

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Constantine 1



Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département de Biologie Animale



N° d'ordre :

Série :

Mémoire

Pour l'obtention du diplôme

Master II en Génétique Moléculaire

Option : GENETIQUE DES CANCERS

THÈME

**Implication du polymorphisme du gène de l'enzyme de
conversion de l'angiotensine dans le cancer
du col de l'utérus**

Présenté Par : **BOUTEMINE ALA EDDINE**

KARA Mohamed ACHRAF

Soutenue le : **25/06/2014**

Devant la commission d'examen :

Dr CHELLAT D

Président

Mme SEMMAM O

Encadreur

Melle SEDRATI K

Examineur

2013/2014

Remerciements

Ce travail a été réalisé au centre hospitalier universitaire Benbadis CHUC.

*Nos remerciements les plus sincères s'adressent à Madame. **O. SEMMAME**, maître assistante à l'Université Constantine 1, trouve ici l'expression de nos vifs remerciement, non seulement pour avoir accepté d'assurer l'encadrement de notre mémoire de master mais aussi pour sa disponibilité, sa patience et sa rigueur scientifique.*

*Nous sommes infiniment reconnaissants à Madame. **D. SATT**A, professeur à l'université Constantine 1, pour sa gentillesse, sa confiance, sa disponibilité, sa patience et ses remarques pertinentes qui nous ont poussées à donner le meilleur de nous même. Ce travail n'aurait pu aboutir sans l'aide précieuse et les conseils prodigués qu'elle nous a fourni tout au long de notre travail.*

*Nous sommes très honorés que Madame **D. CHELLAT**, docteur à l'université Constantine 1 ait accepté la présidence de ce jury et nous la remercier vivement.*

*Nos sincères remerciements à Madame **K. SEDRATI**, maître assistante à l'université Constantine 1, pour sa présence parmi les membres de jury, pour le temps qu'elle a consacré pour lire ce mémoire et pour avoir accepté de juger ce travail.*

Nous tenons à remercier tous les enseignants de département de biologie animale.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin pour réaliser ce travail.

La liste des abréviations

ADN: acide désoxyribonucléique

AngII : angiotensine II

AT1R: récepteur pour angiotensine

AT2R: récepteur pour angiotensine

CIS: cancer in situ

CMH: complexe majeur d'histocompatibilité

ECA: enzyme de conversion angiotensine

ESMO: européenne society for medical oncology

ET-1: endothéline I

FCU: frottis cervico-utérin

G1/S: Gap 1 de la phase S (synthèse)

HLA: humaneleucoocyteantigène

HPV – BR: papillomavirusbasrisqueoncogène

HPV – HR: papillomavirus haut risque oncogène

HPV: papillomavirus humain

HSV: herpès simplex virus

IST: infections sexuellement transmissibles

LCR: long control region

ORI: origine de réplication

PKA: protéine kinase dépendante de l'AMPc.

PKN: protéine kinase N

URR: upstreamregulatoryregion

VIIH: virus de l'immunodéficiencehumain

La liste des figures

Figure 1 : appareil génitale féminine (Omar Qasmieh, 2012).....	03
Figure 2 : configuration interne de l'utérus (FMM ,2007).....	04
Figure 3 : Schéma de PVH Source : http://inature.canalblog.com/images/20051213_01.gif	13
Figure 4 : Représentation schématique du génome de HPV-16	14
Figure 5 : Etapes de pénétration du virus dans la cellule puis dans le noyau (Pereira, 2009).....	17
Figure 6 : cycle viral d'HPV (Roquille, 2009).....	19
Figure 7 : Représentation schématique de 16E6 (Chakrabarti and Krishna, 2003).....	19
Figure 8 : Structure schématique du dimère d'E7 du génotype 1A (d'après (Liu et al. 2006).....	21
Figure 9 :E7 et cycle cellulaire (Jones et al, 1997).....	22
Figure 10 : Principales voies de signalisation intracellulaire, couplées aux récepteurs de l'endothéline 1 (ET-1) et de l'angiotensine II (AngII), impliquées dans la progression tumorale. (S. Cazaubon, 2005).....	26
Figure 11 : le thermocycleur	31
Figure 12 : la cuve pour l'électrophorèse.....	32
Figure 13 : Profil électrophorétique des fragments amplifiés par PCR du gène ECA 1 (287 Pb) sur gel d'agarose 1.5%.....	33
Figure 14 : Profil électrophorétique des fragments D/D amplifié dans la premier PCR du gène ECA 2sur gel d'agarose 1.5%.....	35
Figure 15 : Répartition des sujets avec un cancer du col de l'utérus selon l'âge	36
Figure 16 : répartition des femmes avec un cancer du col de l'utérus selon l'âge du mariage.....	37
Figure 17 : Répartition des malades en fonction de l'âge de la première grossesse.....	38
Figure 18 : Répartition des malades en fonction de nombre de grossesse	38
Figure 19 : Répartition des malades et témoin selon la situation familiale.....	39
Figure 20 : la répartition des malades selon le type histologique du cancer du col de l'utérus.....	40
Figure 21 : la répartition des malades selon le stade clinique	41

Sommaire

Introduction	1
---------------------------	---

Chapitre I : Le cancer du col de l'utérus

I. L'appareil génital féminin	3
1. L'utérus	3
2. Le col utérin	4
1.2.1. Description du col de l'utérus.....	4
2.2. Les dimensions moyennes	4
2.3. Histologie du col de l'utérus	4
2.4. Le rôle du col de l'utérus.....	5
3. Le cancer du col de l'utérus	5
3.1. Définition du cancer du col de l'utérus	5
3.2. Epidémiologie	5
3.3. Les types du cancer du col de l'utérus.....	6
4. Cause et facteurs de risque du cancer du col de l'utérus	9
4.1. L'infection par HPV	9
4.2. Le comportement sexuel.....	10
4.3. L'infection par HIV	10
4.4. Le tabagisme	10
4.5. La contraception orale	10
4.6. Niveau socio-économique.....	11
4.7. Les facteurs endogènes	11
4.8. Antécédents familiaux du cancer du col de l'utérus	11
5. Les symptômes du cancer du col de l'utérus	12

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

II. Le papillomavirus humain	13
1. Description.....	13
2. Organisation structurale et génomique des papillomavirus humains	13
3. Classification des HPV	14
3.1. Classification selon l'analyse phylogénique.....	15
3.2. Classification selon le pouvoir cancérogène.....	15
4. Mode de transmission des HPV	15
4.1. Transmission sexuelle de l'HPV.....	16
4.2. Transmission non sexuelle de HPV	16

Sommaire

5. Cycle viral.....	16
5.1. Pénétration du virus dans la cellule	16
5.2. La réplication du virus	17
5.3. Assemblage des virions	18
6. L'oncoprotéine E6 et carcinogénèse.....	19
6.1. Structure d'E6.....	19
6.2. Activité biologique d'E6.....	20
7. L'oncoprotéine E7 et carcinogénèse.....	21
7.1. Structure d'E7	21
7.2. Activité biologique d'E7.....	22

Chapitre III : Enzyme de conversion de l'angiotensine

III. L'ENZYME DE CONVERSION DE L'ANGIOTENSINE ..	Erreur ! Signet non défini. 3
1. Localisation du gène d'ECA.....	Erreur ! Signet non défini. 3
2. Le polymorphisme génétique du gène de l'ECA.....	Erreur ! Signet non défini. 4
3. L'ECA et la carcinogénèse	Erreur ! Signet non défini. 4
3.1. Expression de système angiotensine II dans les tumeurs	Erreur ! Signet non défini. 5
3.2. Mécanismes d'action de l'angiotensine II sur la croissance tumorale et l'angiogénèse	Erreur ! Signet non défini. 5

Chapitre IV : Matériels et Méthodes

1. Population d'étude	28
1.1. Population témoin	28
1.2. Population malade.....	28
2. Méthode de travail	29
2.1. Le recueil des données	29
2.2. Prélèvement sanguin	29
3. Etude moléculaire	29
3.1. Extraction d'ADN	29
3.2. Recherche du polymorphisme 16 ins/del du gène ECA.....	30
3.2.1. Amplification par PCR (Polymérase Chaîne Réaction)	31
3.2.2. La deuxième Amplification par PCR (Polymérase Chaîne Réaction).....	33
3.3. Profils obtenus.....	33

Introduction

Le cancer du col de l'utérus est le deuxième cancer de la femme dans le monde (Parkin DM, 1982). Dans de nombreux pays de l'Amérique du sud et de l'Afrique, il représente même la première cause de mortalité par cancer et sa fréquence ne cesse de croître. En revanche, dans la majorité des pays développés, le cancer du col de l'utérus est moins fréquent et accuse même une nette régression attribuée pour une part aux efforts intenses de dépistage précoce.

