qui catalyse le clivage du décapeptide de l'angiotensine I en octapeptide de l'angiotensine II, en libérant le His-Leu terminal, ce qui améliore l'activité vasoconstrictrice de l'angiotensine (Vitoratos *et al.*, 2012).

Outre l'activité catalytique normale, l'ECA dégrade également la bradykinine agissant ainsi comme un vasoconstricteur (Marketou et Vardas, 2012).

Ces deux actions font de l'inhibition de l'ECA une cible puissante dans le traitement d'affections telles que l'hypertension, l'insuffisance cardiaque et la néphropathie diabétique.

3-5 Gène de l'ECA

Le gène de l'ECA est localisé sur le bras long du chromosome 17q23, mesurant environ 21 Kb. Sa séquence codante est répartie en 26 exons intercalés par 25 introns (Crisan et Carr, 2000) (figure 15).

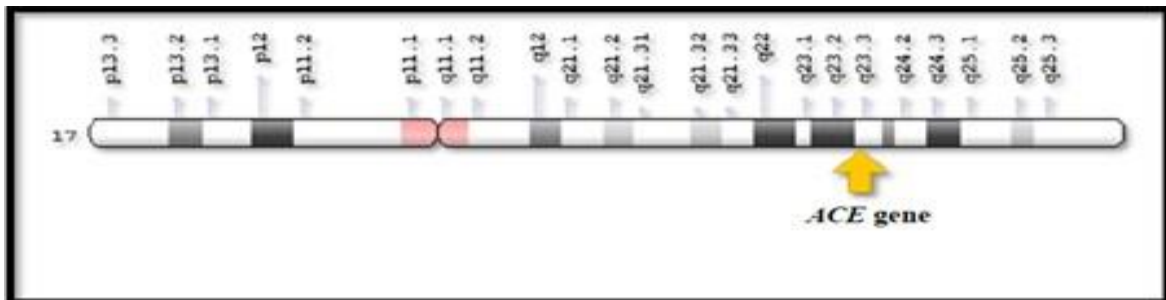


Figure 15 : Localisation du gène de l'ECA (Saquer *et al.*,2016)

La taille des exons varie de 88 paires de bases (pb) (exon 16) à 481 pb (exon 26) et celle des introns de 150 pb (introns 17 et 25) à 2000 pb (intron 20). Son transcrit mature possède une taille de 4,3 Kb. Il est traduit en une protéine de 1340 acides aminés (Laraqui, 2006).

La transcription du gène de l'ECA est contrôlée par deux promoteurs distincts donnant lieu par épissage alternatif : à une ECA somatique largement distribuée dans l'organisme, codée par les exons 1 à 26, mais sans l'exon 13, et par un épissage des exons 1 à 13 et une traduction des exons 13 à 26 à une ECA testiculaire. Cette dernière est requise pour la fertilité masculine (Crisan et Carr,2000) (figure 16).

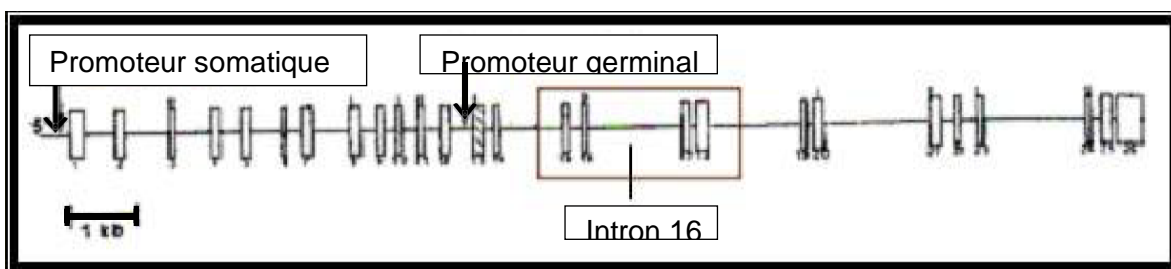


Figure 16 : localisation des 2 promoteurs (Laraqui,2006)

4- Polymorphismes génétiques de l'ECA

Dans les archives du centre international d'information et de biotechnologie (NCBI), plus de 160 polymorphismes génétiques de gène ECA ont été répertoriés, dont la plupart sont des polymorphismes nucléotidiques simples (SNPs).

Seulement 34 de ces polymorphismes sont situés dans les régions codantes ; et dont 18 sont des mutations faux-sens (Sayed *et al.*,2006).

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

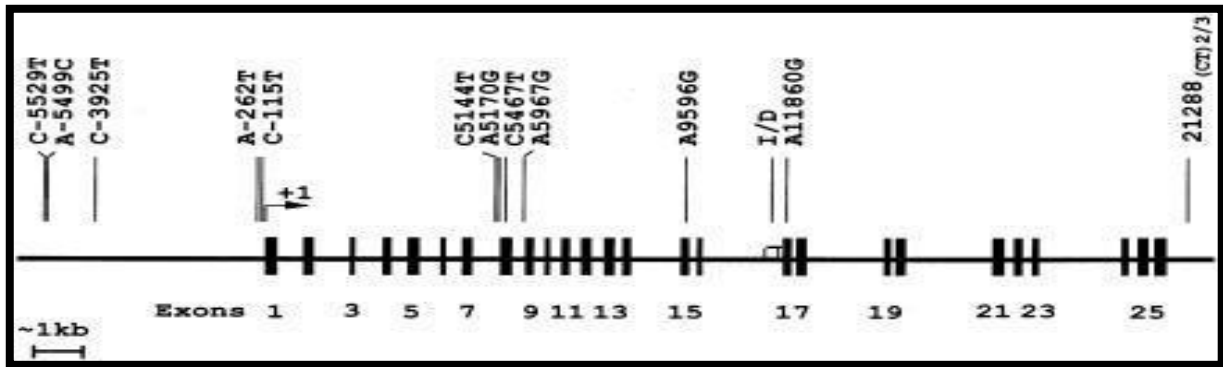


Figure 17 : Représentation schématique de certains polymorphismes du gène ECA humain avec des positions (Heinz et al.,1991)

4-1 Polymorphisme I/D de l'ECA

Un polymorphisme d'insertion/délétion (ID) du gène ECA humain sur le chromosome 17q23 comprenant la présence ou l'absence d'un insert de 287 paires de bases (pb) correspondant à une séquence Alu répétitive localisée au niveau de l'intron 16 a été décrit par Rigat et ses collaborateurs en 1990 (Rigat *et al.*, 1990) (figure 17).

La présence singulière de formes délétées ou insérées pour une séquence de 190 Pb reflète l'existence de deux allèles : I (Insérée) de 490 Pb et D (Délété) de 190Pb et définit le polymorphisme du gène ACE I/D (Laraqui, 2006).

Ce polymorphisme est l'un des polymorphismes les mieux étudié et code pour trois génotypes : deux homozygotes (II et DD) et un hétérozygote (ID). L'homozygote II peut afficher jusqu'à la moitié du niveau d'ECA plasmatique par rapport à l'homozygote DD, tandis que l'hétérozygote DI affiche un niveau intermédiaire (Zhang *et al.*, 2011).

Il semble donc possible que l'allèle D puisse jouer un rôle dans la pathogénie de cancer colorectal. (Car le génotype D/D est associé à une activité enzymatique d'ECA deux fois plus élevée et à une production plus élevée d'angiotensine II par rapport le génotype I/I) (Diall,2011).

4-2- Corrélation génotype –phénotype

Il existe une relation directe entre les génotypes du polymorphisme I/D de l'ECA et son phénotype, c'est-à-dire la concentration sérique et/ou tissulaire de l'enzyme ECA. Cette relation génotype-phénotype est transmissible selon les lois de Mendel (Laraqui,2006).

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

En effet, la fréquence des allèles varie considérablement entre les populations. La corrélation entre le génotype et le niveau de l'ECA plasmatique a montré une relation significative entre la dose de l'allèle D et la concentration sérique de l'ECA.

4-3 Le polymorphisme I/D d'ECA et les cancers

Le polymorphisme d'insertion/délétion (I/D) du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine a été identifié comme un facteur de risque génétique des cancers.

Il y avait plus de preuves indiquant que l'ECA était associé à plusieurs types de cancer, y compris les carcinomes du sein, de la prostate, de l'endomètre et de la bouche en influençant la pathogénèse de ces derniers (Nacak *et al.*, 2010).

Les associations entre ce polymorphisme et le risque de cancer ont reçu beaucoup d'attention dans une série d'études. Cependant, les résultats de ces études étaient contradictoires.

Certaines études portant sur le polymorphisme ECA I/D dans divers carcinomes ont révélé une association de l'allèle D à haute expression avec le risque de carcinogénèse. Le principal mécanisme responsable de cette fonction est le clivage par l'enzyme ECA des protéines, qui présentent un effet prolifératif sur les cellules (Chung *et al.*, 2005).

Néanmoins, plusieurs rapports n'ont pas trouvé de corrélation entre le polymorphisme ECA I/D et le risque de maladie (Sameer *et al.*, 2011).

Cependant, le mécanisme exact de comment et pourquoi le génotype DD représente un facteur génétique favorable à l'apparition de la maladie reste encore inconnu.

En revanche, dans une étude en étudiant le rôle de l'ECA dans le cancer de la bouche, il a été suggéré que l'oncogénèse orale était motivée par une voie liée à la bradykinine et non par l'angiotensine II (Vairaktaris *et al.*, 2007).

Dans certaines études, l'allèle D et l'homozygotie DD ont été associés à un risque accru dans différentes maladies : cancer du poumon et cancer colorectal et dans la rétinopathie proliférative chez diabète de type 1 (Yu, 2012).

5-Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (iECA)

L'ECA est crucial dans le SRA, c'est une cible courante pour les cancers via iECA qui empêchent ECA d'agir sur AngI et inhibent ainsi sa conversion en Ang II (Fyhrquist et Saijonmaa, 2008).

L'étude de cohorte avec une analyse cas-témoins imbriquée a révélé que le captopril, un inhibiteur de l'ECA, était associé à un risque plus faible de développer un cancer de la prostate. Une réduction du risque de développer un cancer de l'œsophage (55%), du pancréas (48%) et du côlon (47%) a été observée dans une évaluation de 483 733 vétérans, dont 38% prenaient des inhibiteurs de l'ECA (Lang ,2006).

Cependant, d'autres enquêtes épidémiologiques n'ont pas réussi à trouver un effet protecteur des inhibiteurs de l'ECA sur les taux de développement de certains types de cancers (Meier *et al.*, 2000 ; Friis *et al.*, 2001).

Les conclusions variables de ces études peuvent être dues à des différences dans les profils de population, les types de cancer examinés, les agents utilisés et la dose et la durée d'administration de ces agents.

Partie pratique

Matériels et méthodes

Notre étude est une étude transversale de type cas-témoin, effectuée durant la période de mai et juin 2021, qui a porté sur 2 populations, la population témoin et la population des patients avec un CCR. Notre volet pratique a été réalisé au sein du laboratoire de biologie moléculaire et cellulaire (Université 1).

Cette étude ayant eu comme principale visée la recherche du polymorphisme I/D du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine.

1- Population d'étude

L'étude intéresse deux types de populations : une population de 60 témoins présumés sains et une population de 50 malades.

