



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Biologie Animale

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Génétiques

Intitulé

Recherche de polymorphisme c. -93G> A sur le gène *MLH1* dans le Syndrome de Lynch chez des familles algériennes

Présenté et soutenu par : Righi Safaâ.

Le : 23 septembre 2021

Djebbar imén

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : Dr. Sedrati Kh. (MCB. Université Frères Mentouri Constantine 1)

Rapporteur : Dr. Ziada H. (MCB. Université Frères Mentouri Constantine 1)

Examineur : Dr. Semmame O. (MCB. Université Frères Mentouri Constantine 1)

Année universitaire

2020-2021

Remerciement

*Tout d'abord, nous tenons à remercier
Dieu tout-puissant pour nous avoir
donné la force et la patience de faire ce
travail humble*

Remerciements

A notre encadreur, Mme ZIADA-BOUCHAR HADIA

Ces quelques mots sont insuffisants pour vous exprimer tous notre gratitude et reconnaissance. Merci pour la confiance que vous nous avez accordée, pour vos judicieux conseils et votre patience, vos encouragements et pour votre engagement, merci de nous avoir épaulés du début jusqu'à la fin et pour votre commentaire et corrections. Nous sommes absolument heureux de connaître votre modeste personnalité, ce fut un honneur d'être vos étudiants.

*Nous remerciment s'étendent également aux membres
du jury*

Mme SEDRATI KH la présidente de ce jury, merci pour tous votre conseils et encouragements, veuillez croire en nos éternels respects et nos sincères gratitude.

Mme SEMMAME O l'examinatrice de notre mémoire, merci pour votre engagement d'accepter et d'examiner ce travail et de participer à ce jury.

Nous remerciant Mme SATTI D. et Mme SEDRATI KH, pour tous les efforts qu'elles ont déployés pour réussir avec tous l'équipe de nos enseignants de la spécialité GENETIQUE.

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

Dédicaces

J'ai l'honneur de dédier ce mémoire à :

A Mes parents bien aimés

Je vous dédie ce travail en reconnaissance de tout l'amour et de toute l'affection que vous n'avez jamais cessé de me prodiguer. Il n'y a pas de mots assez forts pour exprimer mon immense amour et ma profonde gratitude pour tous les sacrifices et les efforts que vous avez consentis pour mon éducation, vous m'avez toujours guidée et soutenue et conseillée avec la plus grande des sagesse.

Je prie Dieu le tout puissant de vous protéger et accorder santé et vous donne une longue vie.

A mes sœurs & mes frères

Merci de m'avoir motivé, je prie Dieu le tout puissant de vous accorder santé, et beaucoup de bonheur et la réussite dans tes études.

Un grand remerciement à tous mes amis, mes collègues, copines et toute ma famille, J'ai de la chance de tous vous avoir, que Dieu vous garde à mes côtés.

A mon binôme IMEN

Ces quelques mots ne suffisent pas pour exprimer toute ma gratitude envers toi, on a commencé cette spécialité ensemble et on l'a finie ensemble, j'espère qu'on atteindra ensemble nos objectifs.

Et enfin à tous les étudiants de master 2 génétique, je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

Safaa

Dédicaces

Je dédie ce travail à toutes les personnes que j'aime.

À mes chers parents << Salah & Hamama >> qu'Allah vous protège et vous donne une longue vie.

Merci papa, merci maman pour vos sacrifices et votre éducation, pour votre soutien tout le long de mes études merci pour votre amour, votre confiance, votre patience.

À mes chers frères << chouaib & djelloul & mahdi & fouad et walid>> Tous les mots ne sauraient exprimer l'amour et le Respect que j'ai pour vous.

Qu'Allah vous protège.

Je dédie ce mémoire également :

À tout la famille<< djebbar & bouzzred>>.

À toutes mes amis et mes collègues.

À mon binôme << righi safa>> et toute sa famille.

À mon encadreur<<Dr ziadâ Hadia >>

Iman

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction

La partie théorique

7I Côlon et rectum

1	Anatomie du côlon et de rectum	1
2	Histologie du côlon et du rectum	2
3	Physiologie du côlon et du rectum	2

II Cancer colorectal

1	Définition du cancer colorectal	3
2	Donnés épidémiologiques du CCR	3
3	Facteurs de risque de CCR	4
3.1	Age et sexe	4
3.2	Antécédent de maladies	4
3.3	Habitudes de vie	5
4	Etapes de progression tumorale dans le CCR	5
5	Stades et classification du CCR	6
5.1	Classification de TNM	6

III Carcinogènèse colorectale

1	Instabilité chromosomique	8
2	Instabilité génétique	8
3	Modification épigénétique	9

3.1	Hypométhylation	9
3.2	Hyperméthylation	10
IV	Les formes héréditaires du cancer colorectal	10
	Formes polyposiques	
1	Polypose adénomateuse familiale (PAF)	11
2	Polypose liée à MUTYH	12
	Formes non polyposiques (SL)	
1	Incidence, découverte et historique	12
2	Caractéristiques cliniques	13
2.1	Variété clinique	13
2.2	Critères d'Amsterdam et de Bethesda	13
3	Génétique et mécanismes moléculaires du SL	14
3.1	Système de réparation MMR	14
3.2	Gènes MMR	15
3.3	Mutations germinales dans les gènes du système MMR	18
3.3.1	Mutations germinales dans le gène MLH1	19
3.4	Polymorphisme et variations des gènes MMR impliqués ...	20
3.4.1	Polymorphisme c.-93G>A (rs1800734)	20
3.4.2	Association du polymorphisme rs1800734 et CCR	21
3.4.3	Association du polymorphisme rs1800734 et autres cancers .	22
4	Stratégie de diagnostic de SL	22
5	Prise en charge de SL	24

La partie pratique

Patients et Méthode

1	Patients	25
1.1	Recrutement des sujets	25
1.2	Questionnaire, enquête familiale et consentement	25
1.3	Prélèvement sanguin	26
2	Méthodes	26
2.1	Extraction de l'ADN	27
2.2	Purification des produits de PCR par la Kit Qiagene	30
2.3	Réaction de séquence	31
2.4	Purification des produits de séquences	32
2.5	Electrophorèse capillaire	32
2.6	Bio-informatique	33
2.7	Statistiques	33
	Résultats et discussion	34
	Conclusion et perspectives	43
	Références bibliographiques	45
	Annexes	
	Résumés	

Liste des figures

1	Anatomie du rectum et du colon	1
2	Les différentes couches de la paroi de colon	2
3	Séries typiques de mutations acquises au cours du développement d'un CCR	6
4	Schéma montrant les cinq stades par lesquels peut passer un CCR	7
5	Carcinogénèse colorectale	8
6	Mécanisme d'inactivation de la transcription	10
7	Répartitions des différents types de cancer du côlon	11
8	Schéma du mécanisme de correction des mésappariements de l'ADN par le système MMR	15
9	Carte génétique du gène <i>MLH1</i>	16
10	Les exons et les introns du gène <i>MLH1</i>	16
11	Carte génétique de protéine de <i>MLH1</i>	16
12	Représentation schématique du gène <i>MSH2</i>	17
13	Représentation schématique du gène <i>MSH6</i>	17
14	Représentation schématique du gène <i>PMS2</i>	18
15	Répartition des mutations des gènes MMR dans le SL	19
16	Répartition des mutations du gène <i>MLH1</i> dans le syndrome de Lynch	20
17	Stratégie diagnostique en cas de suspicion de SL	24
18	Programme PCR de gène <i>MLH1</i>	29
19	Profil de migration des amplicons des exons de <i>MLH1</i> résultats d'amplification de la plaque PCR de la figure précédente	30
20	Répartition des patients selon le sexe	34
21	Répartition des patients selon le sexe et l'âge de diagnostic	34
22	Répartition des patients selon la localisation de la tumeur	35
23	Répartition des patients selon les stades	36
24	Répartition des patients selon les critères d'Amsterdam et de Bethesda	38

25	Arbre généalogique de la famille F1 porteuse le SL.....	39
26	Arbre généalogique de la famille F2 porteuse le SL.....	39
27	Arbre généalogique de la famille F3 porteuse le SL.....	39
28	Arbre généalogique de la famille F4 porteuse le SL.....	40
29	Arbre généalogique de la famille F5 porteuse le SL.....	40
30	Arbre généalogique de la famille F10 porteuse le SL.....	40

Liste des tableaux

1	Les principaux indicateurs en 2019 du CCR	3
2	Séquences des amorces et tailles d'amplimers du gène MLH1	28
3	Composition d'un milieu réactionnel des PCR	29
4	Analyses des arbres généalogiques	41

Liste des abréviations

***AJCC* : American joint committee on cancer**

***APC* : Adenomatous polyposis coli**

***BET* : Bromure d'éthidium**

***CCR* : Cancer colorectal**

***CIN* : Chromosomal instability**

***CpG* : Cytosine-phosphate-guanine**

***DCC* : Deleted in colorectal cancer &**

***HNPCC* : Hereditary non-polyposis colorectal cancer**

***I/D* : Insertion / Deletion**

***LOH* : Loss of heterozygosity**

***MAP* : MUTYH associated polyposis**

***MMR* : Mismatch repair**

***MLH1* : MutL homolog 1**

***MSH2* : MutS homolog 2**

***MSI* : Microsatellite instability**

***PAF* : Polypose adénomateuse familiale**

***SL* : Syndrome de lynch**

***SNP* : Single nucleotide polymorphism**

***TBE* : Tris borate EDTA**

***TP53* : Tumor protein 53**

***UICC* : Union internationale contre le cancer**

Introduction

Le cancer colorectal (CCR), cancer le plus fréquent de l'appareil digestif, Il représente un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale. C'est le troisième cancer en importance chez les hommes après le cancer du poumon et de la vessie (746 000 cas, 10,0% du total), et le deuxième cancer le plus fréquent chez les femmes après le cancer du sein (614 000 cas, 9,2% du total) (Ferlay et *al.*, 2013).

En Algérie, le CCR est le deuxième cancer le plus fréquent après le cancer du sein, et le cancer du poumon (Abid, 2016). Avec 8500 des nouveaux cas enregistrés annuellement. Cette fréquence peut être réduite par la prévention, et le dépistage précoce de maladie (Oukkal, 2002).

Le CCR est défini comme une pathologie liée à plusieurs facteurs dont l'âge et le sexe, l'hérédité, l'alimentation, la consommation d'alcool et le tabagisme, l'inactivité physique, l'obésité (Hagggar et Boushey, 2009).

Majoritairement, c'est un cancer sans prédisposition héréditaire mais environ 20% des patients atteints de ce cancer ont des antécédents familiaux du CCR et 5% ont une relation avec une forme familiale de transmission autosomique dominante.

Le syndrome de Lynch (SL) est l'une de ces susceptibilités héréditaires se caractérisant par l'apparition précoce de CCR mais également par un risque plus élevé du développement d'autres cancers, en particulier, de l'endomètre, de l'ovaire, de l'estomac, de l'intestin grêle, de l'épithélium biliaire et urinaire (Balaguer et Castells, 2007) et, certaines tumeurs cutanées et cérébrales.

Le SL est causé par la survenue des mutations constitutionnelles dans les gènes du système de réparation des mésappariements de l'ADN (MMR) notamment *MLH1* et *MSH 2* (Chapelle, 2004). Cependant la présence de certain polymorphismes à savoir le SNP -93A>G de promoteur du gène *MLH1* semblent avoir une association avec l'augmentation du risque d'atteinte par le CCR.

Notre travail réparti en deux partie théorique et pratique a pour objectifs de :

- Décrire le cancer colorectal et son épidémiologie, aspects du développement tumoral, facteurs de risque, mécanismes de la carcinogénèse des formes héréditaires.

- Etablir une étude statistique des caractéristiques cliniques, généalogiques et moléculaires de SL afin de rechercher une éventuelle mutation constitutionnelle dans l'exon 1 du gène *MLH1* par séquençage direct.
- Détection de polymorphisme c.-93G>A sur le promoteur du gène *MLH1* afin d'évaluer sa liaison au risque d'atteinte de SL chez les familles étudiées.

Partie théorique

Partie théorique

I. Côlon et rectum

1. Anatomie du côlon et du rectum

Le côlon et le rectum : Le côlon est un gros tube de forme U inversé, se situant sous l'estomac, il présente la dernière partie de tube digestif, suite à l'intestin grêle et est terminé par le rectum. Le côlon mesure jusqu'à environ 2 mètre de long et 4 centimètres de diamètre, avec volume de 1,8 litre (Raptis et *al.*, 2015). Il se divise en plusieurs segments (figure.1).

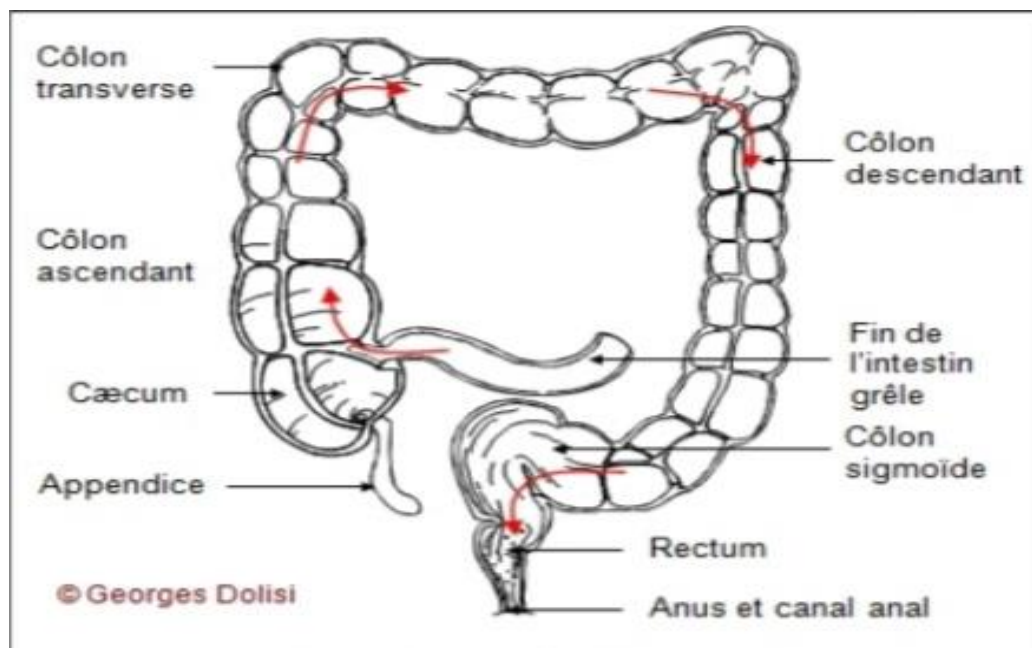


Figure 1 : Anatomie du rectum et du colon (Ame et Nicole, 2002).

A- Cæcum : c'est une poche située au début du côlon attaché à l'ileon (dernière partie de l'intestin grêle) (Schumpelick et *al.*, 2000).

B- Côlon : c'est le segment le plus grand qui relie le cæcum au rectum. Subdivisé en quatre parties :

- Le côlon transverse : situé à la partie supérieure de l'abdomen, relie le côlon droit au côlon gauche.
- Le côlon droit (côlon ascendant) : situé au côté droit de l'abdomen, il relie le cæcum au côlon transverse.
- Le côlon gauche (côlon descendant) : situé au côté gauche du corps, c'est la partie continue de côlon transverse jusqu'au côlon sigmoïde.

Partie théorique

- Le côlon sigmoïde : c'est la dernière partie du côlon qui est en forme S qui relie le côlon gauche au rectum.

C- Rectum : constitue la partie terminale du côlon, qui aboute sur l'anus. Le sphincter anal permet de stocker dans l'ampoule rectale les matières fécales avant la déjection (Ame et Nicole, 2002).

D- Canal anal : c'est la suite du rectum jusqu'à l'extrémité du tube digestif qui est l'anus (Ahmed et Qureshi, 2020).

2. Histologie du côlon et du rectum

La paroi intestinale est composée de plusieurs couches histologiques. Elle est constituée de 4 couches de l'intérieure vers l'extérieur sont : la muqueuse, la tunique sous-muqueuse, la couche musculaire et la séreuse (figure. 2) (Azzouz et Sharma, 2020).

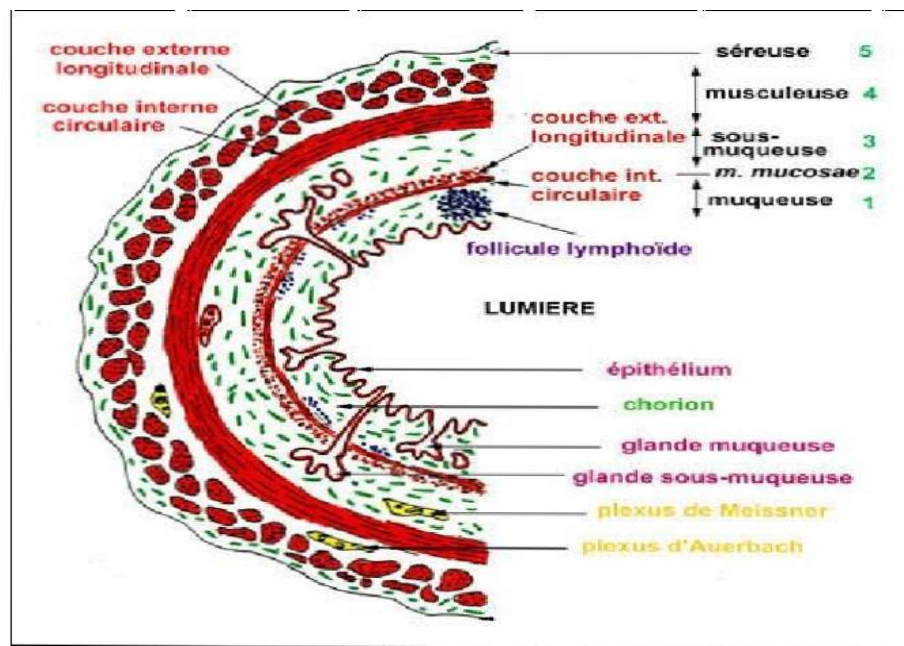


Figure 2 : Les différentes couches de la paroi de côlon (Parkin et al., 1992).

3. Physiologie du côlon

Plusieurs fonctions du côlon qui sont impliquées dans la digestion : l'absorption de l'eau et des éléments nutritifs des aliments ingérés, et d'acheminer les résidus alimentaire hors du corps, et participe aussi à la défense immunitaire de l'organisme.

Les principales fonctions du colon et rectum sont :

Partie théorique

- Fonctions de motricité : par des mouvements de contraction segmentaire.
- Fonction d'absorption : par la réabsorption d'eau, de sodium, de vitamines et de sels minéraux.
- Fonction de sécrétion : qui concerne le mucus des cellules caliciformes.
- Fonction de digestion : la flore bactérienne du côlon assure la dégradation des éléments non absorbés au niveau de l'intestin (Hirayama, 1981).

II. Cancer colorectal

1. Définition du CCR

Le cancer colorectal est le type de cancer le plus courant du système digestif. Ce cancer est causé par des mutations dans les gènes qui affectent les cellules qui forment la paroi interne du côlon. Ces mutations conduisent à une prolifération cellulaire chaotique, qui conduit à la formation de petites tumeurs bénignes qui grossissent et se transforment en tumeurs malignes, ces dernières ayant la capacité de migrer et d'envahir d'autres cellules comme le foie et à travers les vaisseaux sanguins et la lymphe (Ferlay et *al.*, 2013).

2. Données Épidémiologiques du CCR

Le cancer colorectal est le 3^{ème} type de cancer le plus fréquent dans le monde, l'incidence de ce cancer est largement plus élevée dans les pays riches que dans les pays en voie de développement (Weitz et *al.*, 2005). Dans le monde chaque année il touche près d'un million de personnes et environ 655 000 personnes décèdent suites de ce cancer, Il représente 10,1% des cancers féminins et 9,4% des cancers masculins (tableau 1) (Jemal et *al.*, 2006).

En Algérie, le cancer colorectal occupe la 2^{ème} place et représente 23% des cancers du système digestif tandis que chaque année il touche 8500 personnes parmi eux 4500 cas masculins et 4000 cas féminins (Oukkal, 2002).

Tableau 1 : les principaux indicateurs en 2019 du cancer colorectal (Binder-foucard et *al.*, 2013).