Auparavant, de nombreux facteurs de risque ont été rapportés pour être associés à la survenue d'un cancer du col. Parmi ces facteurs, le virus de papillome humain (HPV) est considéré comme un facteur étiologique dans le cancer du col utérin. Le tabac, l'âge précoce des rapports sexuels ou de grossesse, plusieurs partenaires sexuels et l'avortement trop de fois sont également identifiés comme des facteurs de risque pour le développement du cancer du col utérin (Schiffman M, 2007). Même si le rôle crucial de ces facteurs dans le développement du cancer du col est discuté, les mécanismes cellulaires et moléculaires dans l'étiopathogénie sont largement inconnus. Les récentes découvertes dans le domaine des oncogènes et l'application des techniques de biologie moléculaire à la clinique ont donné un nouvel essor à la recherche de nouveaux marqueurs biologiques (Gonzalez Zuloeta Ladd AM, 2005).

Le système rénine-angiotensine (SRA) est un élément important du système endocrinien et de circulation dans le corps humain, qui peut ajuster la pression artérielle par action sur la tension vasculaire, la dynamique de la circulation sanguine dans les reins et l'équilibre électrolytique, et est étroitement liée à la prolifération des cellules endothéliales et des interactions de nombreuses cytokines (Koh WP, 2003). L'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) est une enzyme clé du SRA, qui peut convertir l'angiotensine I (Ang I) en un peptide actif qui est l'angiotensine II (Ang II) (Carl-McGrath S, et al., 2007). Ce dernier possède un pouvoir vasoconstricteur puissant. D'autre part l'ECA est également impliquée dans l'inactivation de la bradykinine qui est un vasodilatateur (Sugimoto M, Furuta T, 2006).

Le gène codant pour l'enzyme de conversion de l'angiotensine est localisé sur le bras long du chromosome 17 (17q23) et est composé de 26 exons et 25 introns. Le clonage du gène de l'ECA a rendu possible l'identification d'un polymorphisme d'insertion (I) ou de délétion (D), consistant en la présence ou l'absence d'un segment de 287 paires de bases au niveau de l'intron 16 de ce gène (Röcken C, 2005). Ce polymorphisme a été associé à la variation du taux plasmatique de l'ECA expliquant près de 40% de la variance de ce taux et par conséquent à la concentration plasmatique de l'angiotensine II. En effet, les sujets porteurs de l'allèle D

Introduction

présentent un taux plasmatique de l'enzyme de conversion augmenté par rapport aux porteurs de l'allèle I (Medeiros R, 2004).

Des études antérieures ont montré l'implication du polymorphisme insertion/délétion de l'ECA et le risque accru de développement du cancer et d'autres maladies de l'appareil reproducteur, y compris le cancer du sein, le cancer gastrique, le cancer de la prostate et les fausses couches récurrentes (Al Sallout RJ, 2010). Selon ces rapports, le polymorphisme de l'ECA affecte les concentrations plasmatiques et l'activité de l'AngII qui peut favoriser la prolifération des cellules de cancer par combinaison avec le récepteur de l'angiotensine II (AT1R). La combinaison de l'Angiotensine II et AT1R peut également induire une augmentation de la formation d'oxyde nitrique (NO) et des molécules d'adhésion de la cellule qui sont tous deux en rapport avec la croissance de la tumeur et la métastase.

Plusieurs études épidémiologiques ont évalué le polymorphisme insertion/délétion de l'ECA dans plusieurs cancers humains (Jun-Ge Han et al., 2012), mais jusqu'à 2012 les mécanismes d'implication de ce polymorphisme dans le cancer du col de l'utérus sont restés inexplorés. Par conséquent, dans cette étude nous avons assignés comme objectifs d'explorer les facteurs de risques les plus courants chez les sujets avec un cancer du col de l'utérus, et démontrer une possible association entre un nouveau marqueur génétique qui est le polymorphisme insertion/délétion de l'ECA et la carcinogenèse du col utérin.

I. L'appareil génital féminin

L'appareil génital féminin est constitué des organes génitaux externes et internes :

Les organes génitaux externes comprennent :

- le vagin et la vulve qui sont les organes de la copulation.
- les glandes mammaires sont les organes de la lactation

Les organes génitaux internes comprennent :

- des glandes élaborant les gamètes femelles : les ovaires ;
- deux conduits amenant les ovules jusqu'à l'organe de la nidation : les trompes utérines ou trompes de Fallope.
- l'organe de la nidation et la gestation où se développe l'ovule fécondé : l'utérus (corps et col) (La Ligue 101 Comites, 2009).

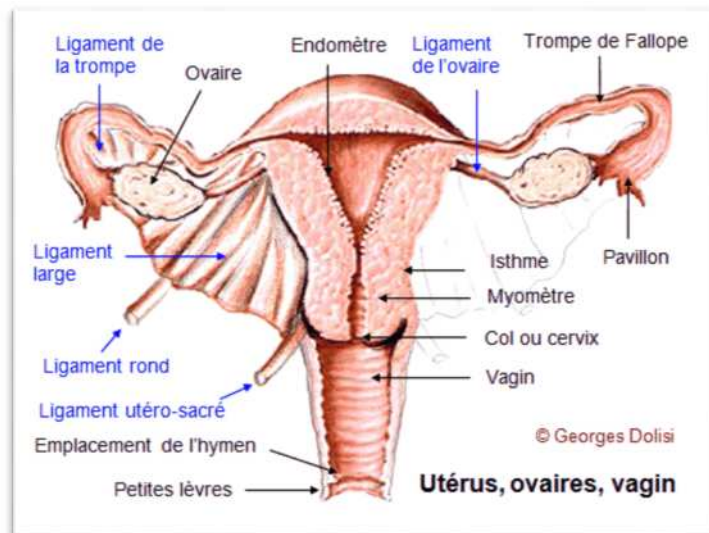


Figure 1 : *appareil génitale féminine (Omar Qasmieh, 2012).*

1. L'utérus

C'est un organe médian, impair. Il est situé dans le petit bassin, entre la vessie et le rectum. Il a la forme d'un tronc de cône à sommet inférieur. Il 'isthme est appelée le corps de l'utérus. Il à une forme conique, aplatie dans le sens antéropostérieur. La deuxième partie située sous l'isthme est le col utérin (Omar Qasmieh, 2012) (UMaF, 2011).

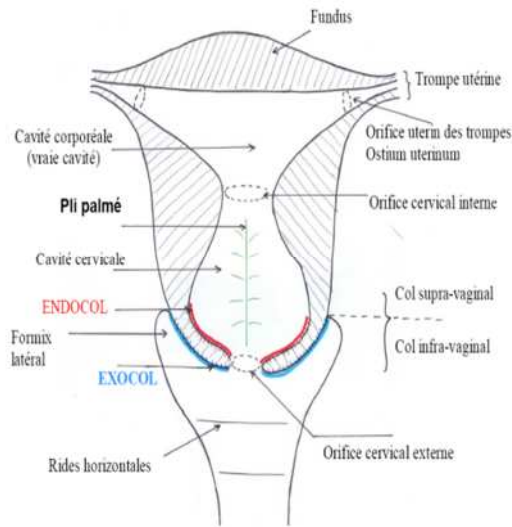


Figure 2 : configuration interne de l'utérus (FMM ,2007).