1-1-Population témoin

Les témoins sont issus de la population générale de référence composée de 57 sujets sains des deux sexes présumés en bonne santé et habitants à Constantine durant la période de l'étude. Ces sujets sont âgés de 25 à plus de 80 ans. Les prélèvements sont effectués en laboratoire ibn rochde cité khaznadar (Zouaghi).

a. Critères d'inclusion

- Sujets sains.
- Les sujets des deux sexes.
- Sujets âgés entre : 25 et 80 ans.
- Ayant donné leur consentement à l'étude.

b. Critères d'exclusion

- Sujets sous traitement médical.
- Sujets refusant le prélèvement.

1-2-Population malade

Le groupe de patients comprend 50 sujets des deux sexes atteints du cancer du côlon et/ou du rectum, âgés de 25 à 80 ans, sélectionnés parmi les patients admis au sein du service de radiothérapie en cancérologie au niveau du Centre Hospitalier Universitaire de Constantine (CHUC).

a. Critères d'inclusion

- Des malades ayant un cancer du côlon diagnostiqué par des médecins spécialistes.
- Les sujets des deux sexes.
- Tous les patients admis au service atteint d'un cancer colorectal en cours de traitement (chimiothérapie) ou venus pour une consultation ou contrôle.
- Tout âge confondu.

b. Critères d'exclusion

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

2-Méthodes de travail

2-1-Recueil des données

Un questionnaire (Annexe1) comprenant toutes les données nécessaires est établi pour la population d'étude. Tous les renseignements nécessaires sont enregistrés dans ce questionnaire après une consultation du dossier médical du malade et un interrogatoire des témoins réalisé par nous-mêmes.

2-2-Prélèvement sanguin

Le prélèvement sanguin a concerné seulement la population des témoins. Pour la population malade, et suite à la situation sanitaire à cause du COVID 19, on a eu recours directement aux ADN pris de la banque d'ADN du laboratoire ainsi que les ADN de madame ZIADA. Le prélèvement s'est fait suivant des conditions :

- Le prélèvement se fait par des professionnels de la santé (infirmier et laborantine).
- Les prélèvements se fait dans laboratoire (cas témoin) et dans l'hôpital (cas malade).
- Les prélèvements de sang ont été effectués par ponction veineuse au pli du coude chez tous les sujets.
- Le prélèvement sanguin préconisé pour l'extraction de l'ADN est recueilli stérilement dans deux tubes vacuténaires à EDTA (6 à 10 ml).
- Les tubes portent des étiquettes avec les noms et prénoms des sujets ainsi que la date du prélèvement.
- Les sujets doivent être en position demi-assise.
- Tous les prélèvements s'effectuent avec pose de garrot.

3- Étude moléculaire

Notre étude moléculaire s'est effectuée selon 2 étapes : une étape d'extraction d'ADN suivie d'un génotypage du polymorphisme étudié.

3-1- Extraction de l'ADN

L'étude génétique vise le génome humain (ADN). Les leucocytes sanguins représentent la source majeure de l'ADN. Parmi les méthodes d'extraction des acides nucléiques, nous avons employé la méthode d'extraction utilisant du Na Cl.

3-1-1- Principe de l'extraction d'ADN

L'extraction de l'ADN consiste en l'isolement de leucocytes du sang total par une lyse hypotonique des globules rouges, ils sont ensuite traités par un détergent sodium dodécyle sulfate (SDS), qui possède une action lytique sur les membranes cellulaires, il inhibe les nucléases et dénature les protéines par destruction de leur structure tertiaire, ainsi qu'une protéinase K, qui dénature et dégrade les protéines. L'ADN nucléaire sera libéré des différentes protéines. Le surnageant récupéré est traité par de l'éthanol pur, une pelote d'ADN est formée. L'ADN est solubilisé en phase aqueuse (Protocole en 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.

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

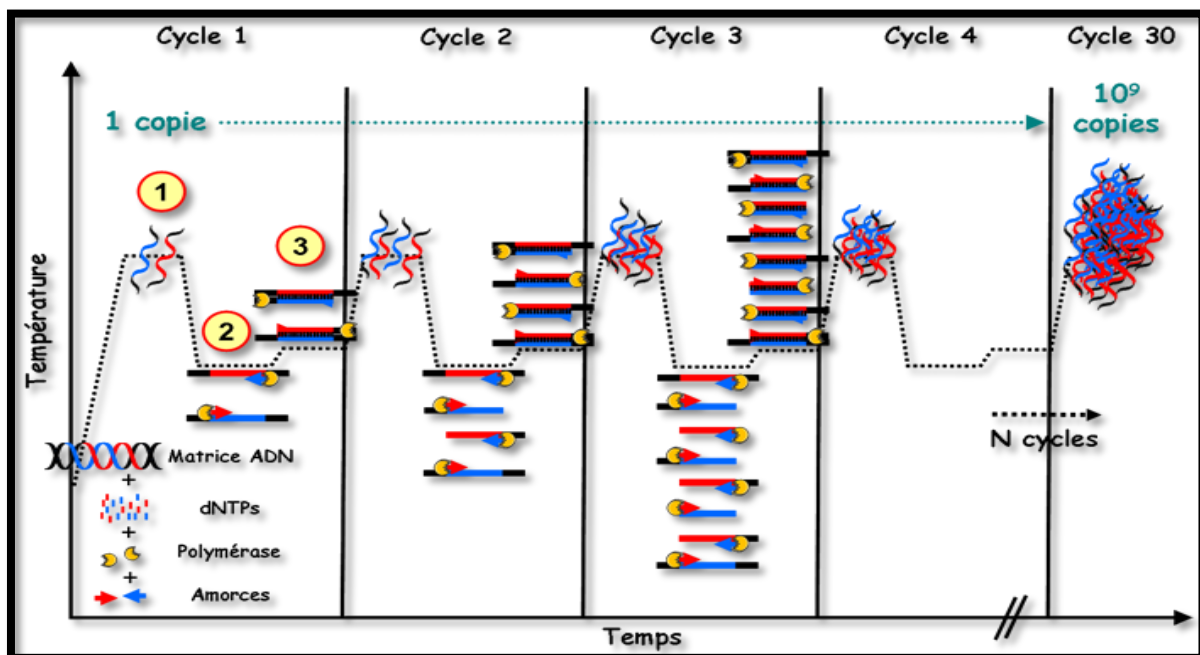


Figure 18 : les différents cycles de PCR (W3)

A-Préparation du milieu réactionnel de la PCR

Un milieu réactionnel de la PCR d'un volume final de 10 µl a été préparé. Le mix comprend des désoxyribonucléotides triphosphates (dNTP), une enzyme d'amplification in vitro (la Taq polymérase), un environnement réactionnel (tampon, MgCl₂, H₂O) et deux amorces oligonucléotidiques (Tableau 05). 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 3'

Tableau 02 : Composants du milieu réactionnel de la PCR.

Mix de PCR	Quantité en µl
H ₂ O	4,02
Tampon 10X	1
MgCl ₂ (50mM)	0,3
Mix de Dntp	1,6
ECA 1R	1
ECA 1F	1
Taq polymérase	0,08
ADN	1

B-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. Les conditions d'amplification sont présentes dans le tableau suivant.

Tableau 03 : Composants du milieu réactionnel de la PCR.

Nombre de cycles	Étapes	Température (°C)	Durée
1	Dénaturation initiale	94	5 min
30	Dénaturation	94	30 s
	Hybridation	57	30 s
	Élongation	72	30 s
1	Élongation finale	72	3 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.

A- Préparation du gel d'agarose à 2 %

Le gel a été préparé en mélangeant 2 g de poudre d'agarose avec 100 ml du TBE 1X (Tris Borate EDTA) auquel nous avons ajouté 20 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.

B- 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 3 µl d'un bleu de bromophénol 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 30 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 photographiée et permettent de visualiser les fragments amplifiés sous forme de bandes fluorescentes

C- 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 19).

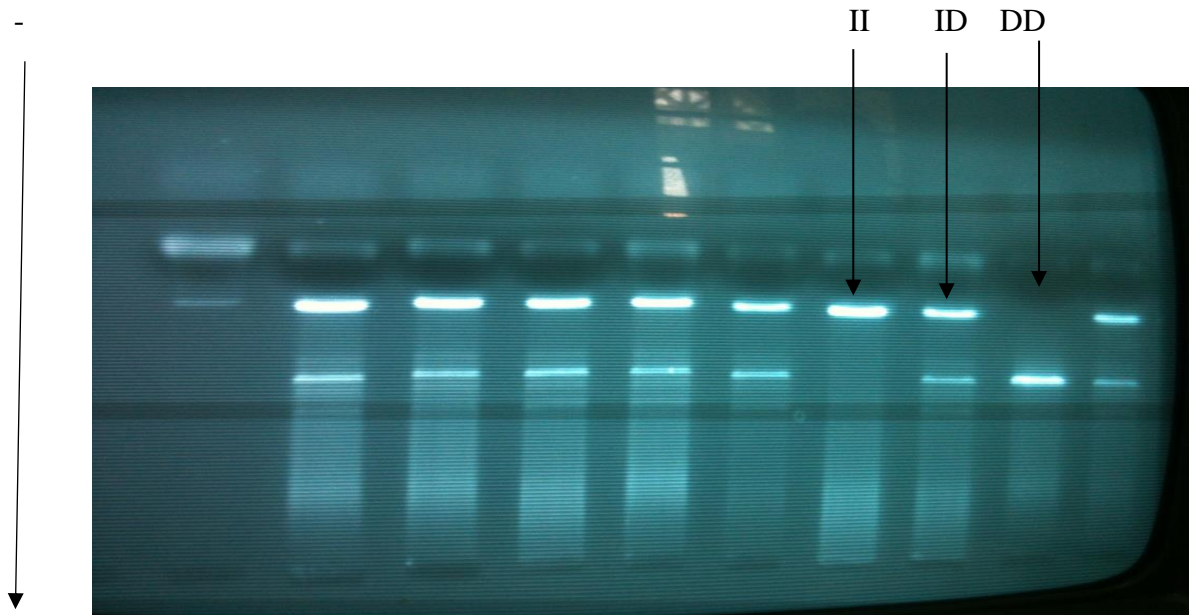


Figure 19 : Profil électrophorétique des fragments amplifiés par PCR du gène de l'ECA sur gel d'agarose à 2 %.

4- Étude statistique

Nos résultats sont traités par des statistiques descriptives : Calcul de la moyenne arithmétique et les pourcentages.

4-1- Calcul de l'odds Ratio

L'odds Ratio (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 (tableau 4).

Tableau 04 : Tableau de contingence pour le calcul de l'odds ratio

	Malades	Témoins
Exposé	A	C
Non exposé	B	D

L'intensité de l'association entre le polymorphisme et la maladie est calculée comme suit : $OR = A \times D / B \times C$.

L'odds ratio représente une mesure d'association épidémiologique entre un facteur et une maladie, en particulier lorsque la maladie est rare parmi la population (Prévalence < 5 %). Dans ce cas l'odds ratio peut être une bonne approximation du risque relatif que donnerait une enquête de cohorte pour la population.

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. Les résultats sont considérés comme significatifs à $P < 0,05$ et hautement significatifs à $P < 0,01$.

Dans notre étude, nous avons utilisé la page de calcul en ligne « statistiques médicales et épidémiologiques » pour le calcul de l'OR (Figure 20) ainsi que Excel 2016 pour le traitement des résultats.

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

Figure 20 : Le logiciel « statistiques médicale et épidémiologiques ».

Résultats et discussion

Notre étude est de type cas - témoins, intéresse deux types de population : l'une atteinte d'une tumeur colorectale, et l'autre apparemment saine. Plusieurs paramètres individuels et cliniques ont été pris en considération.