	Sexe	Taux brut en (%)	Taux standardisés monde en (%)	Nombres des cas
incidence	Homme	75.2	38.4	23226
	Femme	57.7	23.7	18926
mortalité	Homme	30.0	13.3	9275

Partie théorique

	Femme	25.7	7.9	8447
--	-------	------	-----	------

3. Facteurs de risque

➤ Âge et Sexe

Le CCR est considéré comme une maladie d'âge moyen en raison du risque élevé de le développer après l'âge de cinquante ans (Scotté et *al.*, 2002). Avec l'âge, le risque de ce cancer augmente rapidement, car la maladie a été diagnostiquée chez 94% des personnes de plus de 50 ans, s'il est rare avant 50 ans, il ne représente que 6%, et il présente 3 à 4 fois chez l'homme que chez la femme, il est estimé qu'un homme sur 17 et une femme sur 20 en seront atteints au cours de son vie avec le CCR. Dans l'ensemble, 90% des nouveaux cas et 94% des décès surviennent chez des personnes de plus de 65 ans (Parkin et *al.*, 1992).

➤ Antécédent de maladies

- **Antécédents personnels d'adénome colorectal**

Les patients avec des adénomes de plus d'un centimètre et ceux avec des adénomes multiples ont un risque élevé de cancer du côlon (Viguier et *al.*, 2003).

- **Antécédents familiaux de carcinome colorectal**

Avoir un parent au premier degré double le risque de cancer du côlon (Viguier et *al.*, 2003).

- **Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin (MICI)**

La rectocolite hémorragique est associée à un risque de 2,5% de développer un cancer colorectal, tandis que la maladie de Crohn augmente le risque de cancer du côlon si elle est généralisée et diagnostiquée avant 30 ans (Belaiche, 2009).

- **Maladies avec des formes génétiques**

Le cancer colorectal se développe dans un contexte des maladies avec des formes génétiques dans 10% des cas, et en dites familiales autosomique dominante. Ce sont les patients qui ont une prédisposition héréditaire, à savoir : La Polypose adénomateuse Familiale (PAF), Cancer colorectal héréditaire sans polypose ou syndrome de lynch (HNPCC) et polypose non adénomateuses ou hamartomateuses (Viguier et *al.*, 2003).

➤ **Habitude de vie**

Le cancer du côlon et du rectum est étroitement lié au mode de vie. La consommation d'aliments riches en graisses animales, en cholestérol et pauvres en fibres végétales est un facteur de risque en plus de la consommation des boissons alcoolisées, du tabagisme et même de la prise de poids en stimulant la prolifération des en revanche, la consommation de légumes, de fibres et de calcium réduit le risque d'infection (Parkin et *al.*, 1992) .

4. Etapes de progression tumorale dans le CCR

L'évolution des cellules épithéliales normales en adénome bénin puis en cancer colorectal suit un processus multi-étapes impliquant des altérations génétiques et épigénétiques (Fearon et Vogelstein, 1990), sur le plan moléculaire le développement d'un CCR correspond à l'accumulation progressive de mutation des gènes au sein du noyau des cellules épithéliales coliques, l'activation d'oncogène et l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs (figure 3) (Morere et Mitry, 2010).

Morphologiquement, la première étape du développement du CCR est l'apparition d'une hyperprolifération cellulaire à la surface de l'épithélium colique ou rectal, cette anomalie de la muqueuse colique reflète un aspect agrandi et déformé des cryptes appelées FCA (foyers de cryptes atypiques) (Heresbach et N. Heresbach L, 2003). Ces FCA existent sous la forme d'une hyperplasie. Dans la plupart des cas, le CCR résulte d'un adénome dégénératif. La prévalence des polypes adénomateux augmente avec l'âge et atteint 30% des sujets plus de 65 ans (Winawer et *al.*, 2007).

Avec le temps, certains types d'adénomes ou de polypes adénomateux peuvent se transformer en cancer. Le développement de l'adénome est d'abord superficiel au sein de l'épithélium puis au sein de la muqueuse sans traverser la lame basale et c'est le stade précoce du cancer (*in situ*). Le carcinome invasif survient dans les lésions qui rompent la lame basale et s'étendent au-delà de la muqueuse musculaire, puis le cancer s'infiltré progressivement profondément dans les différentes parois du côlon ou du rectum et se propage aux ganglions lymphatiques puis à distance.



Figure 3 : Séries typiques de mutations acquises au cours du développement d'un CCR (Parham, 2003).

5. Stades et classification des CCR

C'est une façon de décrire et de classer le cancer selon l'étendue de la maladie dans le corps. Il existe trois systèmes, la classification TNM et de Duke, astler collar, mais le système TNM est considéré comme le plus largement utilisé.

5.1. Classification de TNM

Le système de classification des cancers colorectal TNM (tumeur/ nœud/ métastase) est un système qui décrit l'étendue d'une tumeur maligne à un moment et à un organe spécifiques. Ce système a été développé par des experts de l'Union internationale contre le cancer et de l'American Joint Commission on Cancer, et ce système dépend des résultats de l'examen histopathologique après chirurgie (annexe I) (Edge et Compton, 2010), et il dépend de trois critères pour mesurer l'étendue d'un CCR :

Partie théorique

- Taille de la tumeur primitive.
- La présence ou non de métastases.
- Le nombre et l'emplacement des ganglions lymphatiques régionaux qui contiennent des cellules cancéreuses.

Cette Classification TNM permet de définir plusieurs stades allant de I à IV (annexe II) (figure.4) dont la prise en charge et le pronostic diffèrent.

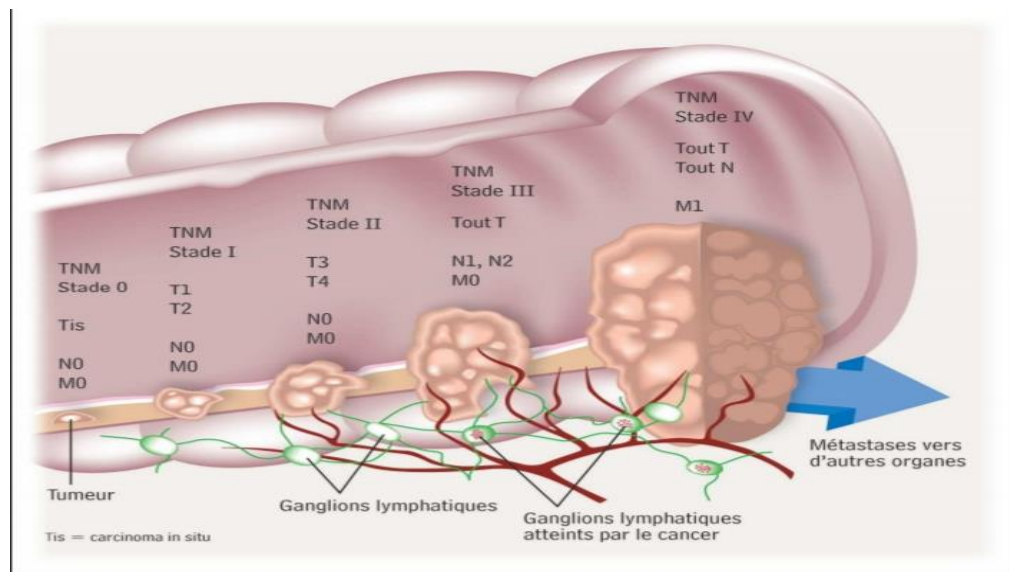


Figure 4 : Schéma montrant les cinq stades par lesquels peut passer un cancer colorectal (Aleksandrowicz, 2016).

III. Carcinogénèse

La transformation d'une cellule épithéliale colique normale en une cellule cancéreuse peut être associée à l'accumulation séquentielle de mutations actives d'oncogènes (action positive sur la prolifération cellulaire) et à l'inactivation de mutations de gènes suppresseurs de tumeurs (effet négatif sur la prolifération cellulaire) (figure 5) (Binder-foucard et *al.*, 2013). Les CCR peuvent provenir d'un ou Combinaison de trois mécanismes différents (Parkin et *al.*, 1992).

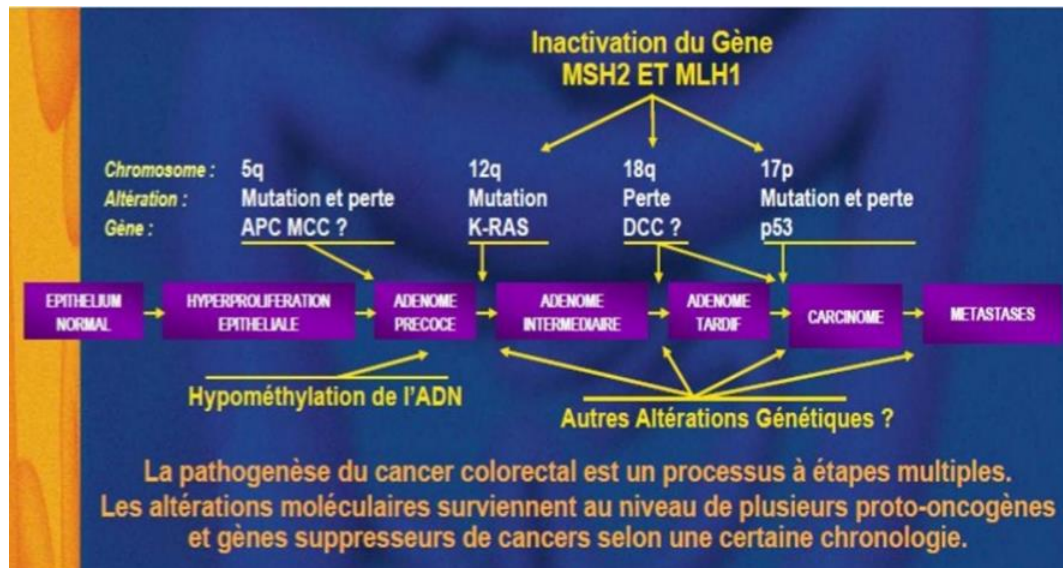


Figure 5 : carcinogenèse colorectale (Fearon et Vogelstein, 1990).

1. Instabilité chromosomique (phénotype CIN)

Les CIN représentent environ 80 à 85% des CCR sporadiques (Tariq et Ghias, 2016). Du point de vue moléculaire, lors des phénomènes de mitoses, ces types du cancer sont caractérisés par des pertes alléliques fréquentes, une aneuploïdie des cellules tumorales, ainsi que de nombreuses mutations inactivatrices des gènes suppresseurs de tumeur ou activatrices d'oncogènes. La voie CIN classique se caractérise ainsi par une accumulation de mutations en cascade. Elle commence par l'inactivation du gène *APC* (*Adenomatous Polyposis Coli*) (5q21), Cette mutation parfois peut être germinale et est alors responsable de la PAF qui est une des causes les plus fréquentes de CCR héréditaires, suivie par la mutation secondaire de l'oncogène KRAS qui favorisera la progression tumorale, et de l'inactivation du gène suppresseurs de tumeur TP53 (Fearon et Vogelstein, 1990 ; Gryfe et al., 1997).

- Altérations du chromosome 5q (APC)
- Altérations du chromosome 18q (DCC)
- Altérations du chromosome 17p (Tp53)
- Altérations du proto-oncogènes k-ras (12p12.1)

2. Instabilité génétique (phénotype MSI)

L'instabilité microsatellitaire (*microsatellite instability* ou MSI) est caractérisée par un nombre important de mutations dans les séquences des microsatellites (séquences d'ADN formées par la répétition continue de 1 à 4 nucléotides). La MSI est observée dans environ 15% des CCRs ; avec 12% retrouvées dans les cancers sporadique et 3% des MSI associées

Partie théorique

au syndrome de Lynch. La MSI est causée par une déficience du système MMR, ce système est constitué d'une famille d'enzymes qui détectent et réparent les erreurs de réplication de l'ADN en phase S. Ainsi les mutations dans les gènes *MMR* touchent 85% les gènes *MSH2* ou *MLH1*, <5% *PMS1* et *PMS2* et environ 10% *MSH6*. Ces mutations conduisent à un phénotype MSI (opposé au phénotype MSS ou microsatellite stable). L'absence de l'une des protéines MMR conduit à la perte totale de l'activité MMR (Boland et Goel, 2010). Donc lors de la réplication de l'ADN L'inactivation du système MMR empêche la correction des erreurs, ce qui est à l'origine d'un phénotype mutateur (favorisant la survenue d'éléments oncologiques ultérieurs) (Olschwang et al., 1997).

3. Modification épigénétique

Les modifications épigénétiques sont des changements dans l'expression des gènes, mais il ne provoque pas de modification de la séquence d'ADN et sont transmissibles au cours de la mitose et de la méiose (Wollfe et Matzke, 1999). et il a été démontré que les modifications épigénétiques de la chromatine ou des composants de la chromatine dans les régions promotrices des suppresseurs de tumeurs et des oncogènes jouant un rôle majeur dans la pathogenèse du CCR (Bardhan et Liu, 2013).

Deux événements majeurs et indépendants semblent être étroitement liés et impliqués dans la tumorigenèse ; hypométhylation et hyperméthylation.

3.1. Hypométhylation

Joue un rôle important dans le cancer car ils activent des gènes impliqués dans l'invasion et le processus métastatique. Par rapport à des cellules normales, L'hypométhylation du génome de cellules cancéreuses est caractérisée par une baisse de 20 à 60% de la teneur en 5-méthylcytosine. Entraînants :

- Une activation d'éléments transposables (*LINE*, *SINE* : est une séquence d'ADN capable de se déplacer et de se multiplier de manière autonome dans un génome) responsable d'une instabilité génomique.
- Une augmentation des recombinaisons homologues responsables d'un taux plus élevé de mutations par réarrangements génique.
- Une activation d'oncogènes.

Partie théorique

3.2. Hyperméthylation

Elle se produit au niveau des îlots CpG (figure 6) située au niveau des promoteurs qui ont un mécanisme épigénétique mutagène qui conduit à l'arrêt d'une fonction génétique responsable de l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs. La fréquence de ces événements épigénétiques varie selon les types de tumeurs. À savoir que les fréquences des taux élevés ont été trouvées dans les tumeurs colorectales (Torrisoni et Lopez, 2003 ; Morere et Mitry, 2010).

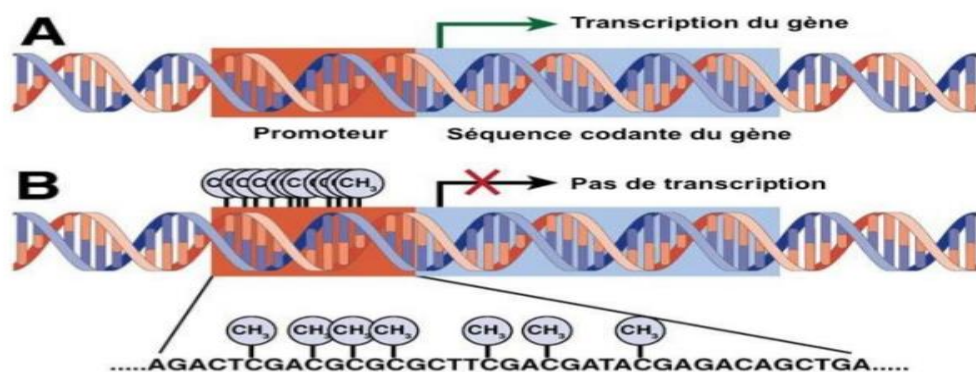


Figure 6 : mécanisme d'inactivation de la transcription

(Leggett et Whitehall, 2010).

IV. Formes héréditaire du cancer colorectal

Les CCR sont sporadiques dans 70% des cas, alors qu'entre 3% à 5% des cas sont d'origine héréditaire très pénétrante, et jusqu'à 25 % des patients ont des antécédents familiaux (Bure, 2007 ; Yamagishi et *al.*, 2016) (Figure 7). Les CCR surviennent dans le cadre de syndrome héréditaire, sont à transmission à la descendance de la mutation dans les cellules germinales, notamment le syndrome de Lynch, la polypose adénomateuse familiale, la polypose liée à MUTYH et certaines affections de polypose hamartomateuse.

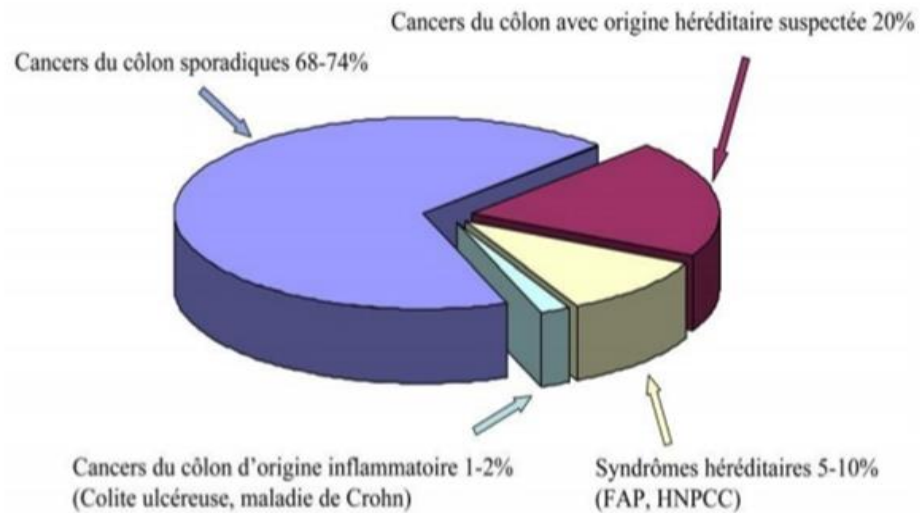


Figure 7 : Répartitions des différents types du cancer du côlon (Weitz et *al.*, 2005).

➤ Formes polyposiques

1. Polypose adénomateuse familiale (PAF)

La PAF est une maladie génétique à transmission autosomique dominante à forte pénétrance causée par des mutations germinales du gène *APC*, elle représente 80% des polyposes, mais responsable de moins de 1% des cas de CCR avec une fréquence de 1 individu sur 1000 (Jaspersen et *al.*, 2010).

La PAF se manifeste par la formation de plusieurs centaines de polypes (présence de 100 à 1000 polypes) au niveau du côlon et du rectum à un âge beaucoup plus jeune que pour les patients ayant une tumeur sporadique, ces polypes grossissant petit à petit pour se transformer en cancers malins (Haffen, 2012).

La PAF se divise en deux syndrome, classique et la AAPC (*Attenuated Adenomatous Polyposis Coli*) (Lynch et *al.*, 1995). Cette dernière est une section de la PAF qui ne représente qu'une minorité des patients (Knudsen et *al.*, 2003), environ 10% des PAF (Vasen, 2000). Ce type est caractérisé par la présence d'un nombre faible de polypes, moins de 100.

Le gène *APC* est un gène suppresseur de tumeur, situé sur le locus 5q21-22 et composé de 15 exons sur une région de 8532 pb, codant pour une protéine de 2843 acide aminé, (Macrae et *al.*, 2009). L'inactivation de ce gène intervient dans 100% des cas de cancers héréditaires de type PAF et dans 70 à 80% des cancers sporadiques.

Partie théorique

Cependant jusqu'à 25% des cas de PAF sont dus à des mutations *de novo* dans les cellules germinales donc ils ne sont pas hérités (Galiatsatos et Foulkes, 2006).

2. Polypose lié à MUTYH

La MAP (*MUTYH Associated Polyposis*) est une maladie génétique à transmission autosomique récessive avec une forte pénétrance et probablement complète dans le cas où les mutations causales sont bi-alléliques. Elle est causée par une mutation constitutionnelle des deux allèles du gène *MUTYH*, elle représente de 0.5 à 1% de la totalité des CCR et 7% des polypes adénomateux atténués et de 6,6% des cas de polypose classique (Guarinos et al., 2014).

Le gène *MUTYH* situé sur le chromosome 1 entre les bandes p34.3 et p32.1, s'étend sur 11,2 kb, il compose de 16 exons (Slupska et al., 1996).

La mutation est une transversion, G-C en T-A. Ces transversions modifient alors l'expression de gène *APC* et du gène *Kras*. La transmission de la maladie est récessive donc seulement les personnes ayant les deux gènes mutés ont la maladie. Les parents porteur du gène morbide sont sains mais en peuvent avoir des enfants malades (1/4).

➤ Formes non polyposiques « Syndrome de lynch »

1. Incidence, découverte et historique

Le syndrome de lynch ou syndrome « HNPCC » (*hereditary non-polyposis colorectal cancer*) est la forme la plus fréquente de prédisposition héréditaire au CCR il représente 2 à 4% de tous les cancers colorectaux (Hampel et al., 2008), dû à des mutations germinales affectant les gènes du système de réparation des mésappariements (MMR) avec un mode de transmission autosomique dominant ce qui veut dire que la présence d'un seul allèle muté de ces gènes développe un phénotype malade (Lynch et al., 1966). La prévalence de SL est de 1/1800-1/1000 dans la population générale (Boland, 2006). Ce syndrome HNPCC initialement décrit en 1913 par Warthin, puis complété en 1966 par Lynch (Lynch et al., 1966) correspond aux critères d'Amsterdam qui rapportés en 1990 par le consortium international sur le syndrome HNPCC (Vasen et al., 1991) puis sont modifiés en 1998 (Vasen et al., 1999). La découverte d'un SL ne peut être liée qu'à un dépistage génétique en coordination avec l'étude de l'histoire de la maladie dans la famille.