2. Le col utérin

2.1. Description du col de l'utérus

Il est cylindrique, un peu renflé a sa partie moyenne et sera divisé en deux parties par la zone d'insertion du vagin : une partie supra vaginale qui prolonge le col et est visible dans la cavité pelvienne, une partie intra vaginale visible au spéculum et palpable par touché vaginal et rectal. Cette extrémité intra vaginale est percée par un orifice à sa partie inférieure ; l'orifice externe du col. Il se prolonge à l'intérieur de l'utérus par une cavité ; le canal cervical (Omar Qasmieh, 2012).

2.2. Les dimensions moyennes

L'utérus pèse environ 50 grammes chez la nullipare et 70 grammes chez la multipare. Le col fait environ 1/5 de l'organe et mesure 2 à 3 cm de longueur, 2 à 3 cm d'épaisseur avec un canal cervical de 2 à 3 mm de diamètre

2.3. Histologie du col de l'utérus

Le col utérin est constitué de l'exocol et endocol , doubler par deux types d'épithéliums : Un épithélium malpighien non kératinisé, pluristratifié, de siège exocervical et un épithélium glandulaire constitué par les cellules cylindriques muco- sécrétantes, uni stratifié, de siège endocervical. Ces deux épithéliums s'affrontent au niveau de la zone de jonction (transformation) exocol-endocol (FMPIFO, 2009).

2.4. Le rôle du col de l'utérus

Le col de l'utérus est un lieu de passage, au moment des règles, il laisse passer le sang des règles, qui s'écoule vers le vagin et l'extérieur. Après un rapport sexuel, le col laisse remonter le liquide séminal contenant les spermatozoïdes vers le corps de l'utérus puis vers les trompes et les ovaires pour éventuellement féconder un ovule. A la fin de la grossesse le col utérin se modifie, et quand arrive le moment de l'accouchement, il s'efface complètement pour laisser passer le bébé et permettre la naissance.

3. Le cancer du col de l'utérus

3.1. Définition du cancer du col de l'utérus

Le cancer du col de l'utérus correspond au développement d'une tumeur maligne au sein de ses tissus. C'est un cancer sexuellement transmissible impliquant un virus : le virus HPV (Human Papilloma Virus) d'un type particulier « dit à haut risque » (ou oncogène) (Nicolas Duport, 2007). C'est une pathologie d'évolution lente (Attal, 2012). Sur une quinzaine d'années, les lésions précurseurs de cette pathologie débutent généralement à la jonction entre les muqueuses épidermoïde et glandulaires du col de l'utérus. Il met donc cette zone en perpétuel remaniement, car elle correspond à un site privilégié d'infection par les papillomavirus (Sophie Isautier, 2012).

3.2. Epidémiologie

Le cancer du col de l'utérus est un des cancers de la femme les plus meurtriers dans le monde. Ce sont les pays les plus défavorisés qui sont les plus touchés par cette maladie. En effet, il existe un réel contraste entre les pays "riches" et les pays "pauvres" qui s'explique par le développement de stratégies de dépistage et de prises en charge thérapeutiques efficaces dans les pays industrialisés (Sophie Isautier, 2012).

➤ Situation dans le monde

Le cancer du col de l'utérus représente environ 10 % de la totalité des cancers dans le monde (Charlotte B, 2009). Il fait encore près d'un demi-million de femmes victimes par an à l'échelle mondiale, avec 493 000 nouveaux cas estimés en 2002 et plus de 500 000 en 2005 (Sophie Isautier, 2012).

En 2005, sur les 260 000 décès qui lui sont imputables, 85 % ont eu lieu dans les pays en développement (Duport N, 2007).

Le taux d'incidence de ce cancer n'a cessé de diminuer entre 1980 et 2005, avec un taux de décroissance de 2,9% par an. Dans le même temps le taux de mortalité a diminué en moyenne de 4% par an. Toutefois cette décroissance a tendance à se ralentir. Il faut savoir que l'incidence de la maladie varie en fonction de l'âge et de la catégorie socioprofessionnelle, l'incidence augmente jusqu'à 40 ans, puis diminue et le risque de mortalité augmente jusqu'à 50 ans pour diminuer ensuite. En moyenne, l'âge au diagnostic est 51 ans. Le dépistage est recommandé pour toutes les femmes entre 25 et 65 ans avec un intervalle de 3 ans entre chaque FCU, si tous les FCU étaient normaux (Attal, 2012).

L'incidence de ce cancer est très inégale selon les pays et ce en faveur des pays industrialisés. L'Amérique centrale et l'Amérique du Sud, les Caraïbes, l'Afrique Sub-saharienne et certaines régions d'Océanie et d'Asie sont les plus touchées et sont également parmi les régions les plus pauvres du monde. Ceci s'explique par le manque de moyens de ces pays, où le dépistage et le traitement des lésions précancéreuses sont insuffisants. Ainsi, le risque d'être atteint d'un cancer du col utérin au cours de la vie est estimé à 4 % dans les pays en voie de développement et est inférieur à 1 % dans les pays industrialisés (Sophie Isautier, 2012).

➤ **Situation en Algérie**

En Algérie le cancer du col de l'utérus est classé au cinquième rang selon les données d'incidence dans le monde (Hamdi Cherif, 2010). Ce cancer touche entre 75 000 et 100 000 personnes annuellement. Environ 1400 nouveaux cas sont diagnostiqués chaque année. Il n'est le plus souvent découvert qu'à un stade avancé car souvent le diagnostic est établi tardivement, rendant les chances de guérison très minimes. En Algérie comme dans les autres pays en développement, le cancer du col utérin représente la deuxième localisation cancéreuse après le cancer du sein (Echo Algérie, 2013)

3.3. Les types de cancer du col de l'utérus

Histologiquement il existe trois types de lésions néoplasiques qui peuvent être observées au niveau du col : les carcinomes épidermoïdes qui représente entre 85 et 90% des cancers du col utérin. Les adénocarcinomes ne concernent que 8 à 12% des cas. Les autres formes histologiques comme les sarcomes, les mélanomes, les cancers à cellules claires, sont rares (Gerbaulet *et al.*, 1997).

3.3.1. Carcinome épidermoïde

Il se développe à partir de l'exocol

a. Carcinome in situ

Pour les carcinomes épidermoïdes in situ du col utérin, l'épithélium est désorganisé sur toute sa hauteur dans la zone de jonction. Les cellules malignes occupent l'épithélium sur une certaine surface mais ne franchissent pas la membrane basale (Bernard P, 1999). Depuis les années 70, une augmentation significative du nombre de cancers in situ chez les femmes de moins de 40 ans a été mise en évidence dans les pays où le dépistage est organisé. En ce qui concerne le carcinome épidermoïde in situ en particulier, 85% des cas sont détectés chez des femmes de moins de 45 ans (Barasso R, 1995).

b. Carcinome micro-invasif

Dans le carcinome micro-invasif, il existe une rupture de la membrane basale et une invasion stromale par les cellules malignes. Le potentiel métastatique de la lésion est encore limité, il augmente avec l'étendue de la lésion, La profondeur de l'invasion et l'envahissement des espaces vasculaires et lymphatiques. Dans le cancer micro-invasif, avec une profondeur d'invasion inférieure à 3 mm, le risque d'envahissement ganglionnaire est pratiquement nul. Dans le carcinome micro-invasif, avec une extension comprise entre 3 et 5 mm de profondeur, le risque de l'atteinte ganglionnaire est de l'ordre de 1 à 8% (Hoffstelter S *et al.*, 1994).

L'étude anatomopathologique d'une pièce de conisation est nécessaire et suffisante pour établir le diagnostic de carcinome épidermoïde micro-invasif (Le Cru F *et al.*, 1997).