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

1-1- Les témoins

- Selon le sexe

Les sujets témoins sont au nombre de 57 répartis entre (figure 21) :

-19 du sexe féminin soit 33,33 %.

-38 du sexe masculin soit 66,66 %.

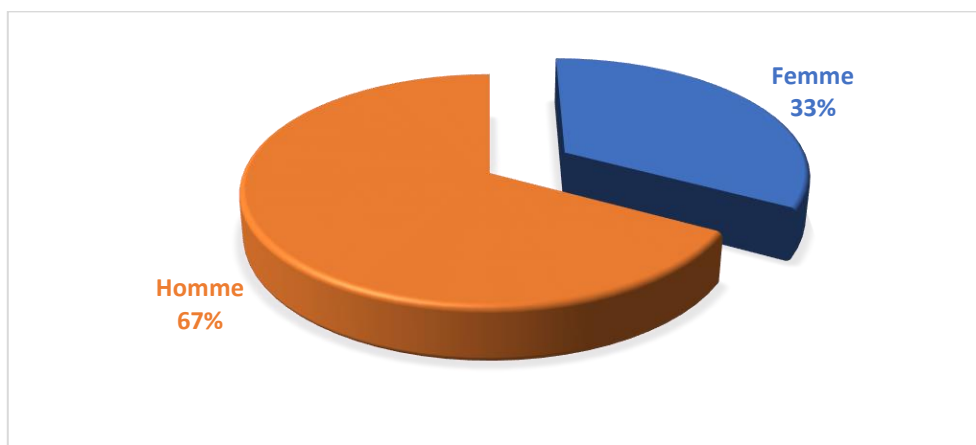


Figure 21 : Répartition des témoins selon le sexe.

- Selon l'âge

Ces témoins sont classés en tranches d'âge de 10 ans (figure 22).

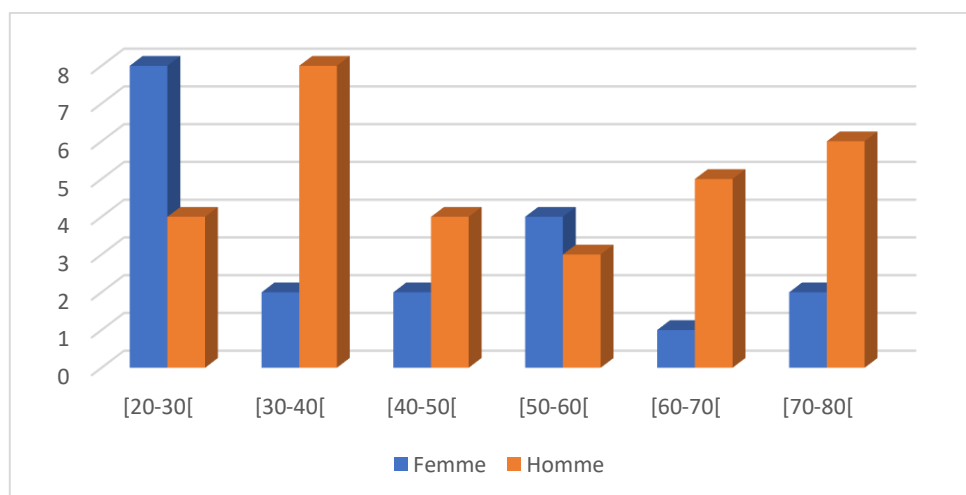


Figure 22 : Répartition des témoins selon l'âge et le sexe.

1-2-Les patients

- Selon le sexe

Les sujets présentant un CCR sont au nombre de 50 répartis entre :

-22 du sexe masculin soit 44 %.

-28 du sexe féminin soit 56 %.

Selon les données de la figure 23, le CCR touche plus les femmes que les hommes avec un sexe-ratio de 0,78.

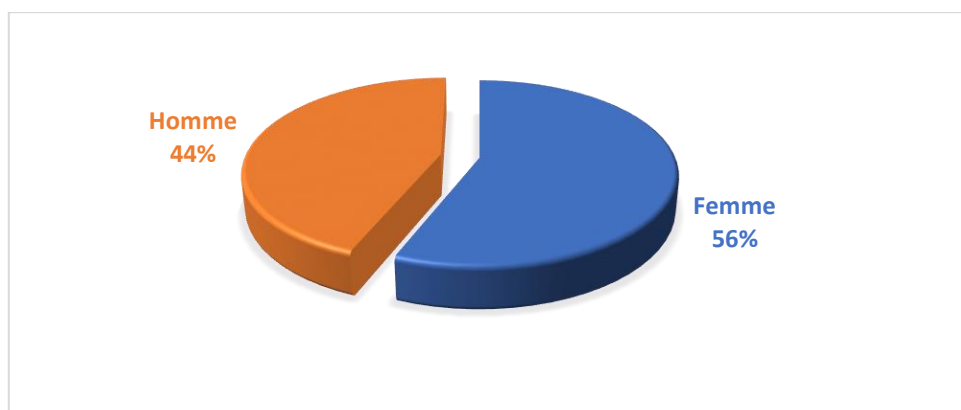


Figure 23 : Répartition des patients selon le sexe.

Notre étude a montré que le nombre des femmes (56 %) est plus élevé que le nombre des hommes (44 %) chez les patients CCR. Contrairement de la majorité des études transversales de type cas-témoins où on trouve une légère prédominance masculine (Hamdi Cherif *et al.*, 2014).

La non-concordance de nos résultats avec ces études peut être expliquée par :

- La période du prélèvement coïncide avec l'admission majoritaire des femmes.
- Le nombre de cohortes d'étude est limité.

Nos résultats sont en accord (soit pour la prédominance ou la valeur du sexe ratio) avec une étude rétrospective marocaine réalisée au CHU de Rabat durant la période 2010-2011 montrant une prédominance féminine avec 50,75 % des femmes et 49,24 % des hommes. Le sexe-ratio de cette étude est 0,97 (El Housse *et al.*, 2015).

- **Selon l'âge**

La répartition des malades présentant un CCR est représentée dans la figure 24.

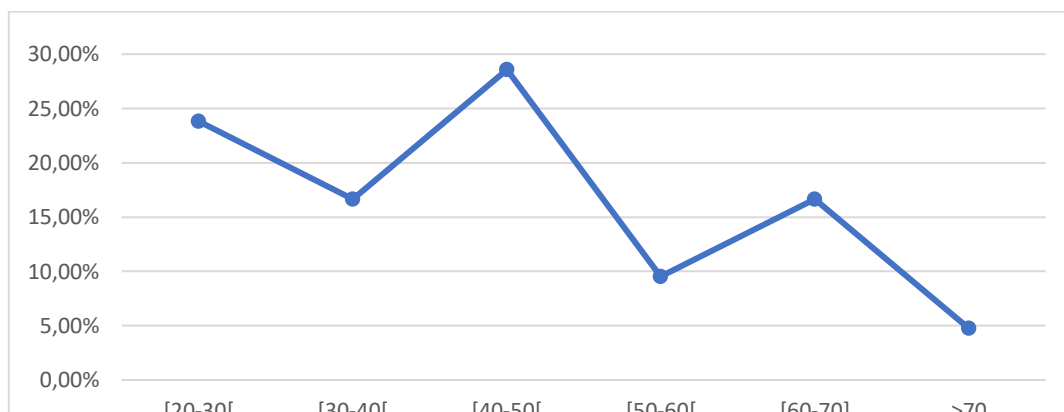


Figure 24 : Répartition des patients atteints du CCR selon l'âge.

La répartition des patients inclus dans notre étude selon leur âge montre des différences de l'incidence du CCR. Selon nos résultats, la tranche d'âge la plus touchée semble être entre [40-50 [avec un pourcentage de 28,57 %, suivi de la tranche d'âge de [20-30 [soit de 23,80 %, suivi des deux tranches d'âge [30-40 [et [60-70 [soit de 16,66 %, et diminue au-delà de 70 ans.

On constate que nos résultats sont en similitudes à ceux rapportés par Kalmogho (2001) qui a observé une augmentation plus marquée dans la tranche d'âge [40-50 [.

L'apparition d'un cancer colorectal augmente avec l'âge, quel que soit le sexe et la tranche d'âge la plus touchée semble être 40-69ans (Meddah *et al.*, 2009), ce qui se rapproche à notre résultat.

2- Étude des facteurs de risque

2-1- Le tabagisme

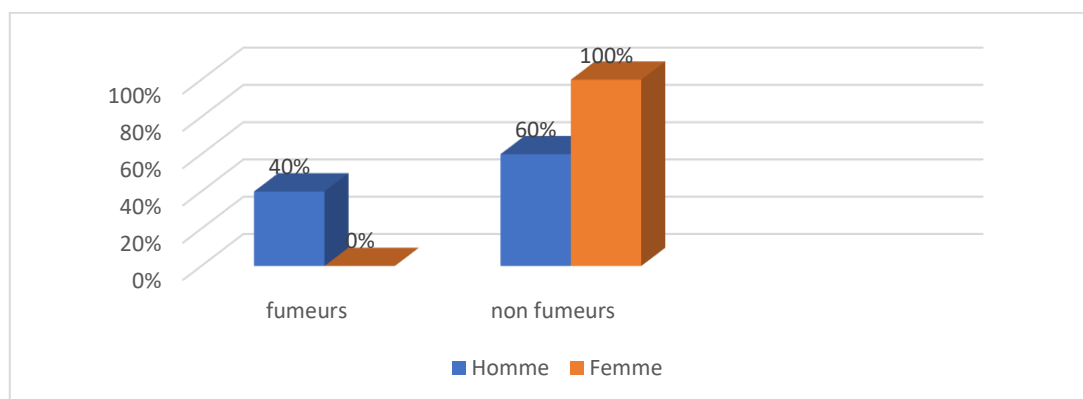


Figure 25 : Répartition des patients selon la consommation du tabac.

À travers notre étude, nous constatons que les patients fumeurs sont exclusivement de sexe masculin et que toutes les femmes de notre population d'étude sont des non-fumeuses.

Cependant, les résultats de consommation du tabac chez les femmes peuvent être expliqués par le fait que le tabac chez les femmes est un sujet tabou dans notre société d'une part, d'autre part n'oubliant pas que les femmes sont des victimes du tabagisme passif suite à leur entourage fumeur.

D'après nos résultats, nous remarquons que les hommes fumeurs représentent un taux de 40 % contre 60 % de non-fumeurs. La plupart des études confirment que le risque du CCR est augmenté en fonction de la consommation de tabac et intervient dans la formation et le taux de croissance des polypes adénomateuse (Josiane *et al.*, 2007 ; Fatima *et al.*, 2009).

2-2- Les boissons alcoolisées

100 % de nos patients ne prennent pas de boissons alcoolisées. En revanche plusieurs études montrent que la consommation d'alcool est associée à une augmentation du risque de CCR (Josiane *et al.*, 2007 ; Boris, 2012 ; Eunyoung *et al.*, 2012).

Le CIRC (Centre International de Recherche sur le Cancer) classe la consommation d'alcool comme carcinogène pour l'homme (Baan *et al.*, 2007 ; INCA, 2011), essentiellement : le cancer du pancréas, du cerveau, du cou, du sein, du foie et du cancer colorectal.

L'alcool intervient dans une étape précoce de promotion du cancer et de la croissance de l'adénome.