Partie théorique

2. Caractéristiques cliniques

Parmi les caractéristiques du SL, l'apparition du cancer à un âge précoce dans 80% des cas avant l'âge de 50 ans (Davidson, 2007 ; Lynch et *al.*, 2008). La localisation du cancer colorectal dans ce syndrome a tendance à être proximale dont 70% des cas dans le caecum, le côlon transverse avec une prédominance du côlon droit.

La transformation d'une tumeur bénigne en adénocarcinome survient dans un délai compris entre 2 à 3 ans, cela indique que la coloscopie doit être réalisée tous les deux ans (Jass, 1995 ; Lynch et Chapelle, 1999).

2.1. Variété clinique

Cliniquement ont été définis deux types de SL, sont :

- Type I : sont les malades qui présentent des tumeurs localisées dans le spectre étroit, les cancers de ce type sont : le cancer colorectal (Rustgi, 2007), de l'endomètre (Peltomäki, 2016), les cancers des voies urinaires excrétrices (Win et *al.*, 2012 ; Engel et *al.*, 2012) et les adénocarcinomes de l'intestin grêle (Watson et *al.*, 2008).
- Type II : sont les malades associés à une augmentation significative du risque d'autres types tumoraux (spectre large): de l'ovaire (Rustgi, 2007), de l'estomac (Peltomäki, 2016), du sein (Arvelo et *al.*, 2015), du pancréas (Niskakoski et *al.*, 2013), de la prostate (Peltomäki, 2016), des reins et les voies biliaires (Watson et *al.*, 2008), et les glioblastomes (Win et *al.*, 2012 ; Engel et *al.*, 2012).

2.2. Critères d'Amsterdam et de Bethesda

Pour qualifier le risque de syndrome de Lynch ont été développés plusieurs systèmes de classification clinique reposant sur les antécédents familiaux et personnels, Les critères d'Amsterdam I et II et les critères de Bethesda révisés qui sont développés pour améliorer la sensibilité des critères d'Amsterdam.

Les critères d'Amsterdam définissent cliniquement le SL selon trois critères : nombre, apparenté et l'âge. Ces critères ont été adoptées en 1991 à Amsterdam « I » (Vasen et *al.*, 1991). Puis ces critères d'Amsterdam I ont été élargis et revus en 1999 « II » par ce que les patients répondant à ces critères strictes semblant également exposés a un risque élevé de développer d'autres cancers (Vasen et *al.*, 1999) (Annexe III). Le degré de la sensibilité pour les critères d'Amsterdam I a été évalué à 61%, et 72% pour les critères d'Amsterdam II.

Partie théorique

Environ la moitié des familles présentant un syndrome de Lynch ne répondent pas aux critères d'Amsterdam.

Les critères de Bethesda énoncés en 1997 (Rodriguez-Bigas et *al.*, 1997), puis révisés en 2004 (Umar et *al.*, 2004). Ces critères permettent d'obtenir une sensibilité pouvant atteindre 98 % (annexe IV) (Carneiro da Silva et *al.*, 2015).

Néanmoins, au sein des familles qui valident les critères de Bethesda sans valider les critères d'Amsterdam, une mutation d'un gène *MMR* n'est identifiée que dans 15 - 30% des cas (Moslein et *al.*, 1996 ; Lynch et de la Chapelle, 1999).

3. Génétiques et mécanismes moléculaire de syndrome de lynch

3.1. Système MMR

Lors de la réplication de l'ADN, l'ADN polymérase fait parfois un très faible taux d'erreur de réplication (toutes les 10⁴ à 10⁵ pb). Cela conduit à une incorporation incorrecte de nucléotides dans le brin d'ADN complexe, à l'opposé du brin matrice. Il en résulte un décalage et ce défaut doit être corrigé pour éviter que la mutation ne soit transmise aux générations suivantes.

Le système d'ADN MMR assume une responsabilité majeure dans la protection de l'intégrité du génome (Lynch et *al.*, 2015). Le MMR contribue 1000 fois à la précision globale de la réplication de l'ADN, en ciblant les bases incompatibles et les boucles d'insertion et de suppression qui se produisent pendant la réplication, la recombinaison homologue ou à la suite de dommages à l'ADN (Lynch et *al.*, 2015).

La perte de cette fonction MMR normale conduit à l'instabilité des microsatellites (MSI), Jusqu'à 30% des cas de CCR sont associés à des antécédents familiaux (de la Chapelle, 2004).

• Les mécanismes du système MMR

Le MMR commence par la reconnaissance du mésappariement sur le brin d'ADN par l'un des complexes hétérogènes *MSH2-MSH6 (MutSa)*, qui reconnaît les mésappariements de bases et les boucles d'insertion-délétion, ou *MSH2-MSH3 (MutSb)*, qui ne reconnaît que les boucles d'insertion et de suppression (Modrich, 2006). Un deuxième complexe protéique, *MLH1-PMS2 (MutLa)*, se lie à *MutSa* ou *MutSb* et recrute des protéines supplémentaires nécessaires la réparation, telles que HEX1 (Exo1), PCNA, RPA et Pold (figure 8) (Jacob et Praz, 2002).

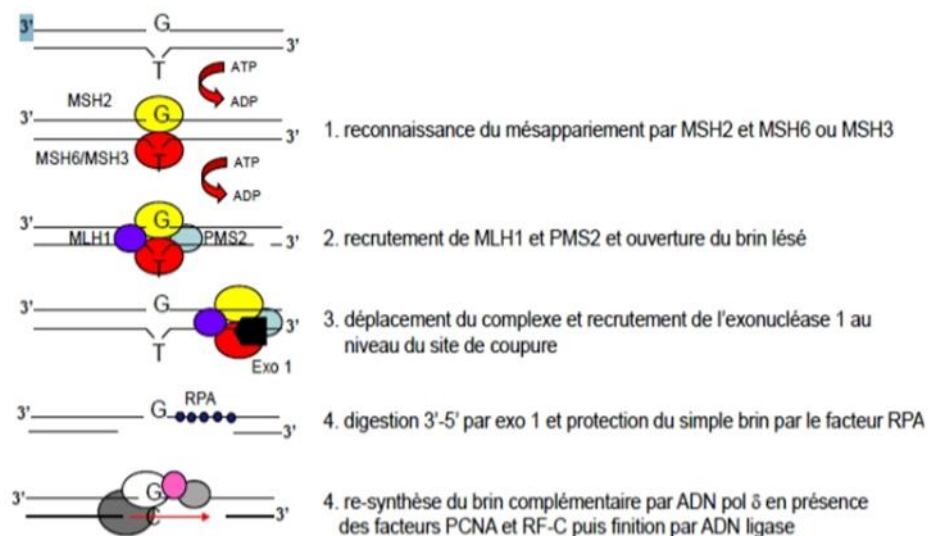


Figure 8 : Schéma du mécanisme de correction des mésappariement de l'ADN par le système MMR (Jacob et Praz, 2002).

3.2. Gènes *MMR*

Les principaux gènes impliqués dans le MMR sont : *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* et *PMS2*.

Plusieurs altérations génétiques ont été identifiées sous la forme de polymorphismes nucléotidiques simples (SNP) dans les gènes MMR, mais la fonction de ces polymorphismes est largement inconnue. Des altérations dans les gènes MMR peuvent avoir des effets différents sur le phénotype tumoral, selon l'endroit où la modification est localisée dans le gène. De plus, ces altérations courantes fausses-sens des gènes MMR peuvent ne pas être suffisamment pathogènes pour induire un CCR individuel, mais peuvent affecter les niveaux d'expression génique requis par des types cellulaires spécifiques pour exécuter une fonction normale (Fodde et Smits, 2002).

❖ Gène *MLH1*

Le gène *MLH1* est localisé au niveau du bras court du chromosome 3 (3p22.3) (figure 9), il code pour une protéine de 84KDa qui comprend 756 AA et composé de 19 exon sur une région de 57360 pb (figure 10).

Partie théorique

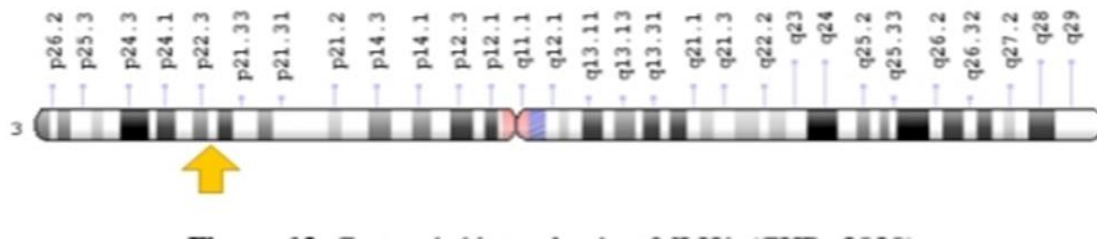


Figure 9 : Carte génétique du gène *MLH1*

(<https://ghr.nlm.nih.gov/gene/MLH1#location>)

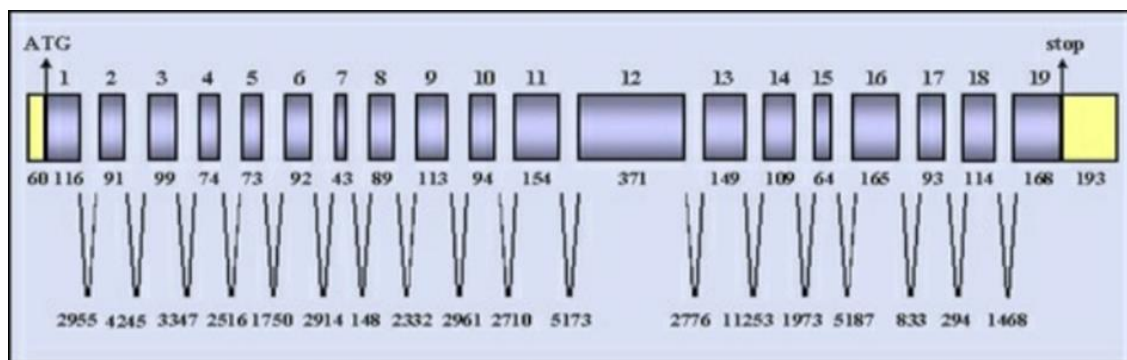


Figure 10 : les exons et les introns du gène *MLH1*

(<https://ghr.nlm.nih.gov/gene/MLH1#location>)

La protéine MLH1 se compose de domaines hautement conservés essentiels à la fonction de coordination du système MMR, notamment le domaine ATPase, un domaine de liaison pour les homologues de MutS (MSH2 et MSH6), ainsi qu'un domaine d'interaction avec la protéine partenaire composant MutL (PMS2 ou MLH3) (figure 11).

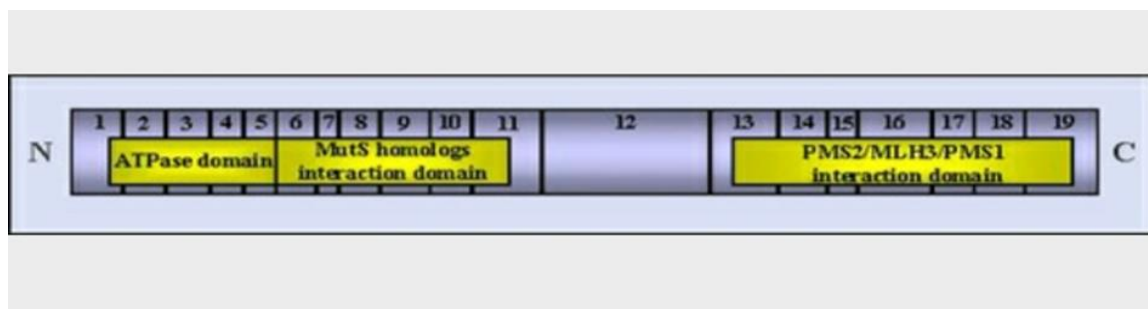


Figure 11 : carte génétique de protéine *MLH1*

(<https://ghr.nlm.nih.gov/gene/MLH1#location>)

Partie théorique

❖ Gène *MSH2*

Le gène *MSH2* est localisé sur le brin court du chromosome 2 en position (p22-p21), il code pour une protéine de 10 KDa constituée de 934 AA et comprend 16 exons s'étendant sur 80098 pb (figure 12).

Comme la protéine MLH1, les domaines fonctionnels de la protéine MSH2 sont également constitués d'un domaine ATPase, un domaine de liaison aux homologues MutL (PMS2 et MLH1), et un domaine d'interaction avec la protéine partenaire constituant le MutS (MSH3 ou MSH6), également cette protéine consiste en un domaine d'interaction avec l'ADN qui est impliqué dans la reconnaissance des mésappariements.

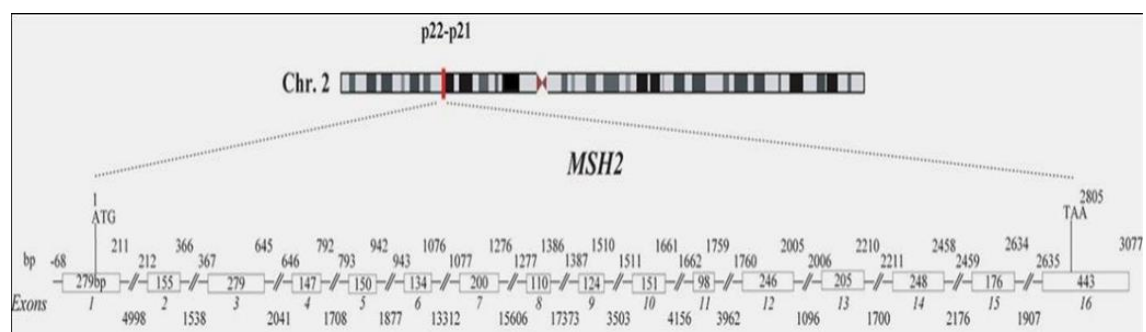


Figure 12 : Représentation schématique du gène *MSH2*

(<http://www.med.mun.ca/MMRvariants/thegenes.aspx>)

❖ Gènes *MSH6*

Le gène *MSH6* localisé sur le brin court du chromosome 2 en position (2p16), il comprend 10 exons constitué de 1360 AA (figure 13). La protéine MSH6 constituée d'un domaine ATPase et un domaine de liaison à la PNCA, un domaine de liaison aux mésappariements et également un domaine d'interaction avec la protéine MSH2.

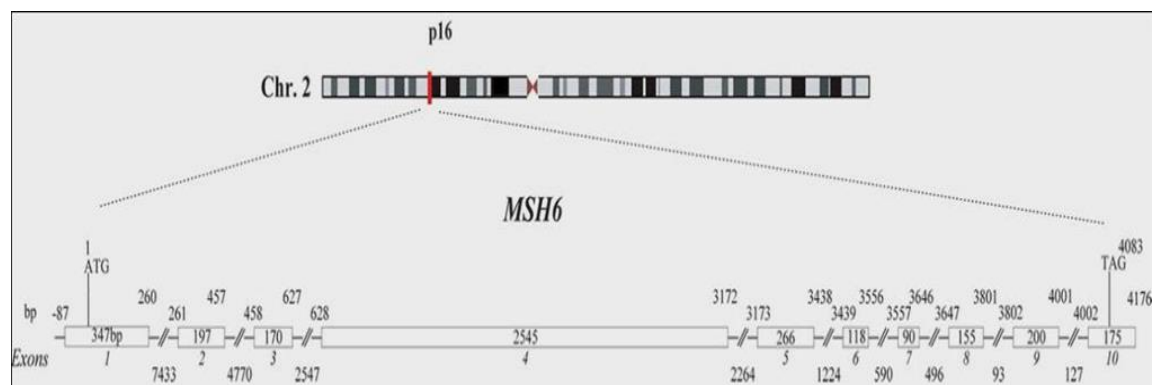


Figure 13 : Représentation schématique du gène *MSH6*

(<http://www.med.mun.ca/MMRvariants/thegenes.aspx>)

Partie théorique

❖ Gène *PMS2*

Le gène *PMS2* localisé sur le brin court du chromosome 7 en position (7p22), il comprend 15 exons codant pour une protéine de 862 AA (figure 14). Ce gène comprend de nombreux pseudo-gènes.

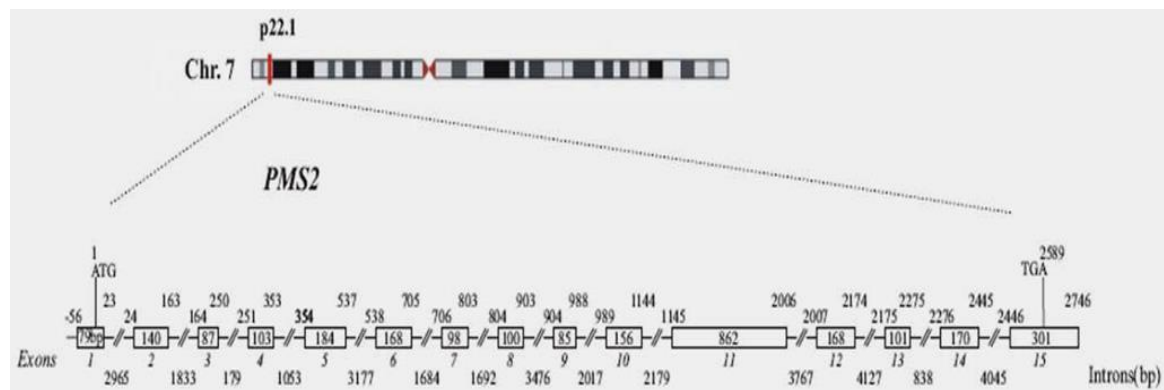


Figure 14 : Représentation schématique du gène *PMS2*

(<http://www.med.mun.ca/MMRvariants/thegenes.aspx>)

❖ Gène *PMS1*

Le gène *PMS1* localisé sur le brin long du chromosome 2 en position (2q32.2), il est composé de 13 exons sur une région de 93056 pb et codant pour une protéine de 932 acides aminés.

3.3. Mutations germinales dans les gènes MMR

Dans les gènes *MMR*, 3000 mutations germinales ont été associées au syndrome de Lynch dont *MLH1* (40%), *MSH2* (34%), *MSH6* (18%) et *PMS2* (8%) (Peltomäki, 2016).

Les mutations des gènes *MMR* sont distribuées dans tout le gène ce qui exclut la présence de certains points chauds. Ces mutations sont principalement des mutations ponctuelles, des réarrangements de grande taille et plus rarement d'épimutations.

Les différents types de mutations par gène (figure 15).

La plupart des mutations sur les gènes *MLH1*, *MSH2* et *MSH6* sont de type tronquant (essentiellement non-sens ou des mutations de décalage du cadre de lecture).

Des grands réarrangements génomiques, affectent les gènes *MLH*, *MSH2*, *MSH6* et *PMS2*, ont été observés dans 15% des cas révélés par des analyses de SL (Klift et al., 2005).

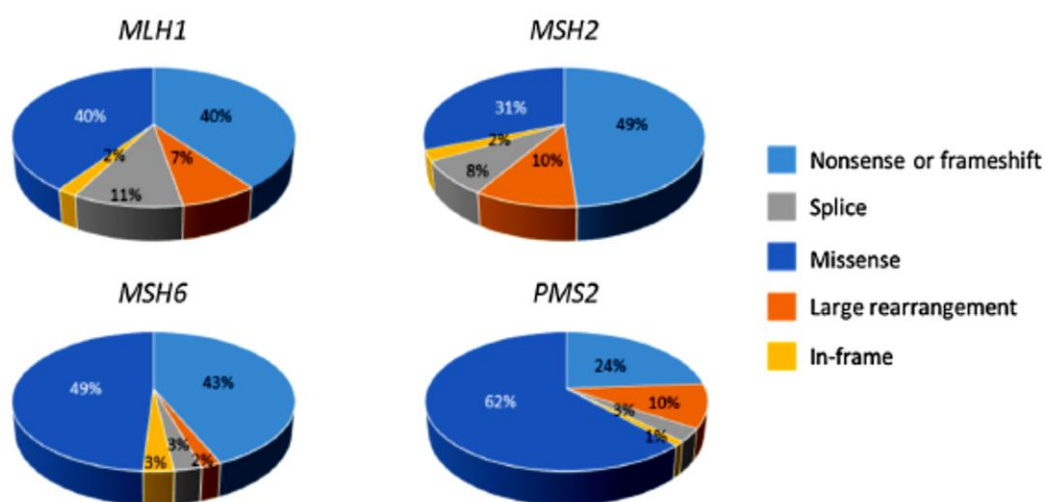


Figure 15 : Répartition des mutations des gènes MMR dans le syndrome de Lynch. D'après les analyses déposées à la base de données InSiGHT (Plazzer et al., 2013). Le nombre total de variants par gène inclus dans l'analyse sont 1104 *MLH1*, 883 pour *MSH2*, 414 pour *MSH6* et 197 *PMS2*.