Le carcinome épidermoïde micro-invasif touche essentiellement la femme jeune, d'âge moyen de 35 ans, en période d'activité génitale (Hoffstelter S *et al.*, 1994 ; Reich O *et al.*, 2001). Les facteurs pronostiques des carcinomes micro-invasifs sont: l'extension aux paramètres, l'atteinte ganglionnaire et les embolslympho-vasculaires (Le Cru F *et al.*, 1997).

c. Carcinome invasif

Il représente l'immense majorité des cas (85-90%). Tout d'abord apparaît une zone péri-orificielle, indurée, granuleuse, iodo-négative et saignant facilement. Elle va évoluer vers l'une des modalités suivantes :

- La forme bourgeonnante, plus ou moins volumineuse, friable et hémorragique.
- La forme infiltrante, avec un col augmenté de volume et infiltré.
- Et la forme ulcérate, avec un cratère plus ou moins volumineux, hémorragique, à base indurée.

Dans certains cas l'origine du cancer se situe dans l'endocol avec une infiltration massive circonférentielle de 5 à 6 cm ou plus, réalisant le tableau du cancer en barillet (Gerbaulet *et al.*, 1997).

3.3.2. Adénocarcinome

Ce type de cancer se développe à partie du lendocol.

a. Adénocarcinome in situ

L'adénocarcinome in situ du col utérin est une lésion cancéreuse débutante développée à partir des glandes endo cervicales qui sont contiguës à la zone de jonction. Cette lésion est souvent associée à un néoplasie malpighienne intra épithéliale du col utérin. Les anomalies cellulaires « noyaux allongés, hyper chromatiques, nucléoles et siège de mitoses », sont retrouvées au niveau des récessus glandulaires endo cervicaux, sans invasion stromale (Naima El Aarji, 2006).

b. Adénocarcinome micro-invasif

L'adénocarcinome micro-invasif est défini par une infiltration du stroma. La distinction entre adénocarcinome in situ et adénocarcinome micro-invasif est alors très difficile. la profondeur et le degré d'infiltration sont également très difficiles à apprécier. Les facteurs pronostiques sont : la taille tumorale, le degré d'invasion, l'atteinte ganglionnaire et le type de chirurgie proposée (Webb JC *et al.*, 2001).

c. Adénocarcinome invasif

Depuis quelques années, la prévalence des adénocarcinomes infiltrants du col semble augmentée surtout chez la femme jeune de moins de 35 ans (Martel P *et al.*, 2000). Il représente environ 15 à 20% des tumeurs cervicales utérines (Naima El Aarji, 2006).

L'adénocarcinome peut avoir plusieurs aspects morphologiques : exophytique, plat glandulaire, non visible (GuillEmotonia A.Trabaloc P, 1995).

3.3.3. Les sarcomes et les mélanomes

Exceptionnellement, certaines tumeurs primitives peuvent se développer au dépend du col utérin comme les sarcomes (léiomyosarcome, rhabdomyosarcome embryonnaire), les choriocarcinomes, les mélanomes. Ils sont très rares au niveau du col utérin, de survenue tardive avec comme moyenne d'âge 54ans et se manifestent par des métrorragies. Le mélanome malin peut être pigmenté et donc de diagnostic facile ou achromique nécessitant une étude immunohistochimique. Son pronostic est très fâcheux d'autant plus s'il n'est pas pris en charge précocement (Naima El Aarji, 2006).

4. Cause et facteurs de risque du cancer du col de l'utérus

La cause du cancer du col de l'utérus est l'infection au virus du papillome humain. Cependant la plupart des cancers sont attribuables à de nombreux facteurs de risque

4.1. L'infection par HPV

Le virus du papillome humain (HPV) est considéré comme la principale cause mais non suffisante à elle seule du cancer du col utérin (Walboomers JM *et al.*, 1999). L'infection par HPV est causée par un contact direct, et dans le cas du col utérin, elle se fait généralement par contact sexuel, ou même par contact peau-à-peau. Le HPV est très fréquent dans la population générale (ESMO, 2012).

Alors que plus de 50 types de VPH peuvent infecter les voies génitales, 15 d'entre eux (les types: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, et 82) sont considérés à fort potentiel oncogène pour le col utérin. L'analyse des données groupées provenant de 11 études cas-témoins menées dans 9 pays (tous sauf deux étant des pays en développement) que 1 918 femmes présentant un cancer du col utérin ont montrés que 8 types de HPV (16, 18, 31, 33, 35, 45, 52, et 58) étaient impliqués dans 95 % des cancers du col (Muñoz *et al.*, 2003).

Le HPV-16, type le plus courant, est impliqué dans 50 à 60 % des cas de cancer du col. Le HPV-18, second type le plus courant, est en cause dans 10 à 12 % des cas. Les types les plus courants de HPV à haut risque varient selon les pays et les régions. (Bosch FX *et al.*, 2003).

Les femmes infectées avec d'autres agents sexuellement transmissible, comme le Chlamydia trachomatis ou l'herpès simplex virus-2 (HSV-2) sont plus susceptibles de développer un cancer du col utérin que les femmes qui ne sont pas Co-infectées. les

femmes positives au HPV, le HSV-2 était associé trois fois du risque de développer un cancer du col utérin (Smith, 2002).

4.2. Le comportement sexuel

L'âge au premier rapport sexuel et le nombre des partenaires sont des facteurs déterminants de l'infection à HPV. Le risque de développer un cancer du col est trois fois plus important chez les femmes ayant dix partenaires différents, par rapport à celles ayant un seul partenaire (Kokotek, 2011).

Plusieurs études suggèrent que l'infection à l'HPV serait dépendante des pratiques sexuelles (D'Souza *et al.*, 2009 ; Gillison *et al.*, 2008 ; Schwartz *et al.*, 1998).

Une parité élevée est un cofacteur de l'infection à HPV, Les données groupées de huit études cas-témoins sur le cancer invasif du col utérin et deux études sur le cancer in situ (CIS) provenant de quatre continents semblent montrer que, par rapport à des femmes qui n'ont jamais eu d'enfant, celles qui en ont eu trois ou quatre ont 2,6 fois plus de risque de contracter un cancer du col utérin ; celles qui en ont eu sept ou plus avaient 3,8 fois plus de risque (Muñoz *et al.*, 2002). D'autres études corroborent cette relation positive établie entre le nombre d'enfants et le cancer du col (Thomas DB *et al.*, 2001).

L'âge précoce de la première grossesse représente un facteur de risque car l'immaturation du col utérin au cours de l'adolescence, le rend vulnérable aux chocs subis lors des coïts et pendant l'accouchement.

4.3. L'infection par HIV

chez les sujets infectés par le VIH, le risque d'infection par HPV est possible et corrélé à une augmentation du potentiel oncogène. Les femmes infectées par le VIH sont plus facilement infectées par des types de HPV à risque élevé et risquent davantage de redévelopper des lésions précancéreuses et de les développer plus rapidement que les femmes séronégatives au VIH dans la même catégorie d'âge (De Sanjose, Palefsky, 2002).

4.4. Le tabagisme

Le tabac est un facteur environnemental qui peut affecter le risque de cancer du col utérin. Des études montrent que les fumeuses ont un risque deux fois supérieur aux non-fumeuses (Hildesheim *et al.*, 2001 ; Szarewski *et al.*, 1998 ; Castellsagué *et al.*, 2002).

4.5. La contraception orale

Elle est aussi considérée comme un facteur potentiel du développement du cancer du col utérin. Il semble bien que les oestroprogestatifs et la dépomédroxyprogesterone, après correction des facteurs sexuels, augmentent le risque tout au moins chez les femmes qui les utilisent depuis plus de 5 ans (Laaredj N, 2006).

Le risque de cancer augmente avec la durée de prise de contraceptifs oraux : l'augmentation est de 10% pour une utilisation de moins de 5 ans, de 60% pour une utilisation de 5 à 9 ans et de 100% pour une utilisation de 10 ans et plus (Belot A *et al.*, 2006).