Selon le Fonds mondial de recherche contre le cancer (World Cancer Research Fund International ou WCRF) 2011, le risque de CCR augmente avec la consommation de boissons alcoolisées avec un niveau de preuve (convaincant) chez les hommes et (probable) chez les femmes. Cette relation est de type dose-réponse avec une augmentation significative du risque de CCR de 10 % pour 10g/j d'alcool (w4).

Le mécanisme de cancérigène dû à l'effet de l'alcool restait en cours de recherche (Boffetta et Hashibe, 2006), mais certains auteurs ont pu expliquer son mode d'action comme suit l'alcool peut nuire à l'absorption de certains éléments nutritifs comme le folate qui peut aider à protéger contre certains types de cancers (Lieber, 2000).

La transformation de l'alcool en acétaldéhyde est réalisée par l'enzyme ADH. L'acétaldéhyde est une molécule cancérigène très toxique, qui provoque des dégâts dans l'ensemble de l'organisme. Il est normalement éliminé par une autre enzyme qui est l'ALDH. Si cette molécule persiste, elle attaque les membranes cellulaires et cause des dommages indirects en inhibant le système enzymatique (w5).

2-3 - les maladies inflammatoires

Selon nos résultats, on observe 100 % des sujets de notre population ne présentent aucun terrain pathologique d'une maladie inflammatoire. Cependant la plupart des études montrent que les maladies inflammatoires de l'intestin sont associées à un risque accru de CCR (Xavier *et al.*, 2008 ; Nicolas *et al.*, 2013). Ce risque commence à s'élever 8 à 10 ans après le diagnostic et atteint environ 8 % après 20 ans et 18 % après 30 ans (Rhodes, Campbell, 2002), et connu depuis longtemps dans la rectocolite hémorragique (RCH), et dans la maladie de Crohn colique (MCC) lorsque celle-ci est étendue sur au moins un tiers du colon (Canavan *et al.*, 2006).

Il y a des maladies qui augmentent le risque de CCR comme la maladie de colite ulcéreuse qui provoque une inflammation de la muqueuse du colon et du rectum et la maladie de Crohn provoque une inflammation de toute l'épaisseur de la paroi intestinale (Fatima *et al.*, 2009).

3- Étude des caractéristiques cliniques de la tumeur

Les tumeurs sont caractérisées par leur localisation et le stade de leur progression.

3-1- Selon la localisation de la tumeur

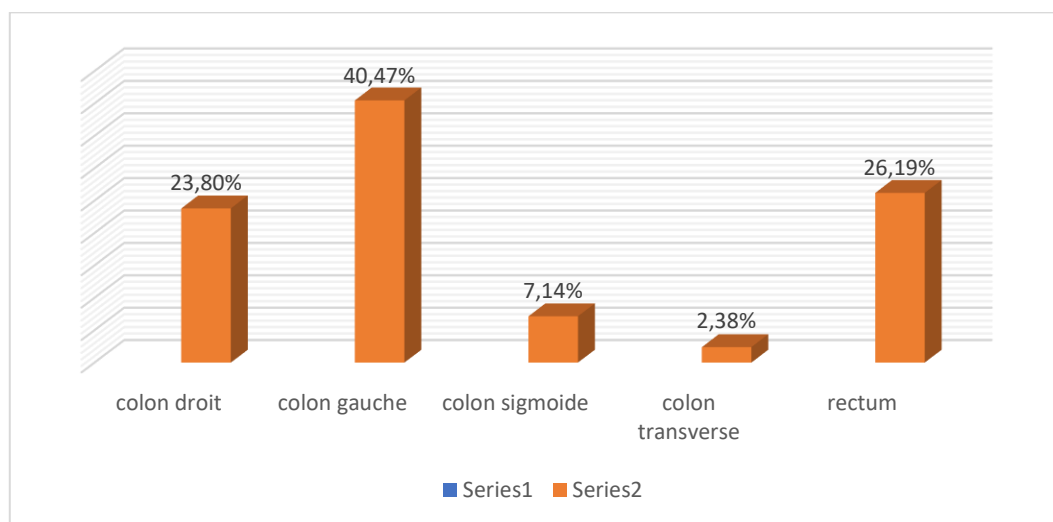


Figure 26 : Répartition des patients selon la localisation de la tumeur.

Selon nos résultats, le colon gauche est le siège tumoral le plus fréquent (40,47 %), suivi du rectum (26,19 %), du colon droit (23,80 %), du côlon sigmoïde (7,14 %), puis du côlon transverse (2,38 %). Ces résultats montrent que le cancer du côlon est plus fréquent par rapport au cancer du rectum.

Ces résultats concordent parfaitement avec les travaux de Arfa *et al.* (2006) qui ont également trouvé que le cancer colique est plus dominant que le cancer rectal. En revanche, ces mêmes résultats sont en désaccord avec les travaux de Dendane *et al.* (2014) et Bouchouk *et al.* (2017) qui a trouvé que le cancer rectal est prédominant.

3-2-Selon le stade TNM

La classification TNM a fait l'objet d'un consensus international, le stade doit donc être donné selon la classification pTNM, qui distingue quatre stades notés de I à IV (Edge, Compton, 2010 ; Scoazec et Sabourin, 2010). La distribution de nos patients selon ces stades est illustrée dans la figure 27.

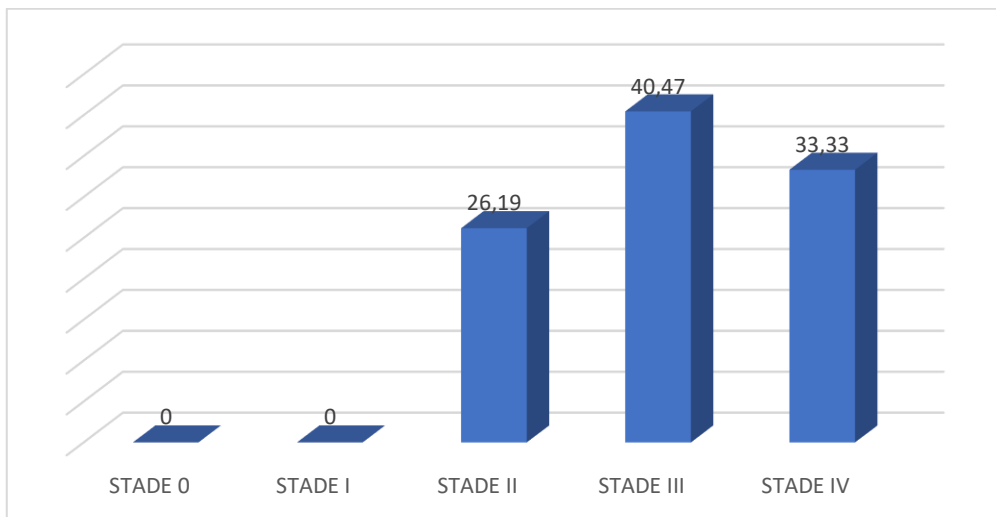


Figure 27 : Répartition des sujets malades selon le stade TNM.

Le stade le plus fréquent chez nos patients est le stade III avec un pourcentage de 40,47 % suivi du stade IV avec 33,33 %, la fréquence du stade II est de 26,19 %. Par contre, on ne note qu'aucun de nos patients étudiés n'appartient aux stades 0 et I.

Le statut clinique de nos résultats ne concorde pas avec les études de la littérature où ces derniers montrant que la somme des malades de stade III et IV est moins fréquente que celle du stade I et II (Mohamed *et al.*, 2018).

Ces résultats peuvent être expliqués par plusieurs causes :

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

- L'utilisation de certains médicaments qui favorisent la prolifération des cellules tumorales et accélèrent le phénomène de cancérogenèse.

3-3- Selon les antécédents familiaux

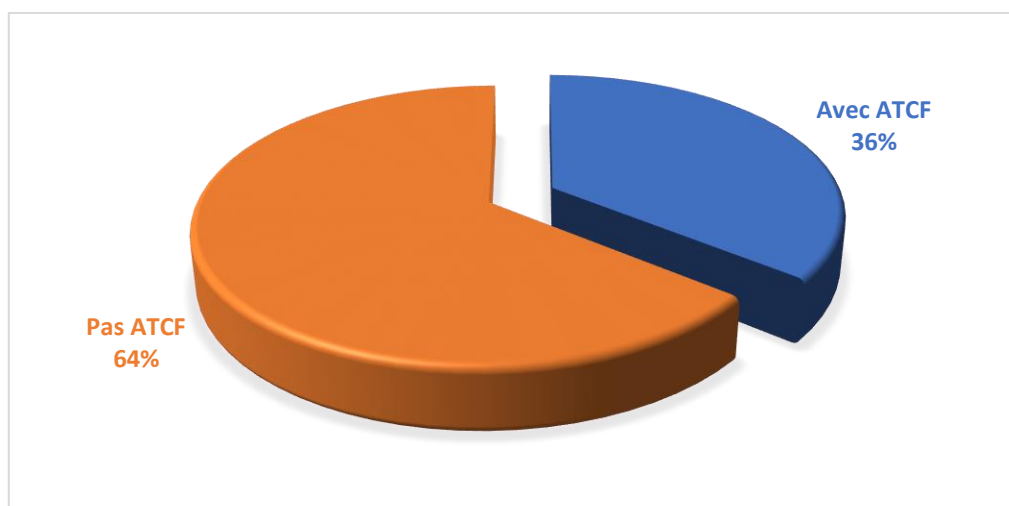


Figure 28 : la répartition des malades selon les antécédents familiaux.

Les cancers colorectaux sont sporadiques dans 80 % des cas, surviennent dans un contexte familial dans 15 % des cas et sont liés à une prédisposition génétique dans 5 % des cas (Manceau *et al.*, 2014).

Dans notre étude, les antécédents familiaux de cancer colorectaux chez nos patients sont retrouvés dans 36 % des cas. Ce taux se montre supérieur à celui rapporté dans la littérature qui estime la proportion des patients aux antécédents familiaux de cancer colorectal à 15 % - 20 % (Viguié *et al.*, 2003).

Selon l'Institut National de Cancer (INC), le risque d'être atteint de ce type de cancer est deux à deux fois et demie plus élevé lorsqu'un membre de la famille au premier degré a déjà eu un cancer colorectal (parent, frère, sœur ou enfant) (w6).

4- Étude moléculaire

4-1-Répartition des fréquences génotypiques du gène ECA

La comparaison des fréquences génotypiques entre les témoins et les malades atteints de CCR est montrée dans l'histogramme ci-dessous.

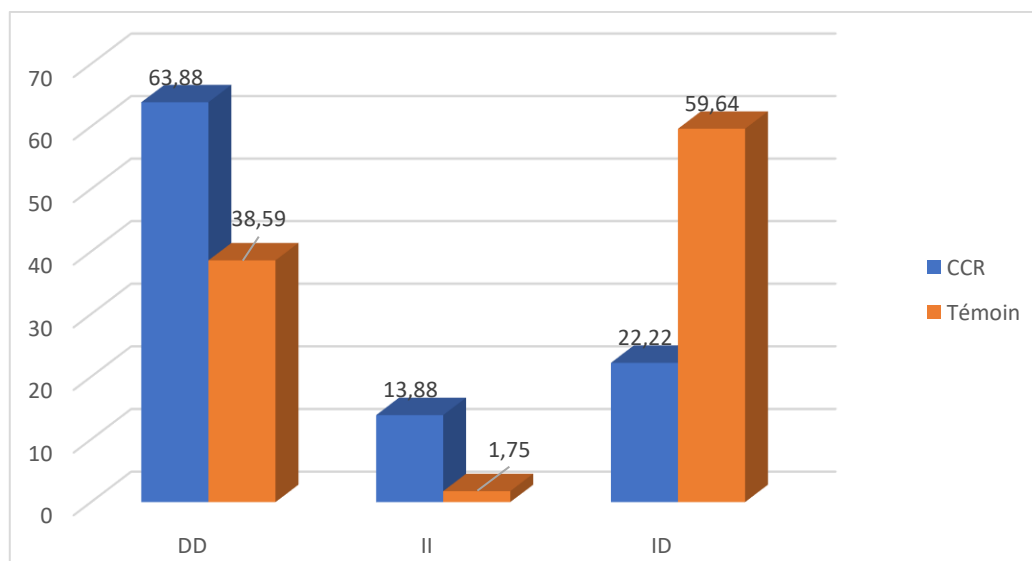


Figure 29 : Répartition des fréquences génotypiques.