3.3.1. Mutations germinales dans le gène *MLH1*

Les mutations germinales de ce gène représentent 40% de toutes les mutations dans le système MMR (Peltomäki, 2016). Des mutations constitutionnelles de ce gène sont responsables du syndrome HNPCC (Dunlop et al., 1997). Dans les cas de CCR sporadique, ce gène est inactivé par l'hyperméthylation de son promoteur dans 10 à 50% des cas, 40% des mutations non-sens et 40 % faux-sens, 7% de réarrangements génomique (figure 16) (Esteller et Herman, 2004 ; Iacopetta et al., 2006). La plupart de ces mutations sont de type tronquant.

L'hyperméthylation du promoteur de *MLH1* est associée au phénotype et à la mutation V600E de l'oncoprotéine BRAF (Weisenberger et al., 2006).

La méthylation constitutionnelle du promoteur *MLH1* est généralement sporadique et non héréditaire, mais certains cas ont des réarrangements chromosomiques héréditaires qui provoquent la méthylation du promoteur *MLH1*, en impliquant le gène *LRRFIP2* (Hampel et al., 2005).

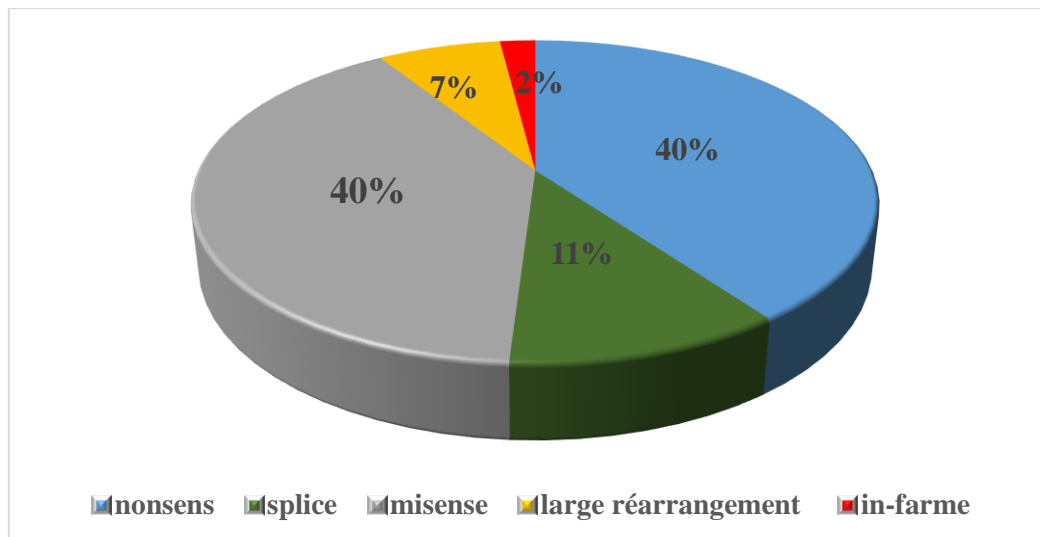


Figure 16 : Répartition des mutations du gène *MLH1* dans le syndrome de Lynch

(Plazzer et al., 2013).

3.4. Polymorphismes et variant des gènes MMR impliqués

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

3.4.1. Polymorphisme c. -93G<A (rs1800734)

Environ 50% des malades atteints du SL portent plusieurs centaines de gènes *MLH1* mutés ce qui va conduire à un fonctionnement incorrect de la protéine *MLH1* produite par le gène *MLH1*. Ce dysfonctionnement est traduit par une hyperméthylation des îlots CpG du promoteur *MLH1* et cela va considérablement réduire la fonction primaire qui est de réparer les mésappariement, ce qui va conduire au développement de cancers et d'après cela l'apparition du SL (Whifn et al., 2011).

MLH1 -93G> A (rs1800734) est un polymorphisme (du grec « poly » plusieurs et « morphe » forme) localisé dans le noyau promoteur de gène *MLH1*, 93 bases en amont du site de démarrage de la transcription dans une région requise pour une activité transcriptionnelle maximale (Ito et al., 1999 ; Arita et al., 2003). La variation polymorphe dans cette région devrait affecter l'expression de la protéine. En effet, la mutagenèse dirigée de résidu adénine 2 bases en aval du polymorphisme -93G>A en position 91 qui va réduire l'activité du promoteur à 75% (Arita et al., 2003). Ce polymorphisme produit fréquemment une hyperméthylation qui affecte la propension du promoteur du gène qui va réduire au silence transcriptionnel d'une manière spécifique à l'allèle. Plusieurs chercheurs comme Chen et ses

Partie théorique

collègues ont signalé une association entre l'allèle *MLH1* -93A et la méthylation du promoteur *MLH1* dans certains cancers comme le CCR et le cancer de l'endomètre (Chen et al., 2007), et le risque élevé de leucémie myéloïde aiguë induit par le traitement (t-AML) (Worrillow et al., 2008).

L'identification d'allèles commune à faible pénétrance est importante pour comprendre l'étiologie du CCR non familial qui est responsable de la majorité des maladies dans la population générale, et pourrait suggérer d'événement d'intervention préventive ou thérapeutique.

3.4.2. Association polymorphisme rs1800734 et CCR

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

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

Il existe une association entre l'allèle de risque rs1800734 et :

- la méthylation de l'ADN au niveau du *MLH1* promoteur dans les cancers (Miyakura et al., 2014).
- méthylation des îles CpG dans les tissus normaux (Savio et al., 2012). Egalement, la liaison du facteur de transcription TFAP4 (AP-4) est modifiée par rs1800734 (Savio et al., 2017) in vitro et in vivo. Cependant, Liu et al. 13 n'ont détecté aucune différence dans l'expression spécifique de l'allèle *MLH1* en raison du biais allélique TFAP4. Au lieu de cela, ils ont montré un effet sur l'expression du gène codant pour la protéine kinase DCLK3 et les interactions à longue distance de la chromatine entre rs1800734 et le promoteur DCLK3.

Partie théorique

La perte et le gain de méthylation sont modifiés par l'allèle rs1800734 avec des effets en aval sur l'expression de l'ARNm et la liaison TFAP4.

3.4.3. Association polymorphisme rs1800734 et autres cancers

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

4. Stratégies de diagnostic de syndrome de lynch

En cas d'absence d'un phénotype du syndrome de lynch clairement identifiable, Pour effectuer le diagnostic de certitude du SL plusieurs outils sont décrits.

Les sociétés savantes ont développé des critères cliniques à la sensibilité variable : Amsterdam I puis II et Bethesda I et II, des modèles statistiques (Roumeguère, 2006), Également deux tests sont disponibles pour bénéficier rapidement d'arguments en faveur du diagnostic (figure 17) :

La recherche d'instabilité des microsatellites par PCR et le marquage immunohistochimique (IHC).

- parmi les SL, Environ 90% ont un phénotype MSI mais également 15% des CCR sporadiques en raison d'une méthylation acquise du promoteur d'h*MLH1* (Cancers MSI+/CIMP+) (Cambier, 2012).

- L'IHC est utilisée contre les 4 principales protéines dont l'expression peut disparaître en cas de mutation, 4 anticorps dirigé (Lyonnet, 2009).

L'IHC a l'avantage de diriger la recherche sur le gène muté par rapport au phénotype MSI.

En effet, le séquençage génétique avec identification de la mutation germinale reste le seul test de certitude.

Partie théorique

Actuellement, Les recommandations sont de fournir une consultation d'oncogénétique dans les cas :

- Personnes ayant deux parents atteints par un cancer du spectre dont un avant l'âge de 50 ans.
- Malades ayant un antécédent personnel de cancer du spectre HNPCC.
- patient de moins de 40 ans.
- Présence d'une instabilité microsatéllitaire moléculaire chez un patient de moins de 60 ans ou quel que soit l'âge en cas d'antécédent au 1er degré d'un cancer du spectre HNPCC.

La recherche d'un phénotype MSI sur la pièce tumorale est indiquée :

- Patient de moins de 70 ans atteint par un cancer du spectre HNPCC.
- Patient ayant un antécédent familial au premier degré de cancer de spectre HNPCC.

Afin de ne manquer aucun patient avec un SL, la perte d'expression des protéines en IHC ou l'extension des indications de recherche du phénotype MSI, doit en effet être la plus large possible (Lyonnet, 2009).

- Tests génétique : les modèles prédictifs peuvent être utilisés pour estimer le risque de mutation MMR lorsqu'un spécimen tumoral est non valable chez des sujets non affectés de CCR ou pour des tests moléculaires. En l'absence de ces moyens ou si l'on procède directement aux tests génétiques, où commencer par la recherche des mutations *MLH1* et *MSH2*. Si sont négatives, il convient de compléter par la recherche des mutations *MSH6* et *PMS2*.

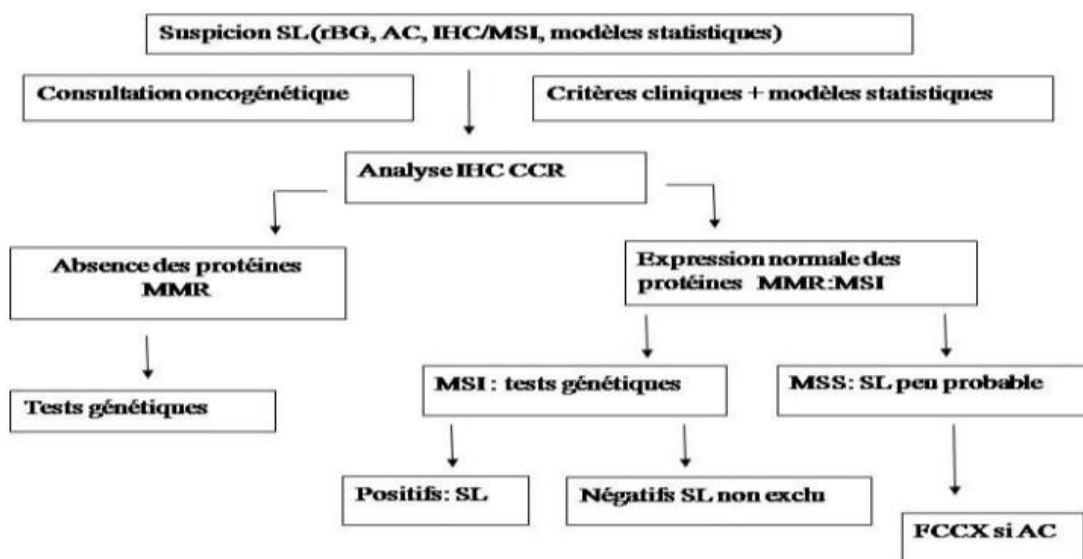


Figure 17 : stratégie diagnostique en cas de suspicion de syndrome de lynch

(Ferlay et al., 2002).

SL : syndrome de lynch / **RBG** : critères de bethesda révisés / **AC** : critères d'amsterdam / **IHC** : immunohistochimie / **CCR** : cancer colorectal / **MSI** : instabilité microsatellitaire / **MSS** : stabilité microsatellitaire / **FCCX** : cancer colorectal familial type X.

5. Prise en charge de syndrome de lynch

L'identification d'un syndrome de lynch a un impact significatif sur le suivi à long terme des patients et permet l'examen des proches.

• Surveillance

Une surveillance planifiée est nécessaire pour Les patients ayant un syndrome de Lynch avant de voir un tumeur néoplasique et pour la réduire de la mortalité des CCR. À partir de l'âge 20 à 25 ans une surveillance coloscopie régulière tous les 2 Ans (Byrne et Tsikitis, 2018). À partir de l'âge de 30 ans de plus, le dépistage du cancer de l'endomètre nécessite des biopsies endométriales sont recommandés et un examen avec échographie pelvienne, un dosage de CA-125 de façon annuelle (Balmana et al., 2013).

• Traitement chirurgical

La chirurgie colorectale est importante pour la réduire du risque de CCR, par la colectomie totale.

• Chimio prophylaxie

La chimio prophylaxie à côté du traitement chirurgical réduit du risque de CCR.

La partie pratique

Patients et méthodes

Patients et Méthodes

1. Patients

L'étude que nous avons entreprise est descriptive. Son principal objectif est la recherche d'une mutation constitutionnelle mais également le polymorphisme -93G<A (rs1800734) sur le gène de réparation de l'ADN (MMR), *MLH1* chez 16 familles suspectées d'avoir un Cancer colorectal de type Syndrome de Lynch.

1.1. Recrutement des sujets

Le recrutement des cas intéressants pour notre étude a concerné 16 patients des deux sexes, cas index appartenant à 16 familles non apparentées habitant l'Est algérien.

Les patients sont inclus à la base de la mise en évidence d'un cancer colorectal en endoscopie avec confirmation histologique. Ces patients sont admis au service d'oncologie médicale (pour chimiothérapie et/ ou radiothérapie) et au service d'enterogastrologie du CHU de Constantine.

➤ Critères d'inclusion :

Les patients retenus dans cette étude génétique ont été sélectionnés selon les critères d'Amsterdam I (1991) (Vasen et *al.*, 1991), II en (1999) (Vasen et *al.*, 1999) et ceux de Bethesda (Umar et *al.*, 2004) (Annexe III et IV). Ces critères combinent des informations individuelles et généalogiques qui définissent cliniquement un syndrome HNPCC. Puisque les critères typiques de syndrome SL sont rarement présents en pratique clinique, pour cela, ont été inclus et classés les sujets des deux sexes selon les groupes de patients :

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

1.2. Questionnaire, enquête familiale et consentement

- Le recueil des informations cliniques est réalisé à l'aide d'un questionnaire soit directement avec le patient présentant un cancer du côlon et/ou rectum ou indirectement à partir de son dossier médical.

Patients et méthodes

- Pour tous les malades, nous avons effectué une enquête familiale au travers d'un interrogatoire du patient ou l'un de ses parents. Dans laquelle on a précisé l'âge, le sexe, les antécédents familiaux et personnels du cancer colorectal, d'autres cancers, de consanguinité, d'agrégation familiale de cancer ainsi pour élaboration des arbres généalogiques les plus complets possible à partir de l'histoire familiale avec la maladie.
- Les consentements éclairés de tous les patients ont été obtenus.

1.3. Prélèvement sanguin

L'échantillon de sang préconisé pour l'étude génétique dont l'extraction de l'ADN est recueilli stérilement dans un tube de type Vacutenaire à EDTA (*anticoagulant et un inhibiteur des nucléases*) en quantité de 4 à 8ml. Les prélèvements du sang ont été réalisés au niveau du pli du coude après la pose d'un garrot.

2. Méthodes

➤ Résumé des différentes étapes méthodologiques de l'étude :

La recherche d'altérations dans l'exon 1 du gène *MLH1* a été réalisée par une *Polymerase Chain Reaction (PCR)* suivie par un séquençage pour la détection de variations ponctuelles.

L'extraction de l'ADN à partir du sang total par la méthode au NaCl :

- Conservation des ADN purifiés.
- Amplification de l'exon1 et les parties introniques adjacentes (promoteur + intron 1) de gène *MLH1* par PCR.
- Contrôle des produits de PCR de cet exon par électrophorèse sur gel d'agarose (2%).
- Séquençage Direct :
 - Purification des produits de PCR.
 - Réalisation des réactions de séquence.
 - Purification des produits de séquence.
 - Réalisation de séquençage.
 - Alignement des séquences obtenues et comparaison par rapport aux séquences de référence pour l'identification des variations retrouvées.

Patients et méthodes

2.1. Extraction de l'ADN

L'ADN est extrait à partir des leucocytes sanguins. Dans notre étude, comme technique d'extraction nous avons employé une méthode utilisant un solvant inorganique NaCl (Miller et *al.*, 1988).

L'extraction de l'ADN consiste en :

- L'isolement de leucocytes du sang total par une lyse hypotonique des globules rouges
- Le traitement par un détergent (*SDS*) et une protéinase K dans le lysat
- L'ADN nucléaire ainsi libéré est associé aux différentes protéines qui seront digérées et éliminées par précipitation au NaCl
- Le surnageant récupéré est traité par de l'éthanol pur dans lequel une pelote d'ADN se forme par précipitation
- L'ADN est solubilisé en phase aqueuse (*Tris-EDTA 10 :1*) (Annexe V Protocole).

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

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

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

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

Dans notre étude, nous avons procédé à un dosage de l'ADN et préparé une dilution de travail de 100µg/ml.

- Evaluation de la qualité d'ADN extrait

La qualité de l'ADN peut être vérifiée par un contrôle de taille des molécules d'ADN par électrophorèse sur gel d'agarose 0,8% exposé à une tension d'un courant électrique de 100 volt pendant 2h. Cette analyse permet également d'observer l'éventuelle

Patients et méthodes

dégradation de l'ADN survenue au cours de l'extraction (Bienvenu et *al.*, 1999). L'ADN génomique doit donc être manipulé en évitant toute action mécanique violente.

- Conservation des ADNs purifiés

Dans une boîte identifiée « ADN CCR » pour cancers colorectaux, les tubes d'ADN sont rangés et classés selon le numéro et la date du premier échantillon jusqu'au dernier. Ils sont conservés à + 4°C jusqu'à utilisation (moins de 6 mois).

Les dilutions de travail (100µg/ml) de notre ADN purifiés sont conservés à +4°C dans une boîte identifiée, « ADNs dilués ».

Amplification par PCR de l'exon 1 du gène *MLH1*

La technique PCR (ou encore ACP pour Amplification en Chaîne par Polymérase), est une technique de répllication ciblée *in vitro* (K.Mullis en 1985, Prix Nobel 1993).

L'amplification de séquences d'ADN à partir d'un échantillon complexe est réalisée par une série de réactions de répllication de matrice d'ADN double brin.

➤ Préparation des PCR :

- Amorces utilisées pour le gène *MLH1* :

Pour l'amplification de gène *MLH1*, les amorces que nous avons utilisé (Tableau 2) sont commandées dessalées à la concentration de 100 µM (Invitrogen, et Biomatik) .Elles sont conservées à -20°C.

Tableau 2 : Séquences des amorces et tailles d'amplimers du gène *MLH1*

Nom	Séquence 5'-3'	Taille produit (pb)
MLH1-exon1F	GGG AGG GAC GAA GAG ACC	373
MLH1-exon1R	GCC CGT TAA GTC GTA GCC	

➤ Réalisation pratique de PCR de gène *MLH1*

Le tableau 3 résume l'ensemble des compositions pour la préparation du milieu réactionnel des PCR.

Patients et méthodes

Tableau 3 : Composition du milieu réactionnel des PCR.

Produit	Conc. Finale	µl par tube
H ₂ O (<i>Eau ultrapure</i>)		10.4
Tampon 10X	1x	2.5
MgCl ₂ 25mM	1,5mM	1.5
DNTPs 10mM, 2.5 mM chaque (<i>Applied Biosystems</i>)	200µM	2
<i>Taq</i> polymerase	0,625U/µl	0,125
Am. F 5µM	0.6µM	3
Am. R 5µM	0.6µM	3
ADN 100µg/ml	250ng	2.5

Le programme sur le thermocycleur (*Ref. Applied Biosystems Gene Amp PCR System 9700*) donne la succession des étapes d'amplification (Figure 18).

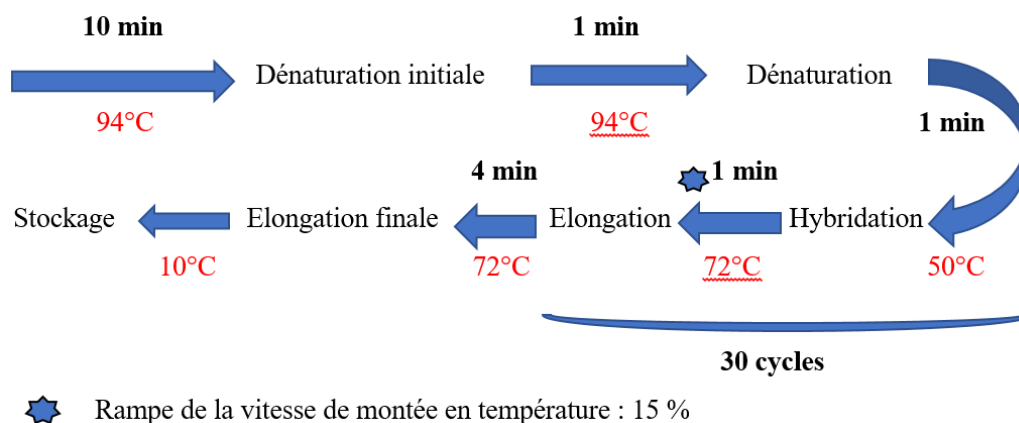


Figure 18 : Programme PCR du gène *MLH1*

- **Contrôle de la qualité et évaluation de la quantité de produits de PCR sur gel d'agarose**

Le contrôle de la qualité de l'ADN amplifié par migration se fait sur gel d'agarose à 2 % (*électrophorèse sur cuve horizontale*). La quantification de sa taille est estimée à partir de la comparaison avec un marqueur de taille de type ladder 100pb.