D'autre part, les femmes sous contraception orale utilisent moins fréquemment les protections mécaniques ce qui augmente le risque de contamination par HPV.

4.6. Niveau socio-économique

Un niveau socio-économique faible est considéré comme un facteur de risque. Pour le cancer du col utérin, plus particulièrement dans les régions à faibles ressources les femmes d'un niveau socio-économique faible ont souvent des revenus limités aux services de santé, il y a une mauvaise alimentation et une connaissance limitée des problèmes de santé et des comportements préventifs. Tous ces facteurs peuvent être la cause de plusieurs maladies y compris celles que l'on peut prévenir, comme le cancer du col utérin (Dos Santos, 1997).

4.7. Les facteurs endogènes

Les facteurs endogènes correspondent à certains facteurs génétiques en rapport notamment avec le groupe de gènes dans le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) humain qui code pour les protéines présentatrices d'antigène de surface, le système HLA (humaneleucocyteantigène) (par exemple, expression de l'allèle HLA-DQB1*0301 seul ou combiné avec l'allèle HLA-DRB1*0401). (IARC N, 2005 ; Baseman J *et al.*, 2007 ; Monsonogo J, 2006 ; Munoz N *et al.*, 2007).

4.8. Antécédents familiaux du cancer du col de l'utérus

La présence d'antécédents familiaux de cancer du col utérin pourrait affecter le risque d'une femme d'être un jour atteinte de cette maladie ou de changements du col.

5. Les symptômes du cancer du col de l'utérus

Le cancer du col de l'utérus dans ces premiers stades ou lorsqu'il s'agit d'un état précancéreux, peut se développer sans qu'aucun signe ou symptôme ne se manifeste. Voilà pourquoi il est d'autant plus important pour les femmes sexuellement actives de passer un test Pap et un examen pelvien tous les 1 à 3ans (société canadienne du cancer, 2007).

On remarque les symptômes suivants :

- Saignements vaginaux anormaux
- Saignements ou pertes légères entre les menstruations
- Saignements après un rapport sexuel
- Menstruations plus longues et plus abondant qu'avant
- Saignements vaginaux après la ménopause
- Écoulements vaginaux plus abondants que l'habitude
- Douleurs au bassin ou au bas du dos
- Douleurs durant un rapport sexuel
- Présence de cellules endométriales au frottis cervicovaginal, même en l'absence de tout symptôme.

Il arrive souvent que de tels symptômes soient causés par d'autres problèmes de santé que le cancer ou par les infections (société canadienne du cancer, 2007). Ces situations nécessitent un hystérocopie et un curetage biopsique sous anesthésie générale afin de poser ou de rejeter le diagnostic de cancer (Luc Van Haute, 2003).

II. Le papillomavirus humain

1. Description

Le papillomavirus humain appartient à la grande famille des papillomaviridae, c'est un virus icosaèdre avec plus que 100 génotypes qui ont été séquencés, L'origine étymologique du mot papillomavirus provient du latin papilla, diminutif de papula signifiant bouton, et du suffixe grec ome, désignant le caractère tumoral. Les premiers papillomavirus humain ont été décrits en 1933 (Denis, 1999). Mais la découverte de l'activité oncogène des papillomavirus est faite en 1984 par Zur Hausen (Zur Hausen, 2009).

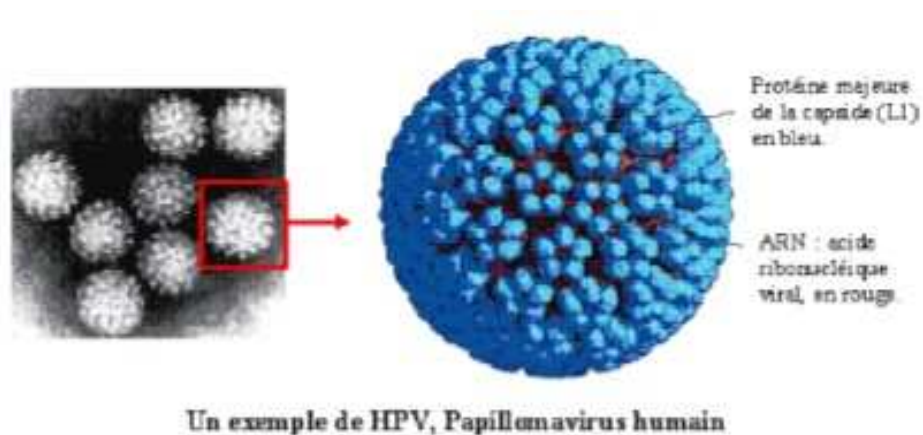


Figure 3 : Schéma de PVH Source : http://inature.canalblog.com/images/20051213_01.gif

2. Organisation structurale et génomique des papillomavirus humains

Les papillomavirus humains sont des petits virus (Day PM, *et al.*, 2003), de 52 à 55 nanomètre de diamètre dont la capside est composée de 72 capsomères formant une structure icosaédrique (Seedorf *et al.*, 1985). Leur génome viral est constitué d'un acide ésoxyribonucléique (ADN) double brin circulaire dont un seul brin est codant d'environ 8000 paires de bases (Liu X, *et al.*, 2006) divisé en trois portions (figure) :

- ✚ Une région précoce dite E (Early protein) codant pour des protéines de régulation non structurales appelées E1, E2, E4, E5, E6 et E7. et d'environ 4Kb:
 - E1 et E2 jouent un rôle important dans la réplication virale
 - E5 mais surtout E6 et E7 sont les protéines responsables de l'immortalisation et de la transformation des cellules infectées
 - E4 impliqué dans la maturation des virions.

- ✚ Une région tardive dite L (Late protein) codant pour les protéines L1 et L2 qui interviennent dans l'organisation structurale du virus en formant la capside, faisant 3Kb.
- ✚ Une région non codante appelée également long control region (LCR) ou upstream regulatory region (URR) qui contient l'origine de réplication (ori) de l'ADN viral, le promoteur P97 situé en amont de E6 et qui est responsable de la synthèse de presque tous les gènes précoces. Et les éléments transcriptionnels régulateurs. De taille comprise entre 400 et 1000pb (Ozbun *et al.*, 1998).

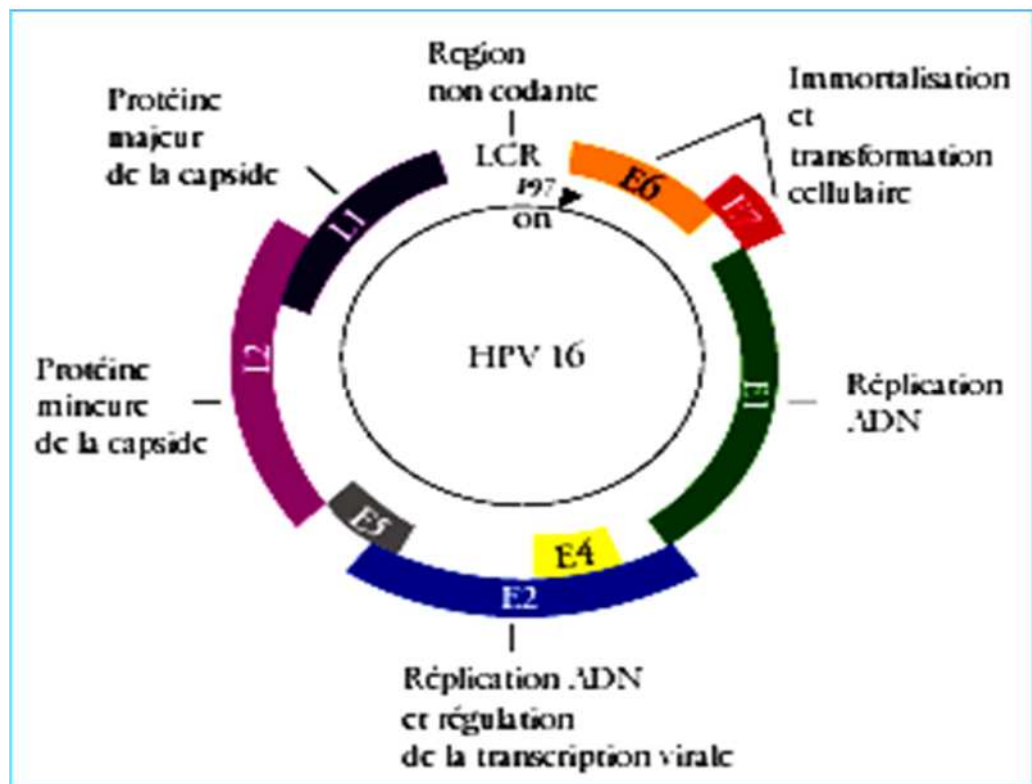


Figure 4 : Représentation schématique du génome de HPV-16

3. Classification des HPV

Les papillomavirus ne sont pas regroupés au sein d'un ordre mais appartiennent à la famille des *papillomaviridae* (Fauquet *et al.*, 2005). Il existe plusieurs types de classification des HPV désignées ci-après.