La présence de formes délétères ou insérées pour une séquence de 190 pb reflète l'existence de deux allèles : I (Insérée) de 490 pb et D (Délété) de 190 pb et définit le polymorphisme du gène ECA I/D. Trois génotypes sont possibles, deux homozygotes (II et DD) et un hétérozygote (ID) (Bossé, 2001).

Dans notre étude, on note que le génotype DD présente un taux élevé de 63,88 % chez les cas CCR et 38,59 % chez les témoins par contre le génotype ID est plus fréquent chez les témoins (59,64 %) par rapport à 22,22 % chez les patients. Enfin le génotype II est le moins fréquent par rapport aux autres génotypes en termes des patients ou des témoins.

Tableau 05 : Comparaison des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme I/D du gène de l'ECA chez les patients et les témoins.

	Patients (n %)		Témoins (n %)		OR (IC 95 %)	P
ID	8	22,22 %	34	59,64 %	-	-
DD	22	63,88%	23	38,59%	4.44 (1.69 –11.68)	0.0025*
II	5	13,88 %	1	1,75 %	0.21 (0,02-1,94)	0,16
D	54	75 %	78	68,42 %	1.38 (0,71 –2,68)	0,33
I	18	25 %	36	31,57 %	-	-

*p< 0.05

On note que la fréquence du génotype DD est élevée chez les sujets avec CCR par rapport aux sujets témoins. Le calcul des OR (tableau 05) indique qu'il y a une différence statistiquement significative ($p < 0.05$) des fréquences du génotype DD entre les patients et les témoins (respectivement 63,88 % et 38,59 %). Ceci indique qu'il y a une association entre le génotype DD et le CCR dans notre population.

Cependant les fréquences des allèles D et I sont respectivement 68,42 % et 31,57 % chez les témoins alors que les fréquences alléliques chez les sujets avec CCR sont respectivement 75 % et 25 % ($p > 0,05$). Les résultats de notre étude concordent avec certaines études alors qu'ils discordent avec d'autres.

Nos résultats cohèrent avec les résultats de Zheng *et al.* (2017) qui a montré que le génotype DD et l'allèle D étaient statistiquement liés à la sensibilité du CCR ($P = 0,039$, OR = 2,16, IC à 95 % = 1,04–4,48 ; $P = 0,026$, OR = 1,501, IC à 95 % = 1 048–2,15). Par ailleurs, seuls le génotype DD et l'allèle D du polymorphisme I / D du gène ECA pourraient augmenter le risque de métastases ganglionnaires chez les patients atteints de CCR (Zheng *et al.*, 2017).

Cependant les résultats portés sur une population du Kashmir montre qu'il n'y avait aucune association significative entre le génotype DD de l'ECA et l'un des caractères clinico-pathologiques connus concluant ainsi que le polymorphisme ECA I/D n'est pas un facteur de risque significatif dans la carcinogénèse des CCR (Syed *et al.*, 2011).

Le polymorphisme I/D de l'ECA n'est pas un facteur de prédisposition génétique au risque du cancer colorectal chez les populations étudiées par Nikiteas *et al.* (2007), Toma *et al.* (2009) et Sameer *et al.* (2011).

L'étude de Roken *et al.* (2007) montre que le polymorphisme de l'ECA est exprimé de manière différentielle selon le sexe chez les patients avec tumeur de premier stade. Néanmoins, il n'y a aucune association significative dans la population d'étude.

Liu *et al.*, 2011 ont constaté que les patients porteurs de l'allèle D étaient associés à un risque accru de développer des métastases peu différenciées par rapport à ceux porteurs de l'allèle I, bien qu'aucune association significative n'ait été observée entre cas et contrôles dans l'analyse globale.

Nos résultats sont en discordance avec les résultats de deux autres méta-analyses celle de Zhou et Lin (2015) et celle de Cheng et Liu (2019). La méta-analyse de Zhou et Lin appliquée sur 5 études publiées avec 758 cas et 6 755 témoins n'a trouvé aucune association significative dans tous les modèles génétiques. En plus, Cheng et Liu ont également mené une méta-analyse sur 6 études publiées avec 928 cas et 1046 témoins. Les résultats de cette dernière suggèrent que le polymorphisme de l'enzyme de conversion de l'angiotensine I/D est peu susceptible de corrélérer avec le cancer colorectal.

Conclusion et perspectives

Le cancer colorectal représente un problème majeur de santé publique dans les pays industrialisés en raison de son incidence et mortalité. En Algérie, l'incidence de ce cancer monte de façon exponentielle.

L'étude que nous avons entreprise est une étude de type cas/ témoin concernant 107 individus répartis en deux groupes, une population de malade présentant un cancer colorectal n=50) et une population de cas témoin (n=57).

L'étude des différents facteurs de risque du cancer colorectal concorde pour certains facteurs et disconcordent pour d'autres avec de nombreuses études soit celles réalisées en Algérie ou à travers le monde. On observe une prédominance féminine avec la tranche d'âge la plus touchée est située entre 40 et 49 ans.

La consommation du tabac dans notre étude est exclusivement masculine tandis que la consommation de l'alcool est à 0 %. Ces deux facteurs de risque sont considérés comme des comportements indésirables des personnes de la communauté surtout pour les femmes qui dénoncent leur implication.

Les données recueillies de cette étude ont permis ainsi de mettre en lumière d'autres facteurs de risque relatifs à cette pathologie, à savoir, les maladies inflammatoires, les antécédents familiaux et les prédispositions génétiques.

Dans le présent travail, nous nous sommes proposés de déterminer les fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme I/D du gène de l'ECA. Les patients avec CCR ont des fréquences significativement plus élevées du génotype muté DD par rapport aux témoins (OR= 4.44, IC 95 % 1,69-11.68, p = 0,0025), ce qui révèle que le génotype DD est associé à une augmentation significative du risque de CCR dans notre population. Des études supplémentaires resteront nécessaires pour confirmer cela.

Notre étude a rencontré de nombreuses difficultés, commençant par cette période de pandémie qui malheureusement nous a empêchés d'accéder aux différents établissements de santé pour recueillir de nouveaux patients CCR et nous nous sommes juste contenté d'utiliser les ADN de la banque du labo ainsi que les résultats des années passées. Les difficultés rencontrées lors de la réalisation de la PCR en plus du temps imparti pour l'analyse moléculaire, la difficulté d'obtenir les matériaux principaux pour l'étude, et là sont également de nombreuses difficultés auxquelles nous avons été confrontés dans notre étude.

Cette modeste étude ouvre plusieurs perspectives :

- Élargissement de notre cohorte de patients et de témoins afin de pouvoir tirer des conclusions sur l'effet de ce polymorphisme et le CCR.
- Étudier d'autres polymorphismes dans d'autres gènes impliqués dans la carcinogénèse

- Il est nécessaire d'organiser des journées d'information et de sensibilisation pour pallier l'ignorance quant à la pathologie de cancer, les facteurs de risques, les signes cliniques et la nécessité de faire un dépistage pour le diagnostic.
- À l'heure actuelle, le meilleur moyen de lutter contre cette maladie reste la prévention. On peut recommander de ne pas fumer, de ne pas boire de l'alcool et d'avoir une activité physique régulière.
- Une alimentation variée et équilibrée riche en fruits et légumes source d'antioxydant et de fibres. Également en produits laitiers riches en vitamine D, calcium et certains acides gras insaturés à vocation antiprolifératif au niveau des tumeurs.
- Éviter la consommation excessive de viandes rouges et transformées et des graisses animales au profit de celle de poisson.

Références bibliographiques

(A)

- Albertson DG, Collins C, McCormick F, Gray JW, 2003. Chromosome aberrations in solid tumors. *Nat Genet*, 34,369–76.
- Angeli JP, Garcia CC, Sena F, Freitas FP et al., 2014. Lipid hydroperoxide-induced and hemoglobin-enhanced oxidative damage to colon cancer cells. *Free Radic Biol*, 51(2),503-15.
- Arfa N, Hamdani I, Gharbi L, Ben Abid S *et al.*, 2006. Survie et facteurs pronostiques des adénocarcinomes colorectaux : étude analytique uni-et multifactorielle de 150 cas, *Annales de Chirurgie*,131(2),104 -111.
- American cancer society. Colorectal cancer, 2009.
- Association Canadienne du Cancer Colorectal. 2008. Vous et le cancer colorectal. Un guide pour les personnes vivant avec le cancer colorectal, p 14-15.
- agence spécialisée de l'organisation mondiale de la santé (OMS), 2020.

(B)

- Bibeau F, Léger A, Bazille C, Selves J, 2020. Les cancers colorectaux héréditaires vus par le pathologiste. In *Annales de Pathologie*. Elsevier Masson.
- Bogaert J, Prenen H, 2014. Molecular genetics of colorectal cancer. *Ann Gastroenterol*, 27, 9-14.
- Bossé Y, 2001. Influence du polymorphisme insertion et délétion de l'enzyme de conversion de l'angiotensine sur les effets métaboliques d'un traitement au fibrate et d'un exercice en endurance. Laval.
- Bouchouk M, Bougheriou, Djoudad-Kadji HE, 2017. Aspects anatomohistopathologiques du cancer colorectal.
- Baan R., Straif K., Grosse Y *et al.*, 2007. Carcinogenicity of alcoholic beverages. *Lancet Oncol*, 8, 292–293.
- Barthet M, 2004. Surveillance endoscopique des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. *Ipsen*, 26, 50-390.
- Belon JP, Aure S, Pillon F,2013. Pathologie et thérapeutiques commentées. Elsevier Health Sciences, P35.
- Benbadis S, Bendjelloul R,2015. Cancer Colorectale entre facteurs de risque et polymorphisme de l'Apolipoprotéine E. Mémoire de Master. S Génétique des cancers. Université des frère Mentouri Constantine p 13. 14. 15.
- Boffetta P, Hashibe M, 2006. Alcohol and cancer. *Lancet. Oncol*, 7, 149–156
- Buecher B, Pauw A, 2012. Les formes héréditaires des CCR, 33(9), 471-474.