Patients et méthodes

- Préparation des gels d'agarose et migration

Pour 100 ml de Tris-Borate-EDTA (TBE) 1X + 2µl de Bromure d'Ethidium (BET) 10mg/ml on pese 2g d'agarose (*EUROMEDEX type D5*).

Déposés 3 µl de chaque amplicon sur le gel d'agarose + 3µl de tampon de dépôt (*Bleu de bromophénol*) par puits et 5 µl de marqueur de poids moléculaire 100 pb.

L'électrophorèse est réalisée à 120 Volts pendant 45 minutes dans du tampon TBE 1X.

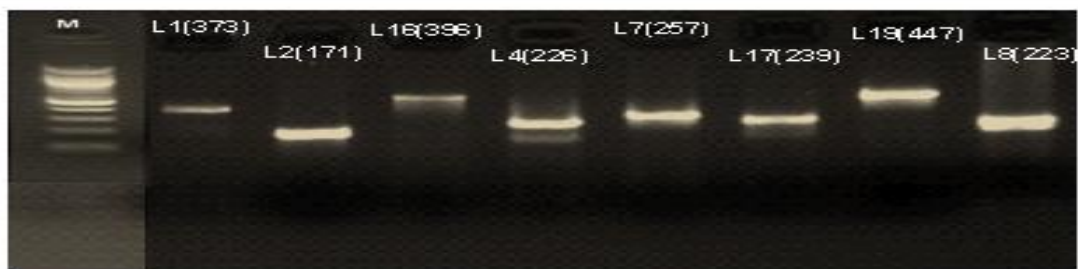


Figure 19 : Profil de migration (sur un gel d'agarose à 2%) des amplicons de l'exon1 avec d'autres exons de *MLH1*, résultats d'amplification de la plaque PCR du meme patient
(*M* :marqueur de tailles, *Ln* (taille de l'amplicon en pb ou *n* est numero de l'exon).

2.2.Purification du produit de PCR par le kit Qiagene

Un coffret de différents kits est utilisé pour purifier le produit de PCR obtenu après amplification, des excès d'amorces et de nucléotides et des sels et d'autres impuretés. Ce coffret contient des flacons de solutions (EB, PE, PB et des tubes avec colonnes) prêts à l'emploi après ajout de l'éthanol pour certains :

PE : 24 ml éthanol à ajouter

PB : 120 µl indicateur OH (rouge)

Dans le tube à colonne :

- Mettre 50 µl P de PCR centre de tube
- Ajouter 250 µl de PB
- Centrifugation 1 min à 1300 t/m
- Jeter le produit élu dans le tube
- Ajouter 750 ul de PE
- Centrifugation à 1300 t/m 30 à 60 s (Centrifugation deux fois)
- Placer la colonne dans un tube eppendorf propre de 1.5 ml + 50 ul de EB et centrifugé à 1300

La solution éluee se conserve au congélateur jusqu'à utilisation.

Patients et méthodes

Séquençage

Le séquençage des gènes consiste à déterminer l'ordre dans lequel les nucléotides sont incorporés dans une séquence d'ADN. La méthode la plus fréquemment utilisée pour ce fait a été illustrée par Fred Sanger (1970). Les nucléotides sont liés les uns aux autres par des liaisons phosphodiester qui se forment entre le groupement OH en position C3' du ribose du premier nucléotide et le groupement phosphate en position C5' du ribose du deuxième nucléotide. La méthode de séquençage de Sanger utilise des nucléotides didésoxyribonucléotides (ddNTP) qui ont un atome d'hydrogène au lieu du groupement OH sur le carbone 3' du ribose. L'allongement du brin d'ADN s'arrête donc au niveau ddNTP incorporé, d'où terminaison de la synthèse de l'ADN (Sedivcová et *al.*, 2013). Ces ddNTP sont marqués chacun par un fluorochrome spécifique. Quatre types différents de fluorochromes qui émettent après excitation par un faisceau laser des fluorescences de couleurs différentes. Chacune de ces couleurs physiques est convertie en une couleur informatique par un logiciel dédié au traitement de ces différentes fluorescences (Brandis, 1999).

Un kit *BigDye terminator v1.1 cycle sequencing*. (Applied Biosystem Ref 4337457) est utilisé dans cette réaction qui permet l'amplification de chacun des brins des exons étudiés séparément en utilisant pour chaque exon, une fois l'amorce F (*forward*) et une autre fois l'amorce R (*reverse*). Ces brins sont placés dans des puits différents de la plaque et sont mis dans le thermocycleur suivant le programme adapté à cette étape.

1.3. Réaction de séquence :

Toute expérience de séquençage est soumise à des conditions de travail strict et à des précautions de manipulation à respecter.

Dans la 1^{ère} partie du travail, la préparation du Mix est réalisée dans une chambre « pré-PCR » dans des conditions de stérilité, selon le protocole suivant :

- 13,4µl d'eau
- 2,6 µl Mix *Bigdye*
- 16µl de mix dans chaque puits sont distribués + 2 µl d'amorce à 5µM

La 2^{ème} partie du travail est effectuée dans une autre chambre « Pièce PCR » :

- La plaque recouverte d'un film autocollant est brièvement centrifugée
- 2 µl de produit PCR purifié et dilué sont ajoutés dans chacun des puits de la plaque.

La plaque est mise au thermocycler.

Patients et méthodes

Programme thermocycler

- 96°C 30 sec
 - 96°C 20 sec
 - 50°C 5 se
 - 60°C 4 min
 - 4° C infini
- } 30cycles.

A la fin de ces étapes, les deux brins d'ADN amplifiés en présence des chromophores sont soumis à une 2^{ème} étape de purification de séquence selon le principe ci-dessous.

1.4. Purification des produits de séquence

Cette procédure élimine les nucléotides et les amorces en excès qui ne sont pas incorporés dans la réaction ainsi que les sels. Cette étape est nécessaire pour obtenir un échantillon pur pour un bon séquençage. Une purification des réactions des séquences est effectuée à l'aide de colonnes de gel d'exclusion d'une résine superfine, gel sephadex G50.

La colonne de gel sephadex G50 est constituée de billes perforées dont les trous ont un diamètre déterminé (de 20 à 50 µm). Les petites particules de diamètre inférieur à ceux-ci entrent et sont piégées. A l'inverse, les grosses particules vont passer autour et être éluées très rapidement (Annexe VI protocole).

1.5. Électrophorèse capillaire :

Les produits de séquence purifiés sont analysés sur un séquenceur ABI Prism 3130XL (*Applied Biosystem*). Une électrophorèse capillaire en conditions dénaturantes va séparer les fragments d'ADN synthétisés en fonction de leur taille. L'enregistrement et l'analyse spectrale de la fluorescence spécifique du ddNTP permettra alors la cartographie de la base correspondante et de déterminer la séquence nucléotidique du brin matrice.

➤ Analyses des séquences obtenues

Les données brutes sont stockées sur une unité informatique associée au système séquenceur et analysées par un logiciel (*Applied Biosystems*). L'analyse et l'interprétation des résultats du séquençage passent par les étapes suivantes :

- 1) Vérifier la qualité des séquences ;
- 2) Alignement des séquences sur une référence et corrections ;

Patients et méthodes

- 3) Impression des graphes après corrections ;
- 4) Les graphes et les alignements sont placés dans le dossier-papier du patient ;
- 5) Les variations identifiées issues de la comparaison aux séquences de référence utilisées sont classées selon le type de chaque mutation entre polymorphismes, mutations pathogènes ou encore des variations de signification inconnue.

1.6. Bio-informatique

Les numéros d'accès aux bases de données internationales pour les séquences de référence sont énumérés comme suit (*gène, transcrit, protéine*) : *MLH1* (*AC011816.17, NM_000249.2, NP_000240.1*).

1.7. Statistique

Certains de nos résultats sont traités par des statistiques descriptives : calcul de la moyenne arithmétique, de l'écart type et les pourcentages.

Résultats et discussion

Résultats et discussion

1. Répartition des patients selon le sexe

La population des patients atteints de CCR regroupe 16 sujets appartenant à 16 familles algériennes non apparentées répartis entre (figure 20) :

- 10 sujets de sexe masculin soit (62 %)
- 6 sujets de sexe féminin soit (38 %)

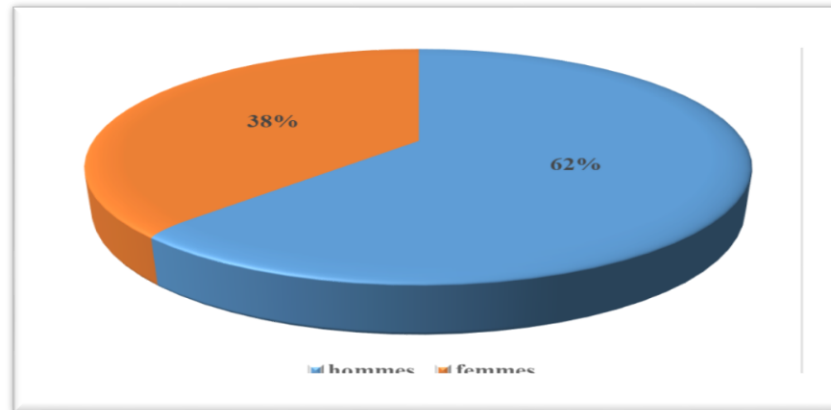
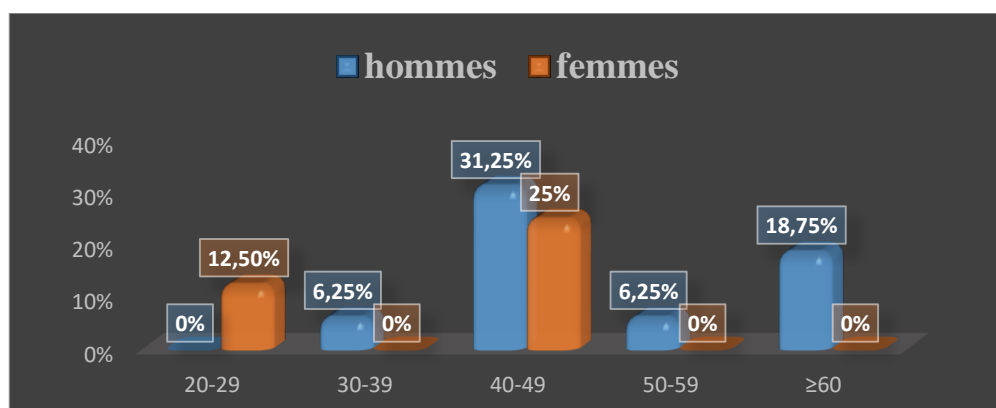


Figure 20 : Répartition des patients selon le sexe

D'après notre résultat la répartition des sujets malades ayant un syndrome de Lynch selon le sexe présente une différence entre les deux sexes 62% hommes contre 38% femmes, avec une prédominance masculine soit un sexe ratio de 1,63. ces résultats rejoignent la pluparts des études antérieures qui ont rapporté la prédominance masculine (hamdi cherif et *al.*, 2014 ; mohame et *al.*, 2018), cependant dans d'autres études, il a été observé que l'atteinte par cette maladie est similaire pour les deux sexes jusqu'à 60 ans (meddah et *al.*, 2009).

2. Répartition des patients selon l'âge de diagnostic

Nous avons classé nos patients en tranches d'âge de 10 ans. Nos résultats sont présentés dans le graphique de la figure 21.



Résultats et discussion

Figure 21 : répartition des patients selon le sexe et l'âge de diagnostic

Les résultats obtenus dans la figure 21 montrent que l'âge moyen de la survenue du CCR parmi nos cas probants est de 45 avec les deux extrêmes entre 28 et 69 ans. Le syndrome de Lynch étant caractérisé par une atteinte précoce du cancer. Notre population d'études est jeune avec des personnes de moins de 50 ans représentant environ 75% des cas avec une prédominance masculine. Ce constat a été rapporté par un certain nombre d'études sur le SL dans plusieurs groupes ethniques de sorte que l'âge médian des patients ne dépasse pas 40ans (lynch et *al.*, 2008 ; moussa et *al.*, 2011), alors que le CCR est très rare avant l'âge de 50 ans par rapport aux personnes de plus de 50 ans (rougier, 2004 ; allem, 2014).

D'après notre enquête, 18,75 % des cas ont présenté ce cancer avant 40 ans pour les deux sexes, une nette augmentation est observé dans la tranche d'âge 40 à 49 ans avec une prédominance masculin (31%), une absence des hommes entre 50 et 59 ans, cependant après 60 ans nous n'avons que des cas masculin (18,75%).

3. Répartition des patients selon la localisation de la tumeur

La figure 22 montre la distribution des individus cancéreux selon la localisation de la tumeur.

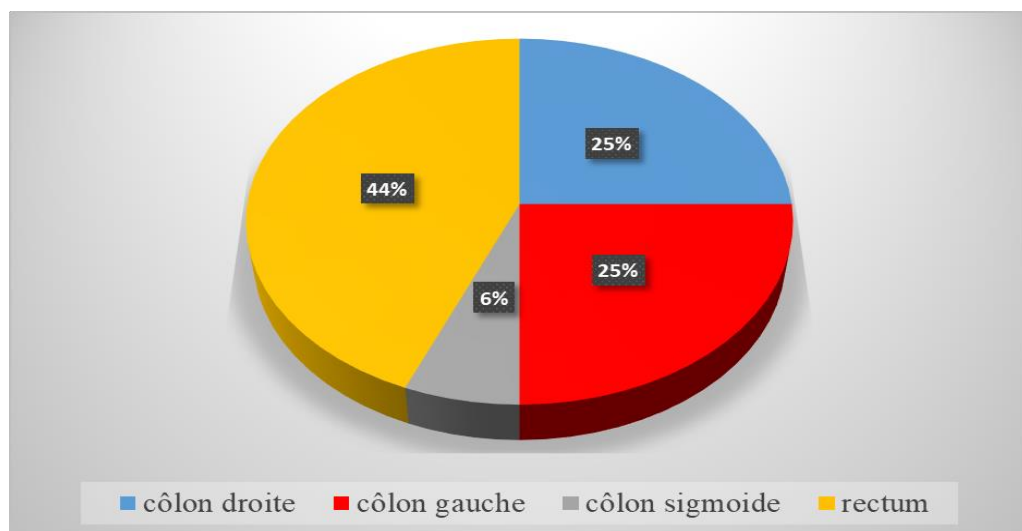


Figure 22 : Répartition des patients selon la localisation de la tumeur

Concernant la localisation de ce type de cancer, nos résultats montrent que le rectum est le site tumoral le plus fréquent, il touche 44% des cas, suivi par 25% pour les deux côlons droit et gauche également, le côlon sigmoïde ne figure que dans 6% des cas. On peut donc conclure que le rectum est le plus affecté par le cancer chez les deux sexes en accord avec plusieurs études (Sedkaoui, 2015) et (Housse et *al.*, 2015).

Résultats et discussion

Nos résultats montrent un accord entre la fréquence du cancer du côlon gauche et droit, alors que, les résultats du (Meddah et *al.*, 2009) et les travaux de (Fabre et *al.*, 2000 ; Jandova et *al.*, 2015) montrent que l'incidence du cancer du côlon distale descendant est supérieure à celle du cancer du côlon ascendant, inversement aux résultats du (Davies et *al.*, 2005 ; Arriba et *al.*, 2016 ; Bouguenouch et *al.*, 2016) qui ont montré que les CCR dans le SL ont tendance à avoir une localisation proximale avec une prédominance du colon droit.

4. Répartition des patients selon le stade d'évolution de la tumeur

Les stades de la tumeur ont été donnés selon la classification TNM, qui distingue quatre stades notés de I à IV (Edge et Compton, 2010 ; Scoazec et Sabourin, 2010). Pour la classification, nous n'avons obtenu les informations de 15 patients parmi les 16. La distribution de nos patients selon ces stades est illustrée dans la figure 23.

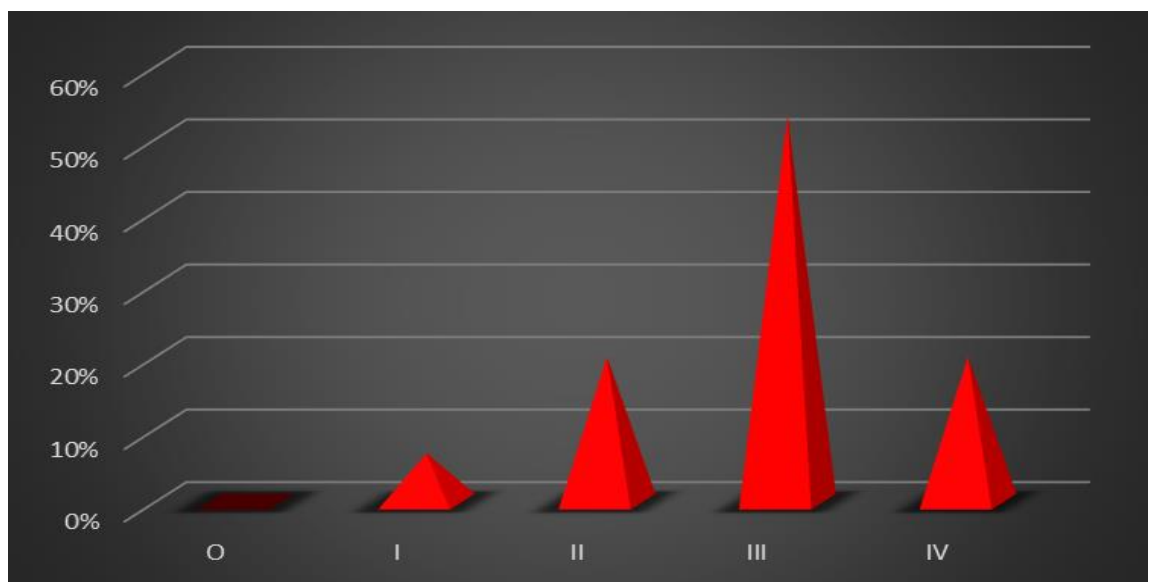


Figure 23 : Répartition des patients selon le stade d'évolution de la tumeur

D'après notre résultat, la population étudiée présente une prédominance du stade III avec une fréquence de 53,30% suivi du stade II et du stade IV à même pourcentage de 20 % et enfin le stade I par 6,70%, aucun de nos patients n'appartient au stade 0.

Ces résultats sont proches à ceux obtenus par (Oukkal et Bouzid, 2006) et ceux retrouvés par (Meddah et *al.*, 2009) (Ziada et *al.*, 2016).

Inversement à nos résultats, les études de (Chan et *al.*, 2010) montrent que la proportion des malades CCR présentant les stades I et II est plus fréquente avec une fréquence de

Résultats et discussion

55,4% que celle des stades III et IV qui présente 44,6%. Ces résultats s'expliquent par les causes suivantes :

- Les patients arrivent dans les centres cliniques à un stade tardif en raison de l'absence de signes généraux de maladies, de négligence, de manque de motivation, d'absence de douleur et de peur du résultat et d'informations insuffisantes.
- Apparition précoce du syndrome de lynch, dont le risque plus important est associé à une accélération du séquençage de l'adénome carcinoïde plus qu'à l'apparition de la cancérogenèse (Lynch et chapel, 1999). Dans le syndrome de lynch, un adénome peut évoluer en adénocarcinome en 2 à 3 ans, contre 8 à 10 ans chez toute personne de la population générale (Grady et Carrethers, 2008).
- Les patients qui ne respectent pas une surveillance régulière augmentent le risque de récurrence.
- Il n'y a pas de compagnie médicale et sociale de dépistage et de prévention.

Le taux de survie relative à 5 ans après le diagnostic varie en fonction de la classification TNM : 94 % pour les cancers diagnostiqués au stade I ; 80 % au stade II ; 47 % au stade III et 5 % au stade IV (Grosclaude et *al.*, 2013).