3.1. Classification selon l'analyse phylogénique

La classification des HPV est basée sur le génotype et l'analyse phylogénique. Elle permet de les différencier en fonction de leur tropisme (cutanés ou muqueux) et de leur propriété biologique (11).

3.2. Classification selon le pouvoir cancérigène

Parmi les HPV cutanés les plus fréquents, les HPV 1, 2, 3, 4 ou 10 sont responsables de verrues plantaires et palmaires. Les HPV 5 et 8 sont eux majoritairement retrouvés chez des patients atteints d'une génodermatose rare, l'épidermodysplasie verruciforme. Parmi les HPV muqueux les plus fréquents, les HPV dits à bas risque oncogène = HPV - BR (HPV 6,11) sont responsables de lésions anogénitales bénignes telles que les condylomes acuminés ou verrues génitales et les HPV à haut risque oncogène = HPV - HR (HPV 16, 18) sont associés aux lésions précancéreuses et cancéreuses du col de l'utérus (Tableau 1) (Mosonogo, 2006).

Tableau 1: Manifestations cliniques des principaux types d'HPV cutanés et muqueux (Mosonogo, 2006).

		Types d'HPV les plus fréquents	Autres types d'HPV moins fréquents	Expression clinique
HPV cutanés		1, 2, 3, 4, 10	26 à 29, 38, 41	Verrues plantaires
		5, 8	9, 10, 12, 14, 15, 17, 19 à 25	Epidermodysplasie verruciforme
		5, 8, 14, 17, 20		Carcinomes épidermoïdes
HPV muqueux	HPV - BR	6, 11	42 à 45	- Condylomes acuminés - Papillomes laryngés, conjonctivaux, buccaux
	HPV - HR	16, 18	31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68	- Cancer du col utérin et lésions précurseurs - Carcinomes : pénis, vulve, vagin, anus

4. Mode de transmission des HPV

Les infections à HPV sont le plus souvent transmises lors de contacts intimes peau à peau. Les rapports sexuels avec pénétration vaginale et anale sont propices à cette

dissémination. D'autres modes de transmission sont décrits mais représentent des voies mineures de contamination (Djigma, 2011).

4.1. Transmission sexuelle de l'HPV

Les rapports sexuels sont le premier mode de transmission génitale des HPV (Thomas *et al.*, 2001; CZEGLÉDY, 2001). Cette transmission se fait par contact direct entre muqueuses génitales au cours d'une relation sexuelle. L'infection par HPV chez la femme augmentait avec le nombre de partenaires sexuels qu'elle a pu avoir au cours de sa vie. Ce phénomène apparaît aussi chez l'homme mais à un degré moindre (Winer *et al.*, 2005). L'infection survient précocement, souvent dès les premiers rapports sexuels. La prévalence est maximale pour la tranche d'âge 20-25 ans (Attal, 2012). L'infection à HPV est une des 3 plus fréquentes infections sexuellement transmissibles (IST) (Roquille, 2009).

4.2. Transmission non sexuelle de HPV

La transmission des HPV peut également être indirecte, par contact avec des objets (vêtements, serviettes de toilette, draps...) et des surfaces contaminés (piscines et douches qui favorisent la propagation des verrues plantaires) (Roquille, 2009).

La transmission de la mère à l'enfant lors du passage dans la filière génitale infectée reste une voie de transmission accessoire actuellement démontrée grâce au développement des nouvelles techniques moléculaires (Czegledy, 2001).

La transmission de l'HPV par ingurgitation de sang maternel, de liquide amniotique, de sécrétions vaginales, restent controversées car aucune phase virémique dans le cycle de HPV n'a été démontrée à ce jour. Il en est de même pour la transmission sanguine. L'infection par HPV est localisée au niveau des épithéliums cutanéomuqueux se trouvant dans les cellules basales sans passage sanguin (Djigma, 2001).

5. Cycle viral

5.1. Pénétration du virus dans la cellule

Les particules de papillomavirus sont internalisées lentement et ce par un mécanisme dépendant de l'endocytose par la voie des clathrines pour HPV16 (Culp *et al.*, 2004; Day *et al.*, 2003). Cependant, ce mode d'entrée ne semble pas être conservé entre les différents types d'HPV (Sapp *et al.*, 2009). Le transfert de l'ADN viral au noyau est alors facilité par la

protéine mineure de la capsid L2 et par le démantèlement des ponts disulfures intra-capsomérique dans l'environnement réducteur de la cellule (Li *et al.*, 1998 b).

Les virions plus ou moins dégradés sont relâchés dans le cytosol. La taille des capsides de papillomavirus ne leur permet pas de diffuser passivement dans le cytosol. Elles doivent donc utiliser un processus actif impliquant le cytosquelette pour rejoindre le noyau (Roquille, 2009).

Les virions sont transportés vers le noyau de la cellule via le réseau protéique du cytosquelette. La décapitation se fait juste avant l'entrée de l'ADN viral dans le noyau ou la réplication virale commence (Motagne, 2010).

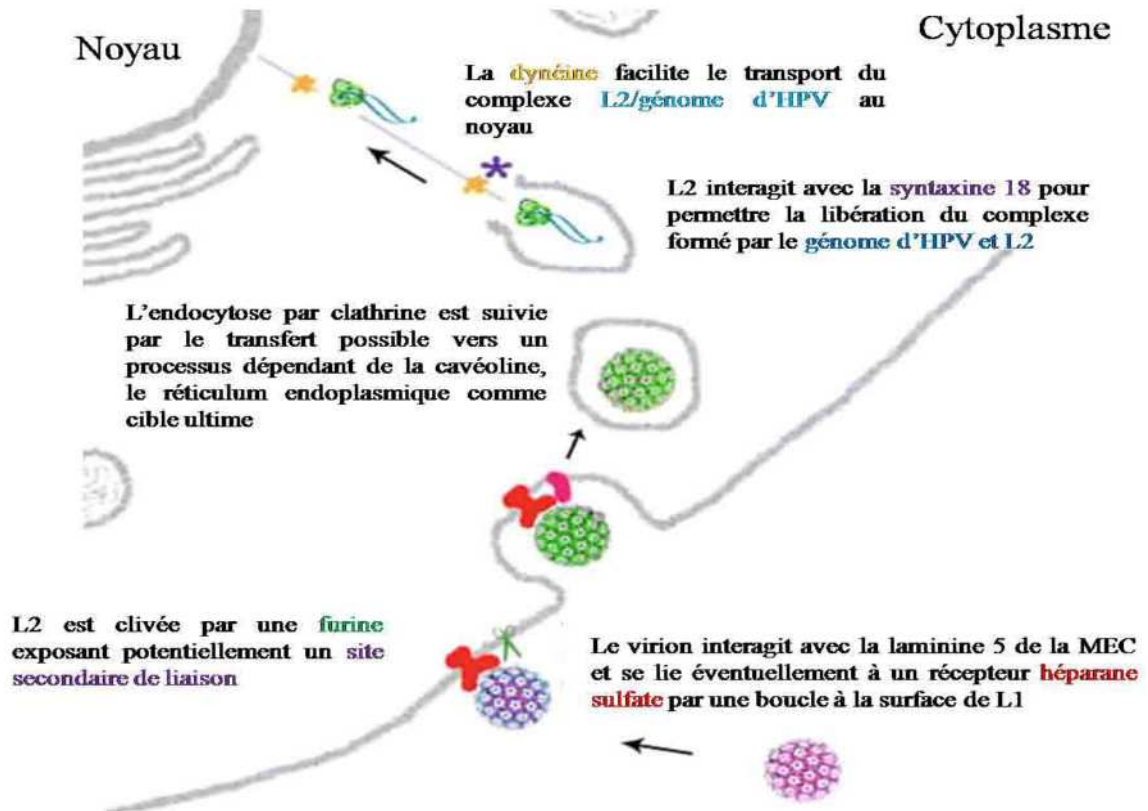


Figure 5: les étapes de pénétration du virus dans la cellule puis dans le noyau (Pereira, 2009).