(C)

- Canavan C, Abrams KR, Mayberry J, 2006. Colorectal and small bowel cancer risk in patients with Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther*, 23, 1097-104.
- Cheng Z, Liu Z, 2019. Renin-angiotensin system gene polymorphisms and colorectal cancer risk: a meta-analysis. *Journal of the renin-angiotensin-aldosterone system. JRAAS*, 20(4), 1470320319881932.
Chinese Population. *Medical science monitor. international medical journal of experimental converting enzyme. In Vivo*, 21, 1065–8.
- Cesari M, Rossi GP, Pessina AC, 2002. Biological properties of the angiotensin peptides other than angiotensin II: implications for hypertension and cardiovascular diseases. *JHypertens*, 20(5):793-9.
- Chene B, 2019. *The Medical Letter on Drugs and Therapeutics*,41(15), 113-115.
- Chung DC,2000. The genetic basis of colorectal cancer. Insights critical pathways of tumorigenesis. *Gastroenterology*, 119(3), 854-865.
- Chung FM, Yang YH, Chen CH, Lin CC and Shieh TY, 2005. Angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism is associated with risk of oral precancerous lesion in betel quid chewers. *Br J Cancer*, 93, 602-606.
- Crisan and Carr; D Crisan, J Carr, 2000. *the Journal of molecular diagnostics. JMD-ncbi.nlm.nih.gov*, Angiotensin I-converting enzyme: genotype and disease associations.

(D)

- Deshayes F, Nahmias C, 2005. Angiotensin receptors. A new role in cancer ? *Trends Endocrinol Metab*, 16, 293–9.
- Dhifallah H, Aissi S, Njima M, Zakhama A et al., 2020. Risque du cancer du colon et polymorphismes d'igF1 en Tunisie. *La Tunisie médicale*, 98(01).
- Dially AA, 2011. Etude des aspects pharmaco-épidémiologiques des inhibiteurs de l'enzyme de conversion au CHU du point G. thèse pour l'obtention du doctorat en pharmacie. Faculté de médecine de pharmacie et d'odontostomatologie, 98p.
- Donoghue M, Hsieh f, Baronas E, Godbout K *et al.*, 2000. A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9. *Circ. Res*, 87(5), 1-9.
- Dendane AO, Ghellai A, 2013. Étude cilinicoepidemiologique du cancer colorectal au chu de Tlemcen.

- Duval A., Hamelin R., 2002. Mutations at coding repeat sequences in mismatch repair-deficient human cancers toward a new concept of target genes for instability. *Cancer Res*, 62, 2447-54.
- Dzau, V. J., Bernstein, K., Celermajer, D., *et al*, 2001. The relevance of tissue angiotensin-converting enzyme: manifestations in mechanistic and endpoint data. *American Journal of Cardiology*, 88(9), 1-20.

(E)

- Edge SB, Compton CC, 2010. The American joint committee on cancer. The 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. *Ann surg. Oncol*, 17, 1471-1474.
- El Housse H, Ajbara W, Amsaguine S, El amrani *et al*, 2015. Profils épidémiologique et anatomoclinique d'une population marocaine atteinte de cancer colorectal. *J. Afr. Cancer*, 95–99.

(F)

- Faucheron, J. L., 2005. Pelvic anatomy for colorectal surgeons. *Acta chirurgica Belgica*, 105(5), 471-474.
- Fearnhead NS, Britton MP, Bodmer WF, 2001. The ABC of APC. *Hum Mol Genet*, 10(7), 721-33.
- Fatima A, Hagggar M, Robin P, 2009. Colorectal Cancer Epidemiology. Incidence. Mortality. Survival and Risk Factors *Clin Colon Rectal Surg*, 22(4), 191-197.
- Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Mathers C *et al.*, 2019. Estimating the global cancer incidence and mortality. *Globocan sources and methods. International journal of cancer*, 144(8), 1941-1953.
- Friis S *et al.*, (2001) Angiotensin-converting enzyme inhibitors and the risk of cancer: a population-based cohort study in Denmark. *Cancer*, vol. 92, 246-2470).
- Fyhrquist F, Saijonmaa O, 2008. Renin-angiotensin system revisited. *J Intern Med* 264: 224-236.

(G)

- Gandon Y, 2014. Dépistage du cancer colorectal. Place de la coloscopie virtuelle. *Journal de radiologie diagnostique et interventionnelle*, 95(5), 469-476.
- Gliem M, Finger R, Fimmers R, CK Brinkmann *et al.*, 2013. journals.lww.com
- GLOBOCAN, 2020.

- Guillemot E, 2013. Étude des couple chimiokines/ Récepteurs comme nouvelles cibles thérapeutiques des cancers colorectaux métastasés : études précliniques. Université de Nice Sophia Antipolis, UFR Sciences.

(H)

-Heike P, Andreas R, Matthias T, Benjamin M, 2017. Le cancer colorectal,17(44), 943-952.

- Hari DM, Leung AM, Lee JH, Sim MS *et al.*, 2013. AJCC-7TH. Edition staging criteria for colon cancer. Do the complex modifications improve prognostic assessment? J.Am. coll. Surg, 217, 181-190.

- HAS, 2013. Dépistage et prévention du cancer colorectal. Actualisation du référentiel de pratiques de l'examen périodique de santé (EPS).

- Häfner H, Fätkenheuer B *et al.*,1991. Différences selon le sexe dans l'âge d'apparition, la symptomatologie et l'évolution de la schizophrénie Santé mentale au Québec, 16 (1), 77–98.

(I)

- Ibosquet, 2012. La polypose associée aux mutation bi-alléliques du gène MUTYH. Inst. Natl. Cancer, 146.

- Institut National Ducancer, 2011. Les maladies inflammatoires chroniquent du colon.

- Issa J P, 2004. CpG-Island methylator phenotyp in cancer. Nat Rev Cancer ,4(12), 988- 93.

(J)

- Järvinen HJ, Aarnio M, Mustonen H, Aktan Collan K, *et al*, 2000. Controlled 15-year trial on screening for colorectal cancer in families with hereditary non polyposis colorectal cancer. Gastroenterology, 118(5), 829-34.

- Jones S, Emmerson P, Best JM, Williams GT *et al*, 2002. Biallelic germline mutations in MYH predispose to multiple colorectal adenoma and somatic G:C- T: A mutations. Hume Mol Genet ,11(23), 2961-7.

(K)

- Karoui M, Tresallet C, Brouquet A, Ravanyi H *et al.*,2007. Carcinogènèse colorerctale. Mécanismes génétiques et épigénétiques de la progression tumorale et classification moléculaire des cancers colorectaux, 144(2) ,97 -105.

- Kishore c, Bhadra P, 2021. Current advancements and future perspective of immunotherapy in colorectal cancer research. European Journal of Pharmacology , 893.

- kohler, C,2010. Les épithéliums
- Komatsu T, Suzuki Y, Imai J, Sugano S *et al.*, 2002. Molecular cloning, mRNA expression and chromosomal localization of mouse angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (mACE2). *DNA Seq*, 13(4):217-20.
- kouadio GK, Turquin TH, 2003. Left colonic cancer obstruction in ivory coast *Annales de chirurgie*, 128,364-7.
- Kunzmann AT, Coleman HG, Huang WY, Cantwell MM *et al.*, 2016. Fruit and vegetable intakes and risk of colorectal cancer and incident and recurrent adenomas in the PLCO cancer screening trial. *Int J Cancer*, 138(8), 1851-61.
- Kushi LH, Doyle C, Cullough MCM ,2012. American Cancer Society guidelines on nutrition and physical activity for cancer prevention. reducing the risk of cancer with healthy food choices and physical activity. *CA : A Cancer Journal for Clinicians*. Atlanta, 62(1) :30-67.

(L)

- Lang L, 2006 ACE inhibitors may reduce esophageal cancer incidence, *Gastroenterology*, 131, 343-344.
- Lièvre P. Laurent P, 2004. Molecular biology in clinical cancer research : the exemple of digestive cancers ; Colloque de la RESP, à Paris.
- Liu S Y, Xiutian S, Wang C H., *et al*, 2011. The association between ACE polymorphism and risk of colorectal cancer in a Chinese population. *Clinical biochemistry*, 44, 1223–1226.
- Lamber R,2009. Épidémiologie du CCR. *Cancero diges1*.
- Laour H., Daouadi S, 2016. Le cancer colorectal profit épidémiologique anatomopathologique immunohistochimique. *Immunologie-Oncologie*. Université des frères Mentouri Constantine.
- Laraqui A, 2006. Étude des Facteurs Métaboliques et Polymorphismes Génétiques Prédisposant à la Survenue de l’Athérosclérose Coronaire (Pour l’obtention du doctorat biochimie). Rabat : Université Mohammed v-agdal, 197p.
- Lefèvre J,2013. Génétique et expression phénotypique des polyposes liées à APC et MUTYH. In la lettre de l’hépatogastroentérologue, pp, 206-212.
- Lefebvre, 2008. *Archive Larousse. Larousse Médical - tuméfaction – tungose*.
- Leitzmann MF, 2011. Physical activity and genitourinary cancer prevention. Courneya KS and Friedenreich CM (Eds). *Physical Activity and Cancer*. Springer. Berlin.

- Lever AF *et al.*, 1998. Do inhibitors of angiotensin-I-converting enzyme protect against risk of cancer? *Lancet*, 352, 179-184.
- Lieber CS, 2000. Alcohol. its metabolism and interaction with nutrients, 20, 395–430.
- Liu S, Chun-Hui W, Sima X, Ming G, 2011. The association between ACE polymorphism and risk of colorectal cancer in a Chinese population. *Clinical biochemistry*, 44(14-15), 1223-6.

(M)

- Mallem D, 2009. Les CCR dans les wilayas de Batna. Étude épidémiologique clinique et thérapeutique.
- Manceau G., Wagner M., Doat S, Bardier A *et al.*, 2014. Cancer du côlon. Épidémiologie. Diagnostic. Bilan d'extension, traitement chirurgical et suivi. *Eurj Cancer*, 9(1), 4-10.
- Marley AR., Nan H, 2016. Epidemiology of colorectal cancer. *International journal of molecular epidemiology and genetics*, 7(3), 105–114.
- Minoo P, Baker k *et al.*, 2006. Extensive DNA methylation in normal colorectal mucosa in hyperplastic polyposis. *Gut* 55(10), 1467. 40.
- Mohamed S, Abdessamad K, Hicham K, Mohamed M *et al.*, 2018. Profile épidémiologique et anatomopathologique du cancer colorectal. Apropos de 36 caswe, *Pan Afr*, 30, 159.
- Marketou ME, Vardas PE, 2012. “Bradykinin in the treatment of arterial hypertension: friend or foe?”. *Hellenic Journal of Cardiology*, 53, 91–94.
- Maximiliano G, Amine B, 2014. Les Métastases Hépatiques de Cancers Colorectaux.
- Meier CR *et al.*, 2000. Angiotensin-converting enzyme inhibitors. calcium channel blockers. breast cancer. *Arch. Intern. Med*, 160, 349-353.
- Montminy MDa, Albert Jang MDb, Michael Conner MDb *et al.*, 2020. Screening for Colorectal Cancer. *Med Clin N Am*, 104 (6) 1023–1036.
- Morere JF, Mitry E, 2010. Les cancers digestifs des sujets âgés, P26.

(N)

- Nikiteas N, Tsigris C, Chatzitheofylaktou A *et al*, 2007. No association with risk for colorectal cancer of the insertion/deletion polymorphism which affects levels of angiotensin.
- Nacak M, Nacak I, Sanli M, Ozkur M *et al.*, 2010. Association of angiotensin converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism with lung cancer in Turkey. *Cancer Genet Cytogenet.*, 198, 22-26.

(O)

- Olschwang S, Bonaiti-Pellie C, Frebourg T, Grandjouan S *et al.*, 2004. Le syndrome HNPCC identification et prise en charge John Libbey, 91(4), 303-14.
- Oudit G, Crackower M, Backx P, Penninger J, 2003. The role of ACE2 in cardiovascular physiology. Trends Cardiovasc lied, 13(3), 93-101.
- Ogino S T, S Kawasaki *et al.*, 2007. Evaluation of markers for CpG island methylator phenotype (CIMP) in colorectal cancer by a large population- based sample. J Mol. Diagn. 9(3) - 305- 14.