5. Répartition des patients selon les critères d'Amsterdam et de Bethesda

Dans notre travail, nous avons classé les patients ayant le cancer colorectal selon les informations généalogiques obtenues par questionnaire en des patients répondant aux critères d'Amsterdam I/II ou de Bethesda.

Il est à noter que ces critères de reconnaissance de syndrome de lynch ne sont pas considérés dans la pratique clinique en raison de leur rareté chez les patients atteints de CCR. Nous avons réparti nos patients selon ces critères en trois groupes (figure 24) :

- Patients répondants aux critères d'Amsterdam.
- Patients répondants aux critères de Bethesda avec des antécédents
- Patients répondants aux critères de Bethesda sans antécédents

Résultats et discussion

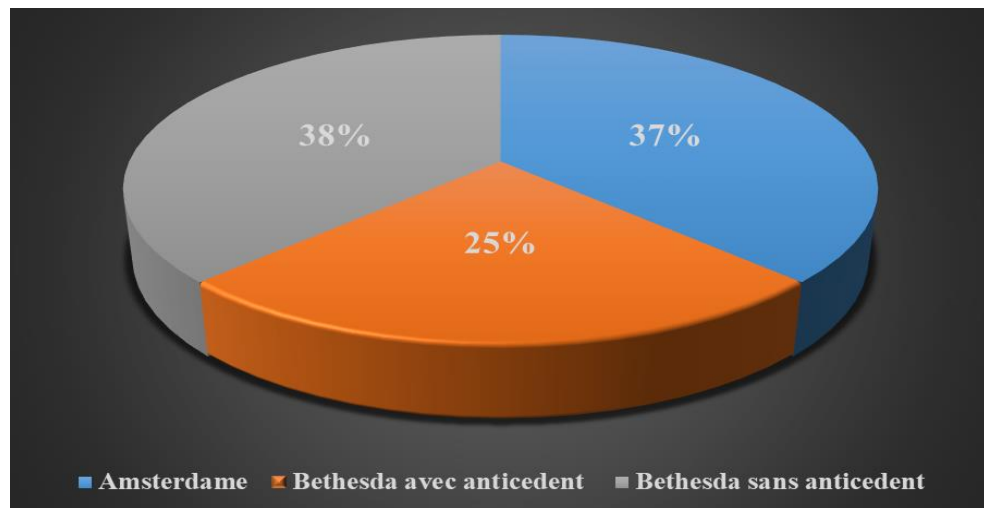


Figure 24 : répartition des patients selon les critères d'Amsterdam et de Bethesda

D'après nos résultats, les critères d'Amsterdam I / II sont présents chez 37% de nos familles ayant un syndrome de lynch, et cette fréquence est cohérente avec les travaux de (Moussa et *al.*, 2011). En revanche, cette fréquence est supérieure à ce qui a été trouvé dans autre étude de (Ziada et *al.*, 2016) avec 15% des cas.

Les critères de Bethesda représentent la majeure partie de notre population d'étude avec une fréquence de 63%, réparti en 38% sans antécédents et 25% avec antécédent. Ces résultats sont corroborés avec les travaux de (Hampel et *al.*, 2008) (72%) et (Zahary et *al.*, 2012) (100%), aussi 58,1% chez les résultats de (Moussa et *al.*, 2011).

Il ne faut pas se limiter aux seuls critères d'Amsterdam pour accéder à une consultation d'oncogénétique car ces critères sont peu sensibles et un grand nombre de porteurs de mutations des gènes MMR ne répondent pas toujours à ces critères (Olschwang et Eisinger, 2005). Les critères de Bethesda 1 et 2 permettent d'identifier les familles à risque et de mutation du gène MMR (Carneiro da Silva et *al.*, 2015). Cela peut être recommandé dans un test d'instabilité de microsatellite sur des échantillons de cancer colorectal. Pour identifier les familles à risque de SL, les critères de Bethesda sont plus sensibles que les critères d'Amsterdam mais ne sont pas spécifiques car le MSI n'est présent que dans 15% des tumeurs sporadique. Tout patient répondant aux critères d'Amsterdam ou Bethesda doit subir un test génétique pour confirmation (INca 2011).

Dans la partie suivante sont présentés les pedigrees de 6 familles (cas index + apparentés ayant un SL et qui répondent aux critères d'Amsterdam I ou II :

Résultats et discussion

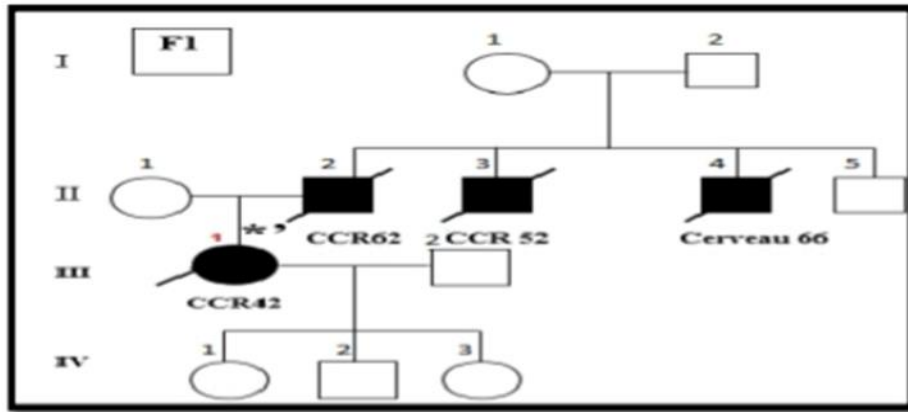


Figure 25 : Arbre généalogique de la famille F1 porteuse le SL

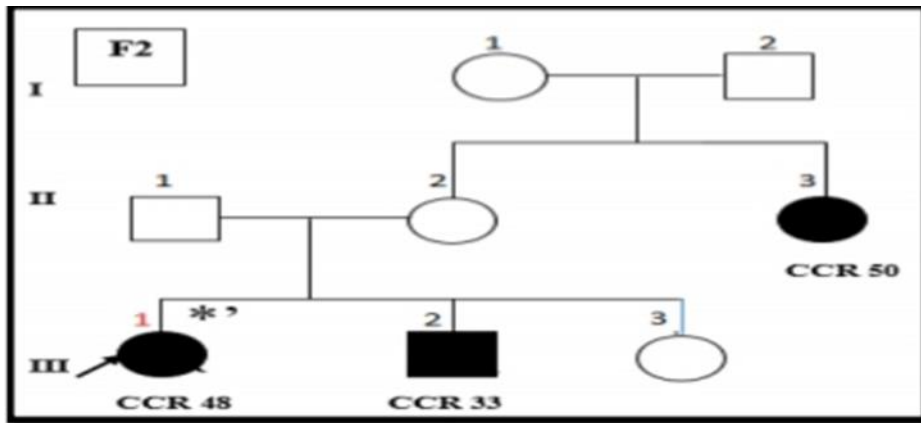


Figure 26 : Arbre généalogique de la famille F2 porteuse le SL

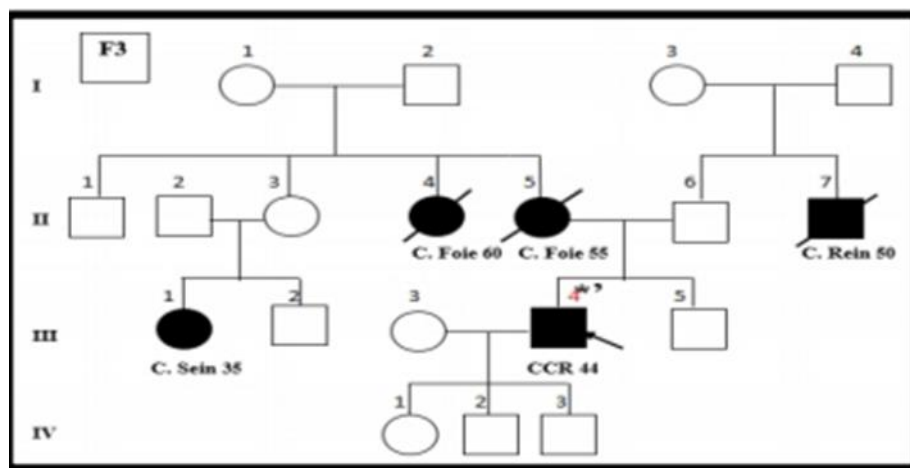


Figure 27 : Arbre généalogique de la famille F3 porteuse de SL

Résultats et discussion

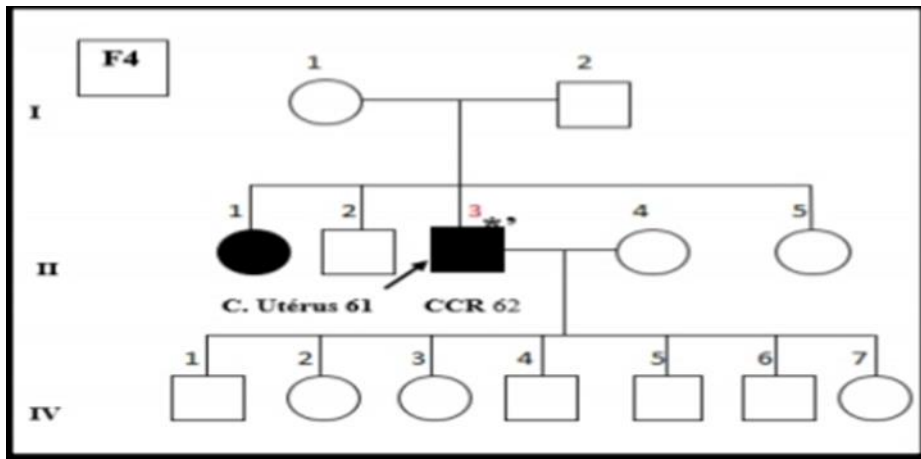


Figure 28 : Arbre généalogique de la famille F4 porteuse le SL

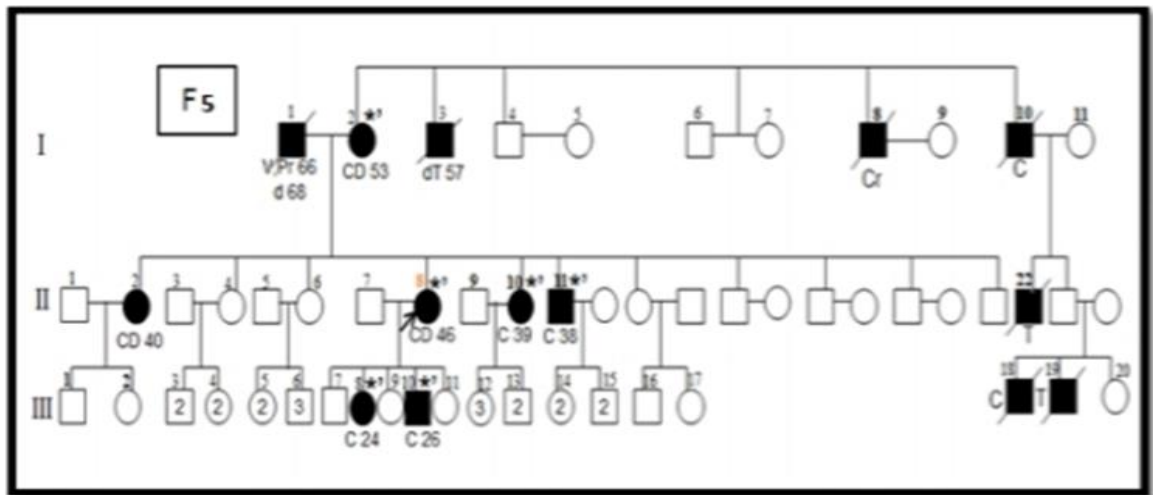


Figure 29 : Arbre généalogique de la famille F5 porteuse le SL

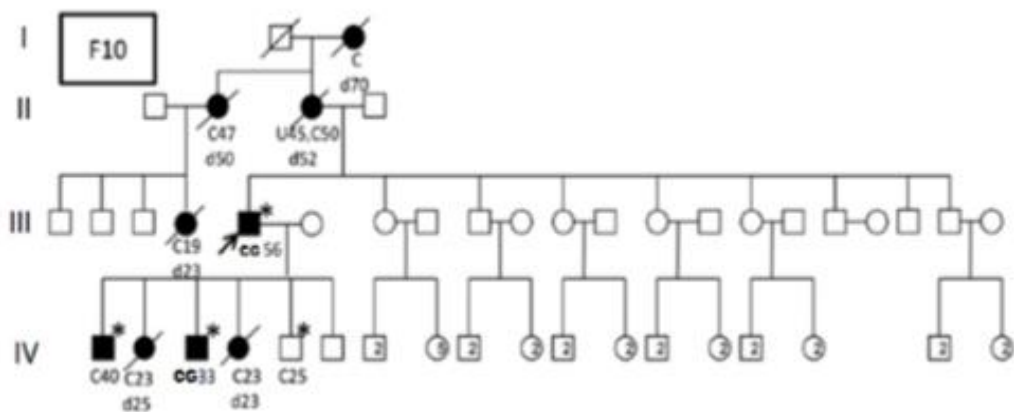


Figure 30 : Arbre généalogique de la famille F10 porteuse le SL

Résultats et discussion

Nous avons observé six familles dans notre étude qui répondaient aux critères d'Amsterdam avec histoire de famille d'après les arbres généalogiques de ces six familles (F1, F2, F3, F4, F5, F10) on constate que la transmission de ces cancers se fait selon le mode autosomique dominant avec une pénétration incomplète (tableau 4).

Tableau 4 : Analyses des arbres généalogiques

La famille	Critères de reconnaissance	Le cas index	L'âge de diagnostic	Nombre de sujets atteints dans la famille
F1	Amsterdam II	III1	44	3
F2	Amsterdam II	III1	48	2
F3	Amsterdam II	III4	44	4
F4	Amsterdam II	II3	61	1
F5	Amsterdam II	II8	46	4
F10	Amsterdam I	III5	56	8

6. Le polymorphisme c.-93G> A (rs 1800734)

Le polymorphisme c.-93G> A sur le promoteur du gène *MLH1* (rs1800734) a été détecté au niveau de deux patientes SL dans notre population d'étude, dans deux sujets, sans antécédents familiaux appartenant aux critères de Bethesda : la F2 et F8 ces deux patients sont de sexe féminin. La F6 présente un cancer du côlon droit, et l'autre, la F8 avec un cancer du rectum. Allan et *al.*, (2008) ont décrit une relation significative entre les homozygotes pour ce polymorphisme et l'incidence de cancer du côlon proximal. Aussi (Santibanez Koref et *al.*, 2010), (Tomlinson et *al.*, 2012) (Ma et *al.*, 2014) ont montré que ce SNP est connu pour être associé à un risque accru de CCR. ce polymorphisme est lié au CCR en présence de MSI-H (Campbell et *al.*, 2009 ; Whiffin et *al.*, 2011).

La maladie maligne s'est révélée avant l'âge de 30 ans chez les deux patientes ce qui nous laisse supposer que ce polymorphisme est associé à l'apparition précoce de cancer chez les porteurs.

Pour la malade F8 et suite à des analyses génétiques antérieures de séquençage direct des gènes de réparation *MLH1*, *MSH2* et *MSH6* puis l'étude des grands réarrangements par MLPA de ces gènes ainsi que le gène *epCam* ne donnaient aucune mutation

Résultats et discussion

pathogène, cependant, sur son gène *MLH1*, le variant c* 162_*165delGATT situé sur l'extrémité 3' a été identifié. La patiente F2, avec cancer du côlon droit, est porteuse de la grosse délétion sur *MSH6*, c.1 -?260 + del (Ziada et al.) et qui porte également l'autre polymorphisme, c-118C>T sur le promoteur *MSH2*. Ce dernier a été décrit également dans de nombreuses études, associé au risque de CCR (Mrkonjic et al., 2007), et autres cancers (Srivastava et al., 2010), (Lo et al., 2011) (Xiao et al., 2012).

le polymorphisme est localisé au milieu du promoteur du gène *MLH1* dans une région régulatrice d'activité transcriptionnelle maximale, qui peut affecter le taux de la transcription par réduction transcriptionnelle ou par silencing (Allan et al., 2008). Ainsi cette mutation pourrait s'expliquer par une perte somatique d'expression de la protéine MLH1 qui survient après l'hyperméthylation des îlots CpG (Mrkonjic et al., 2010). D'après (Chen et al., 2007 ; Whiffin et al., 2011) il y a une relation entre le polymorphisme c.-93G> et l'hyperméthylation du promoteur *MLH1* dans le CCR et de l'endomètre.

Cette découverte a eu un grand retentissement des études sur de nombreux groupes ethniques ont évalué l'association de ce polymorphisme rs1800734 avec différents types de cancers, autres que le CCR et le cancer de l'endomètre (Poplawski et al., 2015). Ces travaux suggèrent que ce polymorphisme pourrait contribuer à l'étiologie du cancer gastrique (Niu et al., 2015), de l'ovaire (Harley et al., 2008) du poumon primaire, en particulier chez les non-fumeurs (Lo et al., 2011 ; Slováková et al., 2015). Alors que Zhi et al. (2012) a confirmé qu'il n'existe aucune association entre ce SNP et le cancer de la vessie.

Conclusion et Perspectives

L'identification des gènes prédisposant à des maladies complexes comme le cancer est un enjeu majeur pour la génétique.

Le syndrome de lynch a été reconnu comme étant impliqué dans un grand nombre de cancer, en particulier le cancer colorectal.

Notre travail avait pour objectif de déterminer l'association de CCR héréditaire sans polypose avec le polymorphisme c. -93G> A (rs1800734) du gène *MLH1*. Pour cela, nous avons réalisé une étude comprenant 16 cas CCR, les résultats obtenus montrent que l'incidence du cancer colorectal augmente avec l'âge chez les deux sexes avec une prédominance masculin (62 %). L'âge moyen de notre population est de 45 ans, avec des extrêmes allant de 28 à 68 ans.

Les critères d'Amsterdam I / II sont présents chez 37% de nos famille ayant un syndrome de lynch .Cependant ceux de Bethesda représentent la majeure partie de notre population d'étude avec une fréquence de 63%, réparti en 38% sans antécédents et 25% avec antécédents familiaux.

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

Le SNP c.-93G> A a été détecté chez deux patientes de SL dans notre population d'étude, à un âge précoce moins de 30 ans. Ces deux patientes appartenant à deux familles différentes sans antécédents familiaux dont l'une porte une mutation pathogène sur le gène de réparation *MSH6*.

A partir de ces données, on peut constater la probable implication de ce polymorphisme dans le risque de survenue de CCR. Il s'avère que toute modification au niveau d'un promoteur potentialise la régression de l'expression du gène considéré, voire éteindre cette expression.

Notre étude a été confrontée à plusieurs limites et contraintes techniques parmi lesquelles la taille réduite de notre échantillon, le manque de données épidémiologiques pour plusieurs sujets, les difficultés rencontrées lors de la réalisation de la PCR ainsi que le peu du temps réservé à la réalisation de cette partie.

Conclusion et Perspectives

Néanmoins, dans l'avenir il serait mieux, pour avoir des résultats concluants, d'élargir le nombre de la population d'étude entre deux groupes des patients et des témoins. Cela ouvre des perspectives en matière de détection de nouveaux marqueurs génétiques, afin d'établir une stratégie de dépistage et de prévention de ce type de cancer.