5.2. La réplication du virus

Après l'entrée du génome viral dans le noyau de la cellule hôte, il y a amplification de se génome viral par des enzymes cellulaires, puis le maintien de 50 à100 copies de génome dans les cellules basales et suprabasales, cette réplication est contrôlée par les protéines E1 et E2. Vient ensuite une phase de maintenance des cellules basales et

suprabasales en phase de synthèse d'ADN (phase S), indispensable au cycle viral, Les protéines E6 et E7 stimulent la progression en phase S du cycle cellulaire, cette étape de cycle est dite non reproductive car il n'y a pas de production de virions, seul les gènes précoces sont transcrits (Roquille, 2009).

Vient ensuite une phase de maintenance des génomes viraux qui correspond au maintien d'un nombre constant de génomes d'HPV au fur et à mesure des divisions cellulaires. Elle est observée dans les couches basales et suprabasales de l'épithélium. Les génomes d'HPV nouvellement synthétisés se répartissent, comme l'ADN cellulaire, dans chaque cellule fille (Roquille, 2009).

5.3. Assemblage des virions

La dernière phase du cycle virale va consister en l'assemblage de particules virales et à leur libération à la surface de l'épithélium. Les deux protéines de structure L1 et L2 sont exprimées uniquement dans les cellules différenciées où la phase d'amplification virale est terminée (Doorbar *et al.*, 1997). les protéines L1 et L2 assembler les particules virales et d'encapsider l'ADN viral, les cellules chargées de virions vont assembler et lisent la surface de l'épithélium, assurant ainsi la diffusion virale (Kokotek, 2011).

Le génome est encapsidé dans un assemblage icosaédrique. pour que l'infection soit réussite il faut que la libération du virus des cellules est sa survie dans un milieu extracellulaire avant l'infection. Les HPV n'étant pas des virus lytiques, la sortie des particules virales se fait via la zone de desquamation, lorsque la couche cornée superficielle de l'épiderme est éliminée. La muqueuse est alors très infectante et le risque de transmission des HPV est très important (biologie.ens-lyon.fr, 2009).

Cette étape correspond donc à la phase productive puisque les virions sont formés (Roquille, 2009).

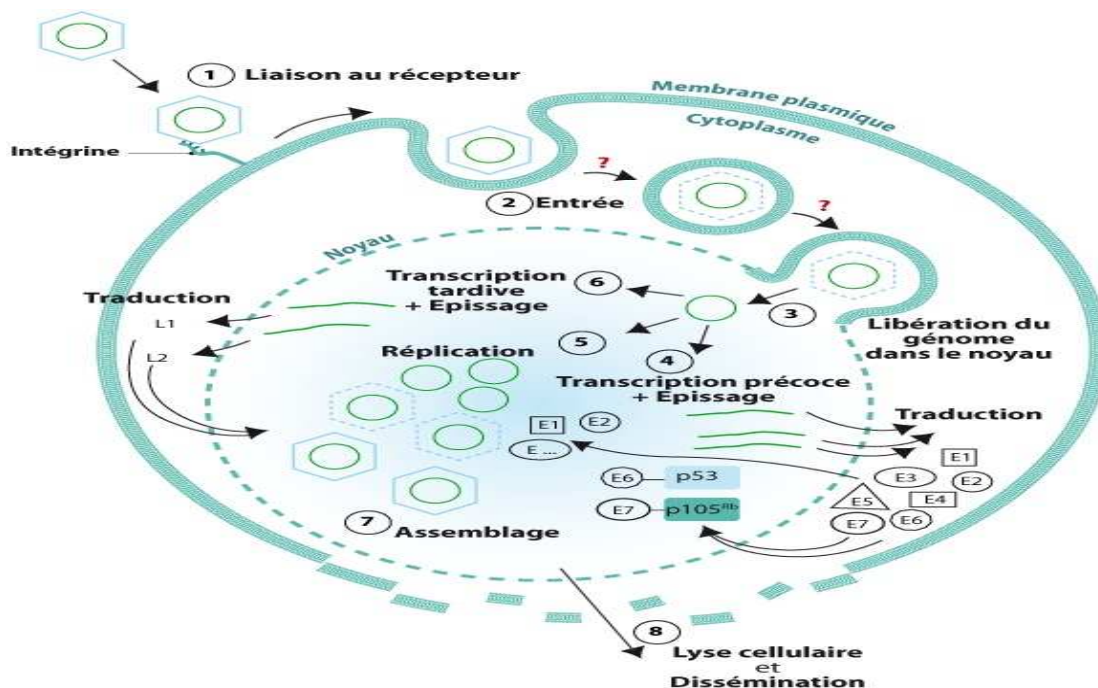


Figure 6 : cycle viral d'HPV (Roquille, 2009)

6. L'oncoprotéine E6 et carcinogénèse

6.1. Structure d'E6

L'oncoprotéine E6 est une protéine codée par le gène E6 constitué de 151 résidus aminoacides et d'une masse moléculaire d'environ 19 Kda. Elle présente deux domaines de liaison au Zinc, ZD1 et ZD2 désignés par 4 motifs CxxC (Barbosa *et al.*, 1989 ; Grossman *et al.*, 1989 ; Nomine *et al.*, 2006). La PKA 47 et la PKN 48 peut phosphoryler l'E6. Cette protéine est localisée aux noyaux plus précisément de la chromatine condensée.

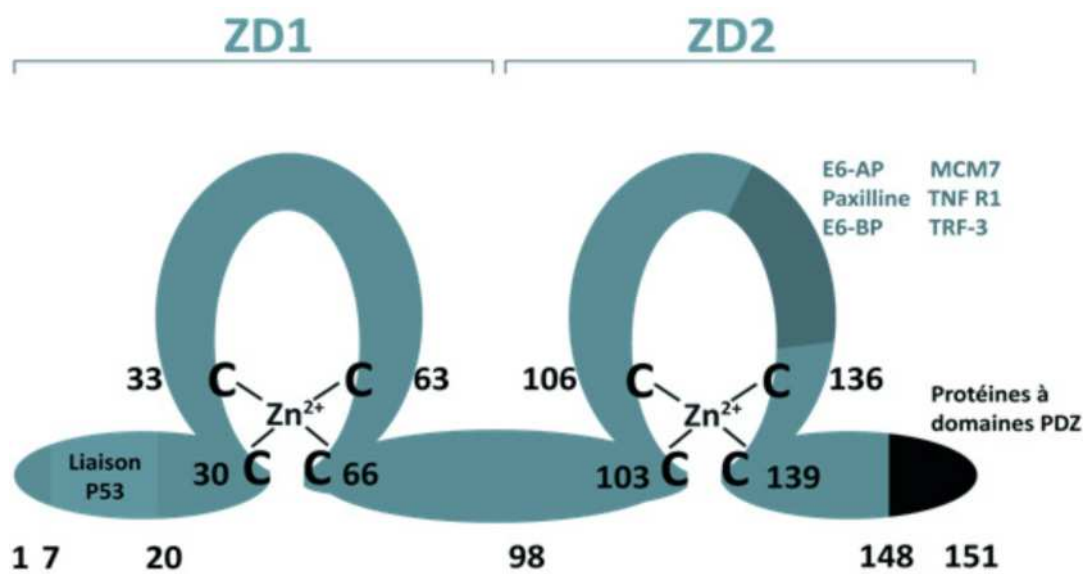


Figure 7 : Représentation schématique de 16E6 (Chakrabarti *et al.*, 2003).