(P)

- Peltomaki P, Vasen H, 2004. Mutations associated with HNPCC predisposition. update of ICG-HNPCC/INSiGHT mutation database. Dis Markers, 20, 269-76.

(R)

- Rault A, Collet D, Cunha SA, Larroude F *et al.*, 2005. Surgical management of obstructed colonic cancer. Annales de chirurgie, 130, 331-335.
- Re RN, 2004. Tissue renin angiotensin systems. Med Clin North Am, 88(1), 19-35.
- Riboli E, Norat T, 2003. Epidemiologic evidence of the protective effect of fruit and vegetables on cancer risk. Am J Clin Nutr, 78, 559-69.
- Rhodes JM, Campbell BJ, 2002. Inflammation and colorectal cancer. IBD- associated and sporadic colorectal cancer compared, 8, 10-6.
- Riordan JF, 2003. Angiotensin-I-converting enzyme and its relatives. Genome biology, 4(8), 225.
- Rocken C, Neumann K, Carl-McGrath S *et al.*, 2007. The gene polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme correlates with tumor size and patient survival in colorectal
- Rocken C, Neumann K, Carl-McGrath S *et al.* 2007. The gene polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme correlates with tumor size and patient survival in colorectal

(S)

- Sameer AS, 2013. Colorectal cancer. Molecular mutations and polymorphisms. Front. Oncol, 3, 114.
- Sameer AS, Nissar S, Bashir S *et al.*, 2011. ACE polymorphism in colorectal cancer patients of Kashmiri population. A short report. Open Colorectal Cancer J, 4, 1-5.

- Saqer LS, Khammash HA, Shurrab EL *et al*, 2016. Association Between Angiotensin Converting Enzyme Gene Insertion\Deletion Polymorphism and Coronary Heart Disease in Gaza Strip. *International Journal of Biomedical Materials Research*, 4(3).
- Sayed-Tabatabaei FA, Oostra BA, Isaacs A, Van Duijn CM *et al.*, 2011. ACE polymorphisms. *Circ Res*, 98, 1123-33.
- Schischmanoff PO, Lagorce C, Wind P, Benamouzig R, 2005. Le syndrome HNPCC diagnostic et prise en charge gastroenterol clin biol, 29(10), 1028-34.
- Sedkaoui C, 2015. Chimiothérapie et thérapie ciblée dans le cancer colorectal métastatique, thèse de doctorat. Université Mouloud Mammeride Tizi-Ouzou. Faculté de Médecine, 203.
- Sinicrope FA, 2018. Lynch Syndrome—Associated Colorectal Cancer. *N Engl J Med*, 379(8), 764-73.
- société européenne d'oncologie médicale (ESMO), 2016.
- Syed S, Saniya N, Samina B, Arif B *et al.*, 2011. ACE Polymorphisme in Colorectal Cancer Patients of Kashmiri Population. A Short Report. *The Open Colorectal Cancer Journal*, 4, 1-5.
- Sameer A, Nissar S, Bashir S *et al*, 2011. ACE polymorphism in colorectal cancer patients of Kashmiri population—a short report. *Open Colorectal Cancer J*, 4, 1–5.
- Schäffler A, Menche N, 2004. Système digestif, nutrition et métabolisme. *Anatomie Physiologie*. Ed Maloine, 18, 322-361.
- Scoazec JY, Sabourin JC, 2010. The seventh edition of the TNM classification. *Ann. Pathol*, 30, 2-6.
- Shen L, Toyota M *et al.*, 2007. Integrated genetic and epigenetic analysis identifies three different subclasses of colon. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104(47), 18654-9.

(T)

- Thierry A, Housset M, Nordlinger B, Rougier P, 2015. Le cancer colorectal en question 3ème Edition. La Fondation A.R.C.A.D. Paris.
- Toma M, Cimponeriu D, Apostol P, Stavarachi M *et al.*, 2009. Lack of association between ACE ID polymorphism and colorectal cancer in Romanian patients, *Chirurgia (Bucur)*, 104(5), P 553-556.
- Toma M, Cimponeriu D, Apostol P *et al.*, 2009. Lack of association between ACE ID polymorphism and colorectal cancer in Romanian patients. *Chirurgia (Bucur)*, 104, 553–6.

- Tumer A, Tipnis S, Guy J, Rice G *et al.*, 2002. ACEWACE2 is a novel mammalian metallocarboxypeptidase and a homologue of angiotensin converting enzyme insensitive to ACE inhibitors. *Can J Physiol Pharmacol*, 80(4), 346-53.

(V)

- Vairaktaris E, Yapijakis C, Tsigris C, Vassiliou S *et al.*, 2007. Association of angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism with increased risk for oral cancer. *Acta Oncol.* (In press). PMID, 1785-1834.

- Viguier J, Bourlier P, Karsenti D, Calan L *et al.*, 2003. Cancer du côlon. *EncyclMédChir.* Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS Paris Gastro-entérologie, 9-068-A-10, 18 p.

-Viguier J, Bourlier P, Karsenti D, Calan L *et al.*, 2003. Cancer du côlon.

- Vitoratos N, Hassiakos D, Iavazzo C, 2012. Molecular mechanisms of preeclampsia.” *Journal of Pregnancy*, vol.2012, Article ID 298343, 5.

(W)

- Weitz J, Koch M, Debus J, Hohler T *et al.*, 2005. Colorectal cancer. *Lancet Lond. Engl*, 365, 153-165.

- World Cancer Research Fund, American Institute for Cancer Research. Continuous Update Project Report. Food. Nutrition. Physical activity. And the prevention of CCR. Colorectal cancer 2011 report. AICR .2011.

- WCRF world cancer research, 2017. Diet. Nutrition. Physical activity and colorectal cancer.

(X)

- Xiao Z, Guoli L, Gang C, Ming C *et al.*, 2017. Angiotensin-Converting Enzyme Gene Deletion Polymorphism is Associated with Lymph Node Metastasis in Colorectal Cancer Patients in a Chinese Population. *Med Sci Monit*, 23, 4926–4931.

(Y)

-Yang C, Wang X, Huang CH, Yuan WJ *et al.*, 2016. Passive Smoking and Risk of Colorectal Cancer. A Meta-analysis of Observational Studies. *Asia Pac J Public Health*, 81-172.

- Yu ZY, Chen LS, Zhang LC *et al.*, 2012. Meta-analysis of the relationship between ACE I/D gene polymorphism and end-stage renal disease in patients with diabetic nephropathy. *Nephrology (Carlton)*, 17, 480–7.

(Z)

- Zheng X, Liu G, Cui G *et al.*, 2017. Angiotensin-Converting Enzyme Gene Deletion Polymorphism is Associated with Lymph Node Metastasis in Colorectal Cancer Patients in a Chinese Population. *Medical science monitor. international medical journal of experimental and clinical research*, 23, 4926–4931.
- Zhou X, Caizhao L, 2015. Survivin and angiotensin-converting enzyme polymorphisms with risk of colorectal cancer. A systematic review and meta-analysis. *World Journal of Surgical Oncology*,13, 27.
- Zhou X, Lin C, 2015. Survivin and angiotensin-converting enzyme polymorphisms with risk of colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *World journal of surgical and clinical research*, 23, 4926–4931.
- Zheng X., Liu G, Cui G *et al.*, 2017. Angiotensin-Converting Enzyme Gene Deletion Polymorphism is Associated with Lymph Node Metastasis in Colorectal Cancer Patients in a Chinese Population. *Medical science monitor. international medical journal of experimental and clinical research*, 23, 4926–4931.

Webographie

-W1 : Anatomie et physiologie. Disponible sur : <http://www.reflexopf.fr/anatomie-physiologie.html>. Consulté le (28/03/2017).

-W2 : Cancer : Molecular Biology. Disponible sur <https://www.cancer2000.net/molecular20biology/page2.htm>. Consulté le (28/05/2017)

-W3:
<https://th.bing.com/th/id/OIP.0a3Gilb584grFUIH54rsPQHafP?w=218&h=180&c=7&o=5&pid=1.7>.

- W4 : Société Canadienne Du Cancer. L'alcool. Disponible sur : <http://www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/cancer-101/what-is-a-riskfactor/alcool/region=on> .

Consulté le (25/04/2016)

-W5 : La ligue contre le cancer. Tous les cancer, cancer du colon et du rectum. Disponible sur : <https://www.ligue-cancer.net/localisation/colonrectum/sthash.ZLY8Ccmk.dpuf>.

Consulté le 18/05/2016).

W6 : Institut national du cancer. Antécédents familiaux. Disponible sur : <http://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/les-cancer/Cancer-du-colon/Facteurs-derisque/Antecedents-familiaux>. (Consulté le 20/05/2016).

Annexe

Annexe 1 :**1-Fiche de renseignement du témoin**

Chez les hommes

CARACTÉRISTIQUES SOCIO-DÉMOGRAPHIQUES	
Nom :	
Prénom :	
Date/lieu de naissance :	
Lieu d'habitat : Urbain <input type="checkbox"/> Rural <input type="checkbox"/>	
Etat civil : célibataire <input type="checkbox"/> marié <input type="checkbox"/> divorcé <input type="checkbox"/> veuf <input type="checkbox"/>	
Enfants : OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/> Si oui, préciser le nb d'enfants (inclure les enfants décédés) : ...	
Niveau d'étude : analphabète <input type="checkbox"/> primaire <input type="checkbox"/> moyen <input type="checkbox"/> secondaire <input type="checkbox"/> supérieur <input type="checkbox"/>	
Profession : actif <input type="checkbox"/> retraité <input type="checkbox"/> chômeur <input type="checkbox"/> étudiant <input type="checkbox"/>	
Si actif ou retraité, préciser l'activité principale :	
CARACTÉRISTIQUES PHYSIQUES	
Poids actuel : Kg	Taille : Cm
MODE DE VIE	
Consommation du tabac :	
Fumeur : OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/> Si Oui,.... Paquet/j, depuis.....ans	
Ancien fumeur : OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/> Si Oui,....paquet/j, durée.....ans	
Consommateur du tabac à chiquer : OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/> Si Oui, préciser, fois/j.	
Ancien consommateur du tabac à chiquer : OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/> Si Oui, préciser, fois/j, durée.....ans	
Consommation d'alcool :	
Actuellement : OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/> Si Oui, préciser, ...fois/mois, depuis.....ans	
Au passé : OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/> Si Oui, préciser, ...fois/mois, durée.....ans	
Consommation de caféine : OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/> Si Oui, préciser, ...tasse/j	
Exposition à certains produits : OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/>	
Si OUI, préciser : pesticides <input type="checkbox"/> herbicides <input type="checkbox"/> métaux lourds <input type="checkbox"/> produits chimiques <input type="checkbox"/>	
Durée de l'exposition :..... ans	
ANTECEDENTS MEDICAUX FAMILIAUX : OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/>	
Si Oui, préciser :	

Chez les femmes

CARACTÉRISTIQUES SOCIO-DÉMOGRAPHIQUES

Nom :

Prénom :

Date/lieu de naissance :

Lieu d'habitat : Urbain Rural Etat civil : célibataire mariée divorcée veuve Enfants : OUI NON Si oui, préciser le nb d'enfants (inclure les enfants décédés) :Niveau d'étude : analphabète primaire moyen secondaire supérieur Profession : active retraitée femme au foyer étudiante