Références

Bibliographiques

Références bibliographique

- ❖ Abid, L. (2016). Epidémiologie des cancers digestifs en Algérie, Hôpital Bologhine, Alger Cours intensif de cancérologie Digestive FFCD-SAHGEED.
- ❖ Ahmed, A., and Qureshi, W.A. (2020). Abdomen and Pelvis, Anal Canal, in: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).Anatomy.
- ❖ Aleksandrowicz, J. (2016). Cancer colorectal. Pharmanetis Sàrl – Suisse Copyright creapharma.ch.
- ❖ Allan, J.M., Shorto, J., Adlard, J., et al. (2008). MLH1 -93G promoter polymorphism and risk of mismatch repair deficient colorectal cancer. *Int J Cancer* 123, 2456–2459.
- ❖ Arita, M., Zhong, X., Min, Z., et al. (2003). Multiple sites required for expression in 50 -flanking region of the hMLH1 gene. *Gene* 306, 57–65.
- ❖ Arne, S., and Nicole, M. (2002). Système digestif, nutrition et métabolisme. Anatomie Physiologie Biologie. 2ème Ed, 322-361.
- ❖ Arriba, M., Sánchez, R., Rueda, D., et al. (2016). Toward a Molecular Classification of Synchronous Colorectal Cancer: Clinical and Molecular Characterization. *Clin. Colorectal Cancer*.
- ❖ Arvelo, F., Sojo, F., and Cotte, C. (2015). Biology of colorectal cancer. *ecancermedalscience* 9.
- ❖ Azzouz, L., and Sharma, S. (2020). Physiology Large Intestine. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507857/>.
- ❖ Balaguer, F., and Castells, A. (2007). Identification of Lynch syndrome: are we close to the best strategy? *Gastroenterology* 133, 353–355.
- ❖ Balmaña, J., Balaguer, F., and Cervantes, A. (2013). ESMO Guidelines Working Group. Familial risk-colorectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Ann Oncol.* 24 (Suppl 6):vi73-vi80.
- ❖ Bardhan, K., and Liu, K. (2013). Epigenetics and Colorectal Cancer Pathogenesis, *Cancer (Basel)*, 5, 676-713.
- ❖ Beiner, M.E., Rosen, B., Fyles, A., et al. (2006). Endometrial cancer risk is associated with variants of the mismatch repair genes MLH1 and MSH2. *Cancer Epidemiol Biomark Prev.* 15, 1636–40.
- ❖ Belaiche, J. (2009). Surveillance et prévention du risque de cancer colorectal dans les MICI. *Cancerologie Digestive*, 1(2), 134-140.
- ❖ Bienvenu, T., Meunier, C., Bousquet, S., et al. (1999). [Different procedures for the isolation of DNA from blood samples]. *Ann. Biol. Clin. (Paris)* 57, 77–84
- ❖ Binder-foucard, F., belot, A., delafosse, P., et al. (2013). NEstimation nationale de l'incidence et de la mortalité par cancer en France entre 1980 et 2012 (Etude à

partir des registres des cancers du réseau francium partie1-Tumeurs solides).
page : 17.

- ❖ Boland, C.R. (2006). Decoding hereditary colorectal cancer. *N Engl J Med.* 354, 2815-7
- ❖ Bouguenouch, L., Samri, I., Belhassan, K., et al. (2016). Syndrome de Lynch: à propos d'un cas et revue de la littérature. *Pan Afr. Med. J.* 24.
- ❖ Burt, R. (2007). Inheritance of Colorectal Cancer. *Drug discovery today. Disease mechanisms,* 4(4), 293–300.
- ❖ Byrne, R.M., and Tsikitis, V.L. (2018). Colorectal polyposis and inherited colorectal cancer syndromes. *Ann Gastroenterol.* 31, 24-34.
- ❖ Cambier, J. (2012). BULLETIN DE L'ACADÉMIE NATIONALE DE MÉDECINE. TOM 196. No3.
- ❖ Campbell, P.T., Curtin, K., Ulrich, C.M., et al. (2009). Mismatch repair polymorphisms and risk of colon cancer, tumour microsatellite instability and interactions with lifestyle factors. *Gut* 58, 661–667.
- ❖ Carneiro da Silva, F., Ferreira, J.R. de O., Torrezan, G.T., et al. (2015). Clinical and Molecular Characterization of Brazilian Patients Suspected to Have Lynch Syndrome. *PloS One* 10, e0139753.
- ❖ Chan, K.K., Dassanayake, B., Deen, R., Wickramarachchi, R.E., Kumarage, S.K., Samita, S., and Deen, K.I. (2010). Young patients with colorectal cancer have poor survival in the first twenty months after operation and predictable survival in the medium and long-term: analysis of survival and prognostic markers. *World J. Surg. Oncol.* 8, 82.
- ❖ Chapelle, A. (2004). Genetic predisposition to colorectal cancer. *Nat. Rev. Cancer.* 4, 769–780.
- ❖ Chen, H., Taylor, N.P., Sotamaa, K.M., et al. (2007). Evidence for heritable predisposition to epigenetic silencing of MLH1. *Int J Cancer* 120, 1684–88.
- ❖ Davidson, N.O. (2007). Genetic testing in colorectal cancer: who, when, how and why. *Keio J. Med.* 56, 14–20.
- ❖ Davies, R.J., Miller, R., and Coleman, N. (2005). Colorectal cancer screening: prospects for molecular stool analysis. *Nat. Rev. Cancer* 5, 199–209.
- ❖ Dunlop, M.G., Farrington, S.M., Carothers, A.D., et al. (1997). Cancer risk associated with germline DNA mismatch repair gene mutations. *Hum Mol Genet.* 6, 105-110.
- ❖ Edge, S.B., and Compton, C.C. (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.

- ❖ Engel, C., Loeffler, M., Steinke, V., et al. (2012). Risks of less common cancers in proven mutation carriers with lynch syndrome. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 30, 4409–4415.
- ❖ Esteller, M., and Herman, J.G. (2004). Cancer as an epigenetic disease: DNA methylation and chromatin alterations in human tumours. *J Pathol.* 196, 1-7.
- ❖ Fabre, E., Spano, J.P., and Altan, D. (2000). Le cancer du côlon: mise en point. *Bull. Cancer (Paris)* 87, 5–20.
- ❖ Fang, M., Ou, J., Hutchinson, L., et al. (2014). The BRAF oncoprotein functions through the transcriptional repressor MAFK to mediate the CpG Island Methylator phenotype. *Molecular cell* 55, 904–915.
- ❖ Fearon, E.R., and Vogelstein, B. (1990). A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*, 61(5), 759-67.
- ❖ Ferlay, J., Bray, F., and Pisani Parkin, D.M. (2002). Cancer incidence, mortality and prevalence worldwide. Paris: GLOBOCAN. 240 pages.
- ❖ Ferlay, J., Soerjomataram, I., Ervik, M., et al. (2012). Cancer Incidence and Mortality Worldwide : IARC CancerBase No. 11 [Internet]. International Agency for Research on Cancer, Lyon, France, 2013.
- ❖ Ferlay, J., Steliarova-Foucher, E., Lortet-tienlent, J., et al. (2013). Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *Eur. J. Cancer* 49, 403.
- ❖ Fodde, R., and Smits, R. (2002). Cancer biology. A matter of dosage. *Science.* 298, 761-763.
- ❖ Galiatsatos, P., and Foulkes, W.D. (2006). Familial adenomatous polyposis. *Am. J. Gastroenterol.* 101, 385–398.
- ❖ GHR, 2020 : <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/MLH1#location>.
- ❖ Grady, W.M., and Carethers, J.M. (2008). Genomic and epigenetic instability in colorectal cancer pathogenesis. *Gastroenterology* 135, 1079–1099.
- ❖ Grosclaude, P., Remontet, L., Belot, A., Danzon, A., Rasamimanana Cerf, N., and Bossard, N. (2013).
- ❖ Gryfe, R., Bapat, B., Gallinger, S., et al. (1997). Molecular biology of colorectal cancer. *Curr Probl Cancer.* 21(5), 233–99.
- ❖ Guarinos, C., Juárez, M., Egoavil, C., et al. (2014). Prevalence and characteristics of MUTYH-associated polyposis in patients with multiple adenomatous and serrated polyps. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 20(5), 1158–1168.
- ❖ Haffen C. (2012). Surface luminale d'un polype vilieux au niveau du côlon. Inserm.

- ❖ Haggard, F. A., and Boushey, R. P. (2009). Colorectal cancer epidemiology: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Clinics in colon and rectal surgery*, 22(04), 191-197.
- ❖ Hampel, H., Frankel, W.L., Martin, E., et al. (2005). Screening for the Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer). *N Engl J Med.* 352, 1851-60.
- ❖ Hampel, H., Frankel, W.L., Martin, E., et al. (2008). Feasibility of screening for Lynch syndrome among patients with colorectal cancer. *J. Clin. Oncol.* 26, 5783–5788.
- ❖ Harley, I., Rosen, B., Risch, H.A., et al. (2008). Ovarian cancer risk is associated with a common variant in the promoter sequence of the mismatch repair gene MLH1. *Gynecol. Oncol.* 109, 384–387.
- ❖ Heresbach, D. and Heresbach Le Berre, N. (2003). Les foyers de cryptes aberrantes (FCA) coliques : une lésion précancéreuse à dépister ? *Lett. L'hépatogastroentérologie VI*, 23–30.
- ❖ Herman, J.G., Umar, A., Polyak, K., et al. (1998). Incidence and functional consequences of hMLH1 promoter hypermethylation in colorectal carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA.* 95, 870–6875.
- ❖ Hirayama, T. (1981). A large-scale cohort study on the relationship between diet and selected cancers of the digestive organs. In *gastrointestinal cancer, endogenous factors*, Newyork, Banbury Report 7 Cold Spring Harbor Laboratory. 409-429.
- ❖ Housse, H., El, Ajbara, W., Amsaguine, S., et al. (2015). Profils épidémiologique et anatomoclinique d'une population marocaine atteinte de cancer colorectal. *African Journal of Cancer* 2, 95-99.
- ❖ Hsieh, P., and Yamane, K. (2008). DNA mismatch repair: molecular mechanism, cancer, and ageing. *Mech. Ageing Dev.* 129, 391–407.
- ❖ Iacopetta, B., Grieu, F., Li W., et al. (2006). Gene methylation is inversely correlated with features of the CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. *Int J Cancer.* 119 (10), 2272-2278.
- ❖ INCA. (2011). *Epidémiologie du cancer colorectal en France métropolitaine.*
- ❖ Ito, E., Yanagisawa, Y., Iwahashi, Y., et al. (1999). core promoter and a frequent single-nucleotide polymorphism of the mismatch repair gene hMLH1. *Biochem Biophys Res Commun.* 256, 488–94.
- ❖ Jacob, S., and Praz, F. (2002). DNA mismatch repair defects: role in colorectal carcinogenesis. *Biochimie* 84, 27–47.
- ❖ Jandova, J., Ohlson, E., Torres B S, M.R., et al. (2015). Racial disparities and socioeconomic status in the incidence of colorectal cancer in Arizona. *Am.J. Surg.*

- ❖ Jasperson, K.W., Tuohy, T.M., Neklason, D.W., et al. (2010). Hereditary and familial colon cancer. *Gastroenterology* 138, 2044–2058.
- ❖ Jass, J.R. (1995). Adenomas and a family history of colorectal cancer. *Gut* 37, 297–298.
- ❖ Jemal, A., Siegel, R., Ward, E., et al. (2006). Cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 56, 106-130.
- ❖ Jones, P. A., and Laird, P. W. (1999). Cancer epigenetics comes of age. *Nat Genet* 21, 163–167.
- ❖ Klift, H., Wijnen, J., Wagner, A., Verkuilen, P., Tops, C., Otway, R., Kohonen-Corish, M., Vasen, H., Oliani, C., Barana, D., et al. (2005). Molecular characterization of the spectrum of genomic deletions in the mismatch repair genes MSH2, MLH1, MSH6, and PMS2 responsible for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC). *Genes. Chromosomes Cancer* 44, 123–138.
- ❖ Knudsen, A.L., Bisgaard, M.L., and Bülow, S. (2003). Attenuated familial adenomatous polyposis (AFAP). A review of the literature. *Fam. Cancer* 2, 43–55.
- ❖ Leggett, B., and Whitehall, V.L. (2010). Role of the serrated pathway in colorectal cancer pathogenesis. *Gastroenterol* 138(6), 2088-2100.
- ❖ Lo, Y.L., Hsiao, C.F., Jou, Y.S., et al. (2011). Polymorphisms of MLH1 and MSH2 genes and the risk of lung cancer among never smokers. *Lung Cancer* 72, 280–286.
- ❖ Lynch, H.T., and Chapelle, A. (1999). Genetic susceptibility to non-polyposis colorectal cancer. *J Med Genet* 36, 801–818.
- ❖ Lynch, H.T., Lynch, J.F., Lynch, P.M., et al. (2008). Hereditary colorectal cancer syndromes: molecular genetics, genetic counseling, diagnosis and management. *Fam. Cancer* 7, 27–39.
- ❖ Lynch, H.T., Shaw, M.W., Magnuson, C.W., et al. (1966). Hereditary factors in cancer. Study of two large midwestern kindreds. *Arch. Intern. Mead.* 117 , 206–212.
- ❖ Lynch, H.T., Smyrk, T., McGinn, T., et al. (1995). Attenuated familial adenomatous polyposis (AFAP) a phenotypically and genotypically distinctive variant of FAP. *Cancer* 76, 2427–2433.
- ❖ Lynch, HT., Snyder, CL., Shaw, TG., et al. (2015). Milestones of Lynch syndrome: 1895-2015. *Nat Rev Cancer* 15, 181–94
- ❖ Lyonnet, D.S. (2009). Principales recommandations de prise en charge des patients porteurs d'une mutation d'un gène MMR dans le syndrome de Lynch.
- ❖ Ma, X., Zhang, B., and Zheng, W. (2014). Genetic variants associated with colorectal cancer risk: comprehensive research synopsis, meta-analysis, and epidemiological evidence. *Gut* 63, 326–336.

- ❖ Macrae, F., du Sart, D., and Nasioulas, S. (2009). Familial adenomatous polyposis. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol* 23, 197–207.
- ❖ Malander, S., Rambech, E., Kristoffersson, U., et al. (2006). The contribution of the hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome to the development of ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 101, 238–43.
- ❖ Martín-López, J.V., and Fishel, R. (2013). The mechanism of mismatch repair and the functional analysis of mismatch repair defects in Lynch syndrome. *Fam. Cancer* 12, 159–168.
- ❖ Meddah, D., Meddah, B., Tir Touil, A., et al. (2009). Étude épidémiologique du cancer du côlon chez des patients de l'Ouest algérien. *J. Afr. Cancer Afr. J. Cancer* 1, 31–35.
- ❖ Miller, S.A., Dykes, D.D., and Polesky, H.F. (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.* 16, 1215.
- ❖ Miyakura, Y., Tahara, M., Lefor, A. T., et al. (2014). Haplotype defined by the MLH1-93G/A polymorphism is associated with MLH1 promoter hypermethylation in sporadic colorectal cancers. *BMC research notes* 7, 835, <https://doi.org/10.1186/1756-0500-7-835>.
- ❖ Modrich, P. (2006). Mechanisms in eukaryotic mismatch repair. *J. Biol. Chem.* 281, 30305–30309.
- ❖ Morere, J.F., and Mitry, E. (2010). *Les cancers digestifs des sujets âgés* ; page : 26 Springer.
- ❖ Moslein, G., Tester, D.J., Lindor, N.M., et al. (1996). Microsatellite instability and mutation analysis of hMSH2 and hMLH1 in patients with sporadic, familial and hereditary colorectal cancer. *Hum Mol Genet.* 5, 1245-1252.
- ❖ Moussa, S.A.B., Moussa, A., Kourda, N., et al. (2011). Lynch syndrome in Tunisia: first description of clinical features and germline mutations. *Int J Colorectal Dis* 26, 455–467.
- ❖ Mrkonjic, M., Raptis, S., Green, R.C., et al. (2007). MSH2 118T>C and MSH6 159C>T promoter polymorphisms and the risk of colorectal cancer. *Carcinogenesis* 28, 2575–2580.
- ❖ Mrkonjic, M., Roslin, N.M., Greenwood, C.M., et al. (2010). Specific variants in the MLH1 gene region may drive DNA methylation, loss of protein expression, and MSI-H colorectal cancer. *PLoS ONE* 5, e13314.
- ❖ Niskakoski, A., Kaur, S., Renkonen-Sinisalo, L., et al. (2013). Distinct molecular profiles in Lynch syndrome-associated and sporadic ovarian carcinomas. *Int. J. Cancer* 133, 2596–2608.
- ❖ Niu, L., Li, S., Liang, H., et al. (2015). The hMLH1 –93G>A Polymorphism and Risk of Ovarian Cancer in the Chinese Population. *PLoS ONE* 10, e0135822.

- ❖ Olschwang, S., and Eisinger, F. (2005). Prédiposition héréditaire au cancer colorectal et inactivation de la fonction de réparation des mésappariements de l'ADN. *EMC - Hépatogastroenterol.* 2, 214–222.
- ❖ Olschwang, S., Hamelin, R., Laurent-Puig, P., et al. (1997). Alternative genetic pathways in colorectal carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 94(22), 12122–7.
- ❖ Oukkal, M. (2002). Les cancers digestifs en Algérie. *Le quotidien*, 03 Avril 2007.
- ❖ Oukkal, M., and Bouzid, K. (2006). Études épidémiologiques des cancers colorectaux au service d'oncologie médicale du CPMC d'Alger. *Registre Tumor Alger*, 3–64.
- ❖ Parham, P. (2003). Le système immunitaire. Groupe de Boeck. Page 361.
- ❖ Parkin, D.M., Muir, C.S., Whelan, S.L., et al. (1992). Cancer incidence in Five Continents, vol 6 IARC Scientific publications, Lyon, n°120.
- ❖ Peltomäki, P. (2016). Update on Lynch syndrome genomics. *Fam. Cancer* 15, 385–393.
- ❖ Plazzer, J.P., Sijmons, R.H., Woods, M.O., et al. (2013). The InSiGHT database: utilizing 100 years of insights into Lynch Syndrome. *Fam. Cancer* 12, 175–180.
- ❖ Poplawski, T., Sobczuk, A., Sarnik, J., et al. (2015). Polymorphism of DNA mismatch repair genes in endometrial cancer. *Exp. Oncol.* 37, 44–47.
- ❖ Raptis, D., Schneider, I., Matzel, K.E., et al. (2015). The Differential Diagnosis and Interdisciplinary Treatment of Anal Carcinoma. *Dtsch. Ärztebl. Int.* 112, 243–249.
- ❖ Risch, H.A., McLaughlin, J.R., Cole, D.E., et al. (2001). Prevalence and penetrance of germline BRCA1 and BRCA2 mutations in a population series of 649 women with ovarian cancer. *Am J Hum Genet.* 68, 700–10.
- ❖ Rodriguez-Bigas, M.A., Boland, C.R., Hamilton, S.R., et al. (1997). A National Cancer Institute Workshop on Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer Syndrome: meeting highlights and Bethesda guidelines. *J Natl Cancer Inst* 89, 1758–1762.
- ❖ Roumeguère, P. (2006). Syndrome HNPCC : Détection et Conduite à tenir. Bordeaux. 16p.
- ❖ Rubin, S.C., Blackwood, M.A., Bandera, C., et al. (1996). BRCA1 and BRCA2 And hereditary non polyposis colorectal cancer gene mutations in an unselected ovarian cancer population: relationship to family history and implications for genetic testing. *Am J Obstet Gynecol.* 178, 670–7.
- ❖ Rustgi, A.K. (2007). The genetics of hereditary colon cancer. *Genes Dev.* 21, 2525–2538.

- ❖ Santibanez Koref, M., Wilson, V., Cartwright, N., et al. (2010). MLH1 Differential allelic expression in mutation carriers and controls. *Ann Hum Genet* 74, 479–488.
- ❖ Savio, A. J., and Bapat, B. (2017). Modulation of transcription factor binding and epigenetic regulation of the MLH1 CpG island and shore by polymorphism rs1800734 in colorectal cancer. *Epigenetics*, 12, 441-448.
- ❖ Savio, A. J., Lemire, M., Mrkonjic, M., et al., (2012). MLH1 region polymorphisms show a significant association with CpG island shore methylation in a large cohort of healthy individuals. *PLoS One* 7, e51531, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051531>.
- ❖ Schumpelick, V., Dreuw, B., Ophoff, K., et al. (2000). APPENDIX AND CECUM. *Surg. Clin. North Am.* 80, 295–318.
- ❖ Scoazec, J.Y., and Sabourin, J.C. (2010). [2010: The seventh edition of the TNM classification]. *Ann. Pathol.* 30, 2–6.
- ❖ Scotté, F., Colonna, P., and Andrieu, J.M. (2002). *Cancérologie*, Paris, Ellipses, 335 page :7.
- ❖ Sedivcová, M., Martínek, P., Stehlík, J., et al. (2013). Sequencing - classical method. *Ceskoslovenská Patol.* 49, 122–128.3
- ❖ Sedkaoui, C. (2015). Chimiothérapie et thérapie ciblée dans le cancer colorectal métastatique, thèse de doctorat, Université Mouloud Mammeride Tizi-Ouzou. Faculté de Médecine.
- ❖ Slováková, P., Majerová, L., Matáková, T., et al. (2015). Mismatch repair gene polymorphisms and association with lung cancer development. *Adv Exp Med Biol* 833, 15–22.
- ❖ Slupska, M.M., Baikalov, C., Luther, W.M., et al. (1996). Cloning and sequencing a human homolog (hMYH) of the Escherichia coli mutY gene whose function is required for the repair of oxidative DNA damage. *Journal of Bacteriology.* 178, 3885-92.
- ❖ Srivastava, K., Srivastava, A., and Mittal, B. (2010). Polymorphisms in ERCC2, MSH2, and OGG1 DNA repair genes and gallbladder cancer risk in a population of Northern India. *Cancer* 116, 3160–3169.
- ❖ *Survie des personnes atteintes de cancer en France 1989-2007. Étude à partir des registres des cancers du réseau Francim.*
- ❖ Tariq, K., and Ghias, K. (2016). Colorectal cancer carcinogenesis: a review of mechanisms. *Cancer Biol Med.* 13(1), 120–35.
- ❖ Tomlinson, I.P.M., Houlston, R.S., Montgomery., et al. (2012). Investigation of the effects of DNA repair gene polymorphisms on the risk of colorectal cancer. *Mutagenesis* 27, 219–223.
- ❖ Torrisani, J., and Lopez, F. (2003). Méthylation de l'ADN et régulation épigénétique des cancers *John Libbey Eurotext*, 10 (6), 455-67.

- ❖ Umar, A., Boland, C.R., Terdiman, J.P., et al. (2004). Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J. Natl. Cancer Inst.* 96, 261–268.
- ❖ Vasen, H.F. (2000). Clinical diagnosis and management of hereditary colorectal cancer syndromes. *J.Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 18, 81S–92S.
- ❖ Vasen, H.F., Mecklin, J.P., Khan, P.M., et al. (1991). The International Collaborative Group on Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer (ICG-HNPCC). *Dis. Colon Rectum* 34, 424–425.
- ❖ Vasen, H.F., Watson, P., Mecklin, J.P., et al. (1999). New clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the International Collaborative group on HNPCC. *Gastroenterology* 116, 1453–1456.
- ❖ Viguier, J., Bourlier, P., Karsenti, D., et al. (2003). « Cancer du côlon » *Encycl méd Chir. Gastro-entérologie*, 68(9), 10-18.
- ❖ Watson, P., Vasen, H.F.A., Mecklin, J.-P., et al. (2008). The risk of extra-colonic, extra-endometrial cancer in the Lynch syndrome. *Int. J. Cancer* 123, 444–449.
- ❖ Weisenberger, D.J., Siegmund, K.D., Campan, M., et al. (2006). CpG island methylator phenotype underlies sporadic microsatellite instability and is tightly associated with BRAF mutation in colorectal cancer. *Nat Genet.* 38, 787-93.
- ❖ Weitz, J., Koch, M., Debus, J., et al. (2005) Colorectal cancer. *Lancet* 365, 153-165.
- ❖ Whifn, N., Broderick, P., Lubbe, S.J., et al. (2011). MLH1-93G > A is a risk factor for MS colorectal cancer. *Carcinogenesis* 32, 1157–1161.
- ❖ Willner, J., Wurz, K., Allison, K.H., et al. (2007). Alternate molecular genetic pathways in ovarian carcinomas of common histological types. *Hum Pathol.* 38, 607–13.
- ❖ Win, A.K., Young, J.P., Lindor, N.M., et al. (2012). Colorectal and other cancer risks for carriers and noncarriers from families with a DNA mismatch repair gene mutation : a prospective cohort study. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 30, 958–964.
- ❖ Winawer, S. M., Classen, S., Winawer, M., et al. (2007). *Recommandations pratiques: Dépistage du cancer colorectal.* World Gastroenterol. Organ. Dig. gCancer Alliance.
- ❖ Wollfe, A., and Matzke, M. (1999). Epigenetique: regulation through repression *Science*, 286, 418-6.
- ❖ Worrillow, L.J., Smith, A.G., Scott, K., et al. (2008). Polymorphic MLH1 and risk of cancer after methylating chemotherapy for Hodgkin lymphoma. *J Med Genet.* 45, 142–146.

- ❖ Xiao, X.Q., Gong, W.D., Wang, S.Z., et al. (2012). Polymorphisms of mismatch repair gene hMLH1 and hMSH2 and risk of gastric cancer in a Chinese population. *Oncol Lett* 3, 591–598.
- ❖ Yamagishi, H., Kuroda, H., Imai, Y., et al. (2016). Molecular pathogenesis of sporadic colorectal cancers. *Chinese journal of cancer*, 35, 4.
- ❖ Zahary, M.N., Kaur, G., Abu Hassan, M.R., et al. (2012). Germline mutation analysis of MLH1 and MSH2 in Malaysian Lynch syndrome patients. *World J Gastroenterol* 18, 814–820.
- ❖ Zhi, Y., Yu, J., Liu, Y., et al. (2012). Interaction between polymorphisms of DNA repair genes significantly modulated bladder cancer risk. *Int J Med Sci* 9, 498–505.
- ❖ Ziada-Bouchaar, H. (2016). Etude des gènes de prédisposition aux cancers colorectaux. Thèse de Doctorat. Université des Frères Mentouri, Constantine 1.

Annexes

Annexe I

Classification selon TNM du cancer colorectal (AJCC 7ème édition 2010).

Tumeur primitive (T)	
TX	Impossible d'évaluer la tumeur primitive.
TO	Aucun signe de tumeur.
Tis	Carcinome in situ – tumeur limitée au revêtement interne (épithélium) ou à la couche de tissu conjonctif (lamina propria) de la muqueuse du côlon ou du rectum.
T1	Tumeur envahissant la sous-muqueuse.
T2	Tumeur envahissant la musculature (couche musculaire).
T3	Tumeur envahissant la couche appelée sous-séreuse, qui se trouve entre la musculature et la séreuse, ou bien le tissu entourant le côlon ou le rectum.
T4	Tumeur envahissant directement d'autres organes ou structures ou qui passe à travers (perfore) la membrane qui recouvre l'extérieur des organes (péritoine viscéral). T4a – tumeur qui perfore le péritoine viscéral T4b – tumeur qui envahit directement d'autres organes ou structures, dont d'autres segments du côlon ou du rectum par la séreuse (envahissement du côlon sigmoïde par un carcinome du caecum).
Ganglions lymphatiques régionaux (N)	
NX	Impossible d'évaluer les ganglions lymphatiques régionaux.
NO	Absence de métastases dans les ganglions lymphatiques régionaux.
N1	Présence de métastases dans 1 à 3 ganglions lymphatiques régionaux. N1a – métastases dans 1 ganglion lymphatique régional N1b – métastases dans 2 à 3 ganglions lymphatiques régionaux N1c – nids de cellules cancéreuses (satellites) dans les zones de drainage lymphatique de la sous-séreuse ou dans le tissu qui entoure le côlon ou le rectum sans métastases dans les ganglions lymphatiques régionaux.
	Présence de métastases dans au moins 4 ganglions

N2	lymphatiques régionaux. N2a – métastases dans 4 à 6 ganglions lymphatiques régionaux. N2b – métastases dans au moins 7 ganglions lymphatiques régionaux.
Métastases à distance (M)	
MO	Absence de métastases à distance
M1	Présence de métastases à distance M1a – métastases limitées à 1 organe (foie, poumon ou ovaire par exemple) ou à un ou plusieurs ganglions lymphatiques non régionaux M1b – métastases dans plus de 1 organe ou dans le péritoine

Annexe II

Les stades du cancer colorectal selon la 8ème édition TNM (AJCC / UICC)

Stade	TNM		
	T	N	M
O	Tis	NO	MO
I	T1, T2	NO	MO
II	T3, T4	NO	MO
IIA	T3	NO	MO
IIB	T4a	NO	MO
IIC	T4b	NO	MO
III	Quel que soit T	N1, N2	MO
IIIA	T1, T2	N1	MO
	T1	N2a	
IIIB	T3, T4a	N1	MO
	T2, T3	N2a	
	T1, T2	N2b	
IIIC	T4a	N2a	MO
	T3, T4a	N2b	
	T4b	N1, N2	

IVA	Quel que soit T	Quel que soit N	M1a
IVB	Quel que soit T	Quel que soit N	M1b

Annexe III

Critères d'Amsterdam établis par l'International Collaborative Group (ICG-SL)

Critères d'Amsterdam I (vasen et *al.*, 1991)

Une famille comportant au moins 3 parents atteints de CCR histologiquement (spectre étroit du SL) prouvé et présentant tous les critères suivants :

- L'un des parents atteints est apparenté au 1^{er} degré avec les deux autres.
- Au moins deux générations successives sont atteintes
- Au moins un des diagnostics de CCR est porté avant l'âge de 50 ans.
- Une polypose adénomateuse familiale doit être exclue.

Critères d'Amsterdam II (vasen et *al.*, 1999)

- Cancers colorectaux ou du « spectre étroit » du syndrome HNPCC (endomètre, urothélium, intestin grêle) diagnostiqués chez au moins 3 apparentés.
- Un individu atteint apparenté au premier degré aux 2 autres
- Au moins 2 générations successives atteinte
- Diagnostic à un âge inférieur à 50 ans chez au moins un des sujets atteints
- Exclusion du diagnostic de polypose adénomateuse

Annexe IV

Les critères de Bethesda impliquant dans le syndrome de Lynch.

Critères de Bethesda I (Rodriguez-Bigas et *al.*, 1997)

- Cancer diagnostiqué chez un individu issu d'une famille « validant » les critères d'Amsterdam
- Cancer colorectal diagnostiqué chez un individu avec antécédent personnel de cancer colorectal ou du spectre HNPCC, synchrone ou métachrone, quels que soient les âges au diagnostic.
- Cancer colorectal diagnostiqué chez un individu ayant au moins un apparenté au premier degré atteint d'un cancer du spectre HNPCC diagnostiqué à un âge inférieur à 50 ans ou d'adénome colorectal diagnostiqué à un âge inférieur à 40 ans.
- Cancer colorectal ou cancer de l'endomètre diagnostiqué à un âge inférieur à 45

ans.

- Cancer du côlon « proximal », d'architecture « médullaire/cribriforme » diagnostiqué à un âge inférieur à 45 ans.
- Cancer colorectal avec cellules de type « signet-ring » diagnostiqué à un âge inférieur à 45 ans.
- Adénome colorectal diagnostiqué à un âge inférieur à 40 ans.
- Cancer colorectal diagnostiqué chez un individu ayant au moins 2 apparentés au premier ou au deuxième degré atteint d'un cancer du spectre HNPCC quels que soient les âges au diagnostic.

Critères de Bethesda révisés (umer et *al.*, 2004)

- Cancer colorectal diagnostiqué à un âge inférieur à 50 ans
- Cancer colorectal diagnostiqué chez un individu avec antécédent personnel de cancer colorectal ou du spectre HNPCC, synchrone ou métachrone, quels que soient les âges au diagnostic
- Cancer colorectal avec caractéristiques anatomopathologiques évocatrices (faible degré de différenciation, architecture de type « médullaire/cribriforme », infiltration lymphocytaire dense du stroma tumoral) diagnostiqué à un âge inférieur à 60 ans.
- Cancer colorectal diagnostiqué chez un individu ayant au moins un apparenté au premier degré atteint d'un cancer du spectre HNPCC diagnostiqué à un âge inférieur à 50 ans
- Cancer colorectal diagnostiqué chez un individu ayant au moins 2 apparentés au premier ou au deuxième degré atteint d'un cancer du spectre HNPCC quels que soient les âges au diagnostic.

Annexes V

Les étapes de l'extraction de l'ADN :

1- Préparation des leucocytes

- Dans un tube Falcon de 50 ml, mettre le sang total (7-10 ml) et compléter à 45 ml avec du TE 20 :5. Laisser 10 min dans la glace.
- Centrifuger 15 min à 3900 g (3900 rpm).
- Déverser le surnageant prudemment afin de garder le culot leucocytaire précipité au fond de tube.

- Rajouter le TE 20:5 au culot jusqu'à 25-30 ml, agiter pour le remettre en suspension et laisser 10 min dans la glace.
- Centrifuger dans les mêmes conditions précédentes.g
- Déverser le surnageant : obtention d'un culot de leucocytes. (Si on s'arrête à ce niveau, les mettre dans un tube nunc de 1.5 ml avec du TE 10 :1 et les conserver à -20°C dans un congélateur).

2- Extraction de l'ADN

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

Les étapes de la G50

Mode opératoire :

Préparer la plaque de purification :

- Déposer la résine Sephadex G50 dans chaque puit (45µl) du chargeur de colonne ;
- Retirer l'excès de résine avec la raclette
- Placer la plaque MultiScreen HV à l'envers sur le chargeur jusqu'au butoir et retourner l'ensemble
- Taper sur le chargeur pour évacuer la résine vers la plaque
- Placer la plaque MultiScreen HV sur une plaque de microtitration
- Ajouter 290 µl d'eau ultrapure dans chaque puit
- Remettre le couvercle et laisser gonfler 2 heures à température ambiante

A ce stade les plaques peuvent être conservées à 4°C 2 jours.

Procéder à la purification :

- Centrifuger à 2450 tours/min pendant 5 min (à 18°C) l'ensemble du montage pour éliminer l'eau et compacter les mini colonnes.
- Vider la plaque de microtitration
- Transférer délicatement les produits PCR au centre des colonnes sans toucher le gel.
- Centrifuger à 2450 tours/min pendant 5 min à 18°C
- Transférer le produit purifié sur une plaque adaptée à l'appareil du séquençage

Résumé

Le cancer colorectal héréditaire sans polyposique (HNPCC) ou syndrome de Lynch (SL), représente la forme héréditaire la plus fréquente de tous les CCRs avec un mode de transmission autosomique dominant. Ce syndrome se caractérise par le développement du CCR, mais également d'autres tumeurs en particulier celui de l'endomètre. Le SL est dû à des mutations constitutionnelles affectant les gènes du système de réparation des mésappariements (MMR), dont *MSH2* et *MLH1* sont les plus touchés. Certains polymorphismes dans les promoteurs de ces gènes semblent avoir une liaison avec un risque élevée de cette pathologie.

L'objectif notre travail est de détecter le polymorphisme -93A>G sur le promoteur de *MLH1* pour évaluer son association avec le risque de CCR chez des familles SL de l'Est algérien.

Nous avons effectué une démarche statistique comportant les caractéristiques cliniques, généalogiques et moléculaire dans 16 familles répondant aux critères d'Amsterdam et de Bethesda. L'analyse moléculaire a été réalisée par séquençage direct de l'exon 1 de *MLH1* et les parties introniques adjacentes.

L'âge moyen de l'atteinte est 45 ans avec prédominance masculine (62%). Ainsi qu'une fréquence élevée de l'atteinte maligne du rectum (44%) par rapport aux autres parties du colon et une prédominance de stade III de la tumeur. Les critères d'Amsterdam I / II sont présents chez 37% de nos famille ayant un SL. Le SNP c.-93G> A a été détecté chez deux patientes Bethesda dans notre série d'étude, à un âge précoce moins de 30 ans.

L'implication probable de ce polymorphisme dans le risque de survenue de CCR ne peut être confirmée qu'en continuité de ce travail dans l'avenir afin d'étudier une cohorte de plus grand effectif de sujets. Cela ouvre des perspectives en matière d'établir une stratégie de dépistage et de prévention de ce type de cancer.

ملخص

سرطان القولون والمستقيم الوراثي بدون داء البوليبات أو متلازمة لينش ، يمثل الشكل الوراثي الأكثر شيوعًا لجميع سرطانات القولون والمستقيم مع طريقة انتقال سائدة جسمية. تتميز هذه المتلازمة بتطور سرطان القولون والمستقيم ، وكذلك الأورام الأخرى ، لا سيما سرطان بطانة الرحم. تحدث متلازمة لينش بسبب الطفرات البنيوية في جينات نظام إصلاح عدم التطابق ، والتي تكون MSH2 و MLH1 هي الأكثر تأثرًا. يبدو أن بعض الأشكال المتعددة في محفزات هذه الجينات لها صلة بخطر كبير للإصابة بهذا المرض.

الهدف من عملنا هو اكتشاف تعدد الأشكال -A93 < G على مروج MLH1 لتقييم ارتباطه بخطر الإصابة بسرطان القولون والمستقيم في عائلات متلازمة لينش من شرق الجزائر.

أجرينا نهجًا إحصائيًا بما في ذلك الخصائص السريرية والأنساب والجزئية في 16 عائلة تستوفي معايير أمستردام وبيثيسدا. تم إجراء التحليل الجزيئي عن طريق التسلسل المباشر لـ exon 1 من MLH1 وشقوق intron المجاورة.

متوسط عمر الهجوم 45 سنة غالبية من الذكور (62%). وكذلك ارتفاع معدل الإصابة الخبيثة بالمستقيم (44%). مقارنة بأجزاء أخرى من القولون وغلبة المرحلة الثالثة من الورم. معايير أمستردام I / II موجودة في 37% من عائلاتنا مع SL. تم اكتشاف A SNP < c-93G في اثنين من مرضى Bethesda في سلسلة دراستنا ، في سن مبكرة أقل من 30 عامًا.

لا يمكن تأكيد التضمين المحتمل لهذا تعدد الأشكال في خطر حدوث سرطان القولون والمستقيم إلا من خلال مواصلة هذا العمل في المستقبل من أجل دراسة مجموعة مع عدد أكبر من الأشخاص هذا يفتح الأفاق لإنشاء استراتيجيات الفحص والوقاية لهذا النوع من السرطان.

Abstract

Hereditary non-polytopic colorectal cancer (HNPCC) or lynch syndrome (SL), represents the most common hereditary form of all CRCs with an autosomal dominant mode of transmission. This syndrome is characterized by the development of CRC, but also other tumors, in particular that of the endometrium. SL is caused by constitutional mutations in the mismatch repair system (MMR) genes, of which MSH2 and MLH1 are most affected. Certain polymorphisms in the promoters of these genes seem to have a link with a high risk of this pathology.

The objective of our work is to detect the -93A> G polymorphism on the *MLH1* promoter to assess its association with the risk of CRC in SL families from eastern of Algeria.

We performed a statistical approach including clinical, genealogical and molecular characteristics in 16 families meeting the Amsterdam and Bethesda criteria. Molecular analysis was performed by direct sequencing of exon 1 of MLH1 and adjacent intron moieties.

The average age of the attack is 45 years, predominantly male (62%). As well as a high frequency of malignant involvement of the rectum (44%) compared to other parts of the colon and a predominance of stage III tumor. The Amsterdam I / II criteria are present in 37% of our families with SL. The c-93G> A SNP was detected in two Bethesda patients in our study series, at an early age less than 30 years.

The probable implication of this polymorphism in the risk of occurrence of CRC can only be confirmed by continuing this work in the future in order to study a cohort with a larger number of subjects. This opens up prospects for establishing a screening and prevention strategy for this type of cancer.

Année universitaire : 2020/2021

Présentée par : righi safa et djebar imene

Recherche de polymorphisme c. -93G> A sur le gène *MLH1* dans le Syndrome de Lynch chez des familles algériennes

Thèse présentée en vue de l'obtention du diplôme de Mastère en Science

Le cancer colorectal héréditaire sans polyposique (HNPCC) ou syndrome de lynch (SL), représente la forme héréditaire la plus fréquente de tous les CCRs avec un mode de transmission autosomique dominant. Ce syndrome se caractérise par le développement du CCR, mais également d'autres tumeurs en particulier celui de l'endomètre. Le SL est dû à des mutations constitutionnelles affectant les gènes du système de réparation des mésappariements (MMR), dont *MSH2* et *MLH1* sont les plus touchés. Certains polymorphismes dans les promoteurs de ces gènes semblent avoir une liaison avec un risque élevée de cette pathologie.

L'objectif notre travail est de détecter le polymorphisme -93A>G sur le promoteur de *MLH1* pour évaluer son association avec le risque de CCR chez des familles SL de l'Est algérien.

Nous avons effectué une démarche statistique comportant les caractéristiques cliniques, généalogiques et moléculaire dans 16 familles répondant aux critères d'Amsterdam et de Bethesda. L'analyse moléculaire a été réalisée par séquençage direct de l'exon 1 de *MLH1* et les parties introniques adjacentes.

L'âge moyen de l'atteinte est 45 ans avec prédominance masculine (62%). Ainsi qu'une fréquence élevée de l'atteinte maligne du rectum (44%) par rapport aux autres parties du colon et une prédominance de stade III de la tumeur. Les critères d'Amsterdam I / II sont présents chez 37% de nos famille ayant un SL. Le SNP c.-93G> A a été détecté chez deux patientes Bethesda dans notre série d'étude, à un âge précoce moins de 30 ans.

L'implication probable de ce polymorphisme dans le risque de survenue de CCR ne peut être confirmée qu'en continuité de ce travail dans l'avenir afin d'étudier une cohorte de plus grand effectif de sujets. Cela ouvre des perspectives en matière d'établir une stratégie de dépistage et de prévention de ce type de cancer.

Mots-clés : Familles algériennes- HNPCC - Syndrome de Lynch- *MLH1*- gènes MMR.

Laboratoire de recherche : Biologie et génétique moléculaire.

Dates de soutenance
23/09/2021