Si active ou retraitée, préciser l'activité principale :

CARACTÉRISTIQUES PHYSIQUES

Poids actuel : Kg

Taille actuelle : Cm

MODE DE VIE**Consommation du tabac :**Fumeuse : OUI NON Si Oui,paquet/j, depuisansAncienne fumeuse : OUI NON Si Oui,paquet/j, duréeansConsommatrice du tabac à chiquer : OUI NON Si Oui, préciser, fois/j, depuisansAncienne consommatrice du tabac à chiquer : OUI NON Si Oui, préciser, fois/j, duréeans**Consommation d'alcool :**Actuellement : OUI NON Si Oui, préciser, ...fois/mois, depuisansAu passé : OUI NON Si Oui, préciser, ...fois/mois, duréeansConsommation de caféine : OUI NON Si Oui, préciser, ...tasse/jExposition à certains produits : OUI NON Si OUI, préciser : pesticides herbicides métaux lourds produits chimiques

Préciser la durée de l'exposition : ans

RENSEIGNEMENTS CLINIQUES SUPPLEMENTAIRES

Age de la ménarche :ans

Cycle menstruel : régulier irrégulier Nb de grossesses normales : Nb de grossesses arrêtées : Pas de grossesses : Nb de fausses couches spontanées : Prise de contraception durée

ANTECEDENTS MEDICAUX FAMILIAUX : OUI NON

Si Oui, préciser :

2- Fiche de renseignement du patient

I) Données relatives aux patients

Nom et prénom :

Service:

Age :

Adresse / Tél :

Origine (Région) :

Profession :

Poids : Taille :

II) Données sur le mode de vie

1- Tabagisme : Oui Non

Nbre de cigarette / jour :

2- Prise d'alcool : Oui Non

3- Prisse actuelle de thérapeutique : Anti-inflammatoire :

Autres.....

III) Terrain pathologie:

1- Présence de pathologies associées

-Diabète :

Oui

Non

-Maladies inflammatoires de l'intestin (Crohn, colite ulcéreuse) : Oui

Non

-Polype colorectal :	Oui	Non
2- Antécédents personnels		
CCR.....	Autres cancers	
3-Antécédents familiaux	Non	Oui : Nombre de sujets atteints :.....
IV) Caractéristiques tumorales		
1-Données macroscopiques		
-Localisation tumorale :	Rectum	colon sigmoïde
	Colon droit	colon gauche
		colon transverse
-Aspect :	bourgeonnement	infiltrant
		plan
-Métastase synchrone :	absentes	présentes
2- Données histologiques :		
-Type d'adénocarcinome :	bien	moyennement
		peu différencié
- Stade :.....		

Annexe 02 : Extraction de l'ADN

1- Préparation des leucocytes

-Dans un tube Flacon de 50 ml ; mettre le sang total (7-10ml) et compléter à 45 ml avec du TE (TRIS + EDTA) 20 :5.

- Laisser le mélange 10min dans la glace.

- Centrifuger 15min à 3900g (3900 rpm).

- Déverser le surnageant prudemment afin de garder le culot leucocytaire précipité au fond de tube.

- Rajouter le TE 20:5 au culot jusqu'à 20-30 ml, agiter pour le remettre en suspension ;

- Laisser 10 min dans la glace.

- Centrifuger 15 min à 3900 g (3900 rpm).

- Centrifuger dans les mêmes conditions précédentes.

- Déverser le surnageant : obtention d'un culot de leucocytes.

(Si on s'arrête à ce niveau, les mettre dans un tube nunc de 1.5ml avec du TE 10 :1 et les conserver à -20°C dans un congélateur).

2- Extraction de l'ADN

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

3- Solubilisation de l'ADN

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

Annexe 03 : 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 colorectal est une tumeur maligne qui affecte le colon et le rectum, résulte de l'accumulation progressive des altérations génétiques et épigénétiques qui conduisent à la transformation de la muqueuse colique normale en adénocarcinome. Les principaux objectifs de notre travail de recherche sont l'exploration de facteurs de risques les plus courants chez les sujets avec un cancer colorectal, et démontrer une possible association entre un nouveau marqueur génétique qui est le polymorphisme insertion/délétion de l'ECA et la carcinogenèse du cancer colorectal.

Notre étude de type cas-témoin comporte une population de 50 cas de CCR et 57 témoins. Une extraction de l'ADN leucocytaire, selon la technique NaCl, a été réalisée pour la population témoin suivie d'un génotypage du polymorphisme de l'ECA déterminé par la méthode PCR directe.

Notre étude a révélé qu'il existe suffisamment de preuves permettant d'affirmer que l'exposition à des facteurs environnementaux jouent un rôle important dans l'étiologie de cette maladie ; La tranche d'âge la plus touchée semble être entre 40 et 49 ans avec une prédominance féminine. Tous nos patients ne prennent pas de boissons alcoolisées et ne présentent aucun terrain pathologique. 36% de la population présentant des antécédents familiaux. Sur la base clinique de la tumeur indique que le cancer colique prédomine le cancer rectal, et le stade III est le plus fréquent. Les résultats de notre étude moléculaire montrent une association très significative entre le génotype DD et le CCR (($P = 0,039$, $OR = 2,16$, $IC \text{ à } 95 \% = 1,04-4,48$; $P = 0,026$, $OR = 1,501$, $IC \text{ à } 95 \% = 1,048-2,15$).

Il serait intéressant d'appliquer des statistiques plus approfondies sur un effectif plus élargi des populations d'étude. Cela permettrait de confirmer notre résultat.

Mots clé : Cancer colorectal, polymorphisme I/D, ECA, risque de CCR.

Abstract

Colorectal cancer is a malignant tumor that affects the colon and rectum, resulting from the progressive accumulation of genetic and epigenetic alterations that lead to the transformation of normal colonic mucosa into adenocarcinoma. The main objectives of our research are the exploration of the most common risk factors in subjects with colorectal cancer, and to demonstrate a possible association between a new genetic marker which is the ACE insertion / deletion polymorphism and the colorectal cancer carcinogenesis.

Our case-control study includes a population of 50 cases of CRC and 57 controls. Leukocyte DNA extraction using the NaCl technique was performed for the control population followed by genotyping of the ACE polymorphism determined by the direct PCR method.

Our study found that there is sufficient evidence to suggest that exposure to environmental factors play an important role in the etiology of this disease; The most affected age group seems to be between 40 and 49 years old, with a predominance of women. All of our patients do not drink alcoholic beverages and do not present any pathological conditions. 36% of the population with a family history. On the clinical basis of the tumor indicates that colon cancer predominates rectal cancer, and stage III is the most common .The results of our molecular study show a very significant association between the DD genotype and CRC ((P = 0.039, OR = 2.16, 95% CI = 1.04–4.48; P = 0.026, OR = 1.501, 95% CI = 1.048–2.15).

It would be interesting to apply more in-depth statistics to a larger number of study populations. This would confirm our result.

Keywords : Colorectal cancer, I / D polymorphism, ACE, risk of CRC.

ملخص

سرطان القولون والمستقيم هو ورم خبيث يصيب القولون والمستقيم ، وينتج عن التراكم التدريجي للتغيرات الوراثية والجينية التي تؤدي إلى تحول الغشاء المخاطي الطبيعي للقولون إلى سرطان غدي. تتمثل الأهداف الرئيسية لبحثنا في استكشاف عوامل الخطر الأكثر شيوعاً في الأشخاص المصابين بسرطان القولون والمستقيم ، وإثبات وجود ارتباط محتمل بين واصم جيني جديد وهو تعدد اشكال الادراج/الحذف ACE و تسرطن سرطان القولون والمستقيم. تتضمن دراسة الحالات و الشواهد لدينا مجموعة من 50 حالة CCR و 57 مجموعة تحكم. تم إجراء استخلاص الحمض النووي لخلايا الدم البيضاء وفقاً لتقنية كلوريد الصوديوم متبوعاً بالتنميط الجيني لتعدد الأشكال ECA الذي تم تحديده بواسطة طريقة PCR المباشرة.

وجدت دراستنا أن هناك أدلة كافية تشير إلى أن التعرض للعوامل البيئية يلعب دوراً مهماً في مسببات هذا المرض ؛ يبدو أن الفئة العمرية الأكثر تضرراً تتراوح بين 40 و 49 عاماً مع غلبة أنثى. لا يشرب جميع مرضانا المشروبات الكحولية ولا يعانون من أي حالات مرضية. 36% من السكان لديهم تاريخ عائلي. بناءً على الأساس السريري للورم يشير إلى أن سرطان القولون يسود سرطان المستقيم ، والمرحلة الثالثة هي الأكثر شيوعاً. تظهر نتائج دراستنا الجزيئية ارتباط مهم جداً بين النمط الجيني DD و CCR ((95% CI = 1.04–4.48) ، OR = 2.16 ، P = 0.039 ، OR ؛ P = 0.026 ، = P = 1.501 ، IC 95% = 2.15-1048).

سيكون من المثير للاهتمام تطبيق المزيد من الإحصائيات المتعمقة على عدد أكبر من مجموعات الدراسة. هذا من شأنه أن يؤكد نتيجتنا.

كلمات البحث : سرطان القولون والمستقيم ، تعدد الأشكال I / D ، ECA ، خطر CRC.

Année universitaire : 2020/2021

Présenté par : Dabouz Belhadj

Djoudi Yousra

Association du polymorphisme I/D de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) au cancer colorectal

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Génétique Moléculaire.

Le cancer colorectal est une tumeur maligne qui affecte le colon et le rectum, résulte de l'accumulation progressive des altérations génétiques et épigénétiques qui conduisent à la transformation de la muqueuse colique normale en adénocarcinome. Les principaux objectifs de notre travail de recherche sont l'exploration de facteurs de risques les plus courants chez les sujets avec un cancer colorectal, et démontrer une possible association entre un nouveau marqueur génétique qui est le polymorphisme insertion/délétion de l'ECA et la carcinogenèse du cancer colorectal.

Notre étude de type cas-témoin comporte une population de 50 cas de CCR et 57 témoins. Une extraction de l'ADN leucocytaire, selon la technique NaCl, a été réalisée pour la population témoin suivie d'un génotypage du polymorphisme de l'ECA déterminé par la méthode PCR directe.

Notre étude a révélé qu'il existe suffisamment de preuves permettant d'affirmer que l'exposition à des facteurs environnementaux joue un rôle important dans l'étiologie de cette maladie ; la tranche d'âge la plus touchée semble être entre 40 et 49 ans avec une prédominance féminine. Tous nos patients ne prennent pas de boissons alcoolisées et ne présentent aucun terrain pathologique. 36% de la population présentent des antécédents familiaux. Sur la base clinique de la tumeur, le cancer colique prédomine le cancer rectal, et le stade III est le plus fréquent. Les résultats de notre étude moléculaire montrent une association très significative entre le génotype DD et le CCR (OR= 4.44, IC 95 % 1,69-11.68, p = 0,0025).

Il serait intéressant d'appliquer des statistiques plus approfondies sur un effectif plus élargi de population d'étude. Cela permettrait de confirmer notre résultat.

Mots clés : Cancer colorectal, polymorphisme I/D, ECA, facteur de risque.

Jury d'évaluation :

Encadreur : Dr SEMMAME Ouarda

Présidente du jury : Pf. SATA Dalila

Examinatrice : Dr SEDRATI Khadidja

Date de soutenance : 15/07/2021