6.2. Activité biologique d'E6

▪ Inactivation de P53

La protéine P53 est une protéine suppresseur de tumeur (régulation négative du cycle cellulaire) peut être dégradé par l'oncoprotéine E6 (Scheffner *et al.*, 1990). Le gène P53 est rarement muté dans le cas du cancer du col de l'utérus (Hainaut *et al.*, 1998). Ce qui signifie que le mécanisme mis en jeu est une dégradation par le système de protéasome (Scheffner *et al.*, 1990). L'activité de P53 est contrôlée par l'E3 ubiquitine ligase mdm2 (Honda *et al.*, 1997). L'infection par HPV inhibe ce contrôle négatif. La E6AP aide l'oncoprotéine à dégrader la protéine p53 (Huibregtse *et al.*, 1991 ; Scheffner *et al.*, 1993). L'extrémité C-terminal de P53 est le site de liaison à l'oncoprotéine E6 de haut et bas risque mais seulement les haut risque qui peuvent lier la région cœur ce qui provoque la dégradation du P53 (Crook *et al.*, 1991). Le P53 d'une cellule exprimant E6 haut risque n'est cependant pas dégradé (Cooper *et al.*, 2003b). L'oncoprotéine E6 touche la transcription du P53 (modification post traductionnelles) ou peut inhiber la liaison du P53 au niveau d'une séquence spécifique de l'ADN. La liaison P53 est empêchée par une interaction d'E6 avec P53 (Lechner *et al.*, 1994). Un changement structural de P53 provoque la dissociation du complexe ADN-P53 ou inhibe cette liaison (Thomas *et al.*, 1995) le second mécanisme c'est par isolement du P53 au sein du cytoplasme qui signifie l'inhibition des voies de signalisation dépendante de P53. Cet isolement dû grâce au masquage des signaux de localisation nucléaire au niveau du P53 (Mantovani *et al.*, 2001). Le troisième mécanisme est une interaction avec CBP/P300 ou Hada3 qui provoque un arrêt de la transactivation induite par P53 qui inhibe l'activité de P53 (Patel *et al.*, 1999) (Kumar *et al.*, 2002). Le P53 est acétylé par le P300 (Barlev *et al.*, 2001). L'E6 inhibe l'acétylation du P53 par la liaison avec le P300 (Patel *et al.*, 1999). Ce mécanisme est provoqué seulement par les E6 haut risque (Thomas *et al.*, 2005).

▪ E6 et l'apoptose

L'oncoprotéine E6 peut inhiber l'apoptose après la dégradation du P53 ce qui résulte des cellules infectées immortelles (Pan *et al.*, 1995). L'E6 touche les mécanismes de l'apoptose (intrinsèque et extrinsèque) qui résulte des cellules transformées immortelles (Pan *et al.*, 1995).

▪ Activation de la télomérase

L'immortalisation des cellules épithéliales ou la transformation cellulaire est liée à l'expression des E6 et E7 haut risque (Munger *et al.*, 1989). La télomérase joue un rôle important dans cette transformation (Kiyono *et al.*, 1998). La télomérase s'occupe de la

réplication des télomères. Elle est activée dans les cellules souches et les cellules au stade embryonnaire à l'état normal, 90% des cellules cancéreuses exprime cette enzyme (Kim *et al.*, 1994). Dans le cas normale la mort cellulaire provoqué par une érosion progressive des télomères (Liu *et al.*, 1999). La télomérase est activé par l'E6 (Klingelhutz *et al.*, 1996). La régulation du hTERT est due à l'intervention du E6AP (Gewin *et al.*, 2004).

7. L'oncoprotéine E7 et carcinogénèse

7.1. Structure d'E7

C'est une protéine qui a la même structure de la protéine E1A de l'adénovirus et l'antigène T du virus SV-40 (McLaughlin-Drubin *et al.*, 2009). Elle possède trois régions CR1, CR2, CR3. Ce sont des régions conservées qui caractérisent les activités transformâtes des HPV haut risque (Edmonds *et al.*, 1989). La région CR2 s'occupe suffisamment de l'association avec la protéine suppresseur de tumeur du rétinoblastome pRb (Munger *et al.*, 1989). Le domaine C-terminal est aussi présente un site de liaison a la protéine pRb (Liu *et al.* 2006 ; Patrick *et al.*, 1994). Des mutants 16E7 perdent les propriétés de liaison avec les pRb car ils ne possèdent pas la région CR2 (McLaughlin-Drubin *et al.*, 2009).

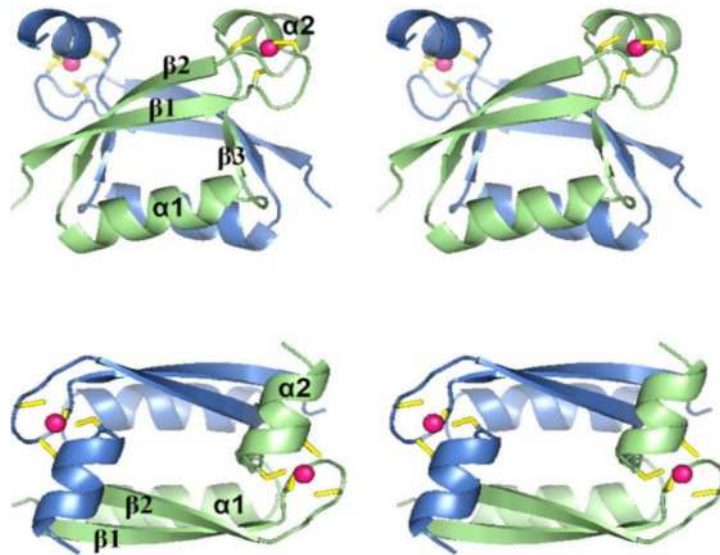


Figure 8 : Structure schématique du dimère d'E7 du génotype 1A (d'après (Liu *et al.*, 2006)

7.2. Activité biologique d'E7

▪ Dégradation de pRb et induction de la transcription dépendante d'E2F

L'association d'E7 avec la protéine suppresseur de tumeur du rétinoblastome pRb s'effectue avec les protéines P107 et P130 de la même famille grâce au site représenté par le motif LxCxE au niveau du domaine CR2 (Dyson *et al.*, 1992 ; Munger *et al.*, 1989). La P107 et la P130 sont responsables de la régulation de la transition G1/S et la progression du cycle cellulaire par modulation de l'activité du facteur de transcription E2F. La transition G1/S, l'instabilité génomique, l'apoptose et la différenciation cellulaire sont des phénomènes régulés par le facteur E2F. On définit le complexe pRb/E2F comme un inhibiteur de la transcription durant la phase G1 du cycle cellulaire. Dans le cas d'une cellule normale, la cdk2 phosphoryle la pRb en G1 et les cdk4/6 libèrent le facteur E2F (Boyer *et al.*, 1996). Au cours de l'infection par SV-40, E7 va lier le complexe pRb/E2F qui provoque une perte du contrôle du cycle cellulaire. E2F va être libéré suite à sa dégradation par le système protéasome (Boyer *et al.*, 1996). Ce mécanisme fait intervenir comme ubiquitine ligase, la culine-2 pour l'HPV 16 (Huh *et al.*, 2007). L'expression d'E7 provoque la réduction de la demi-vie de la pRb de 9 heures à trois heures (Gonzalez *et al.*, 2001).

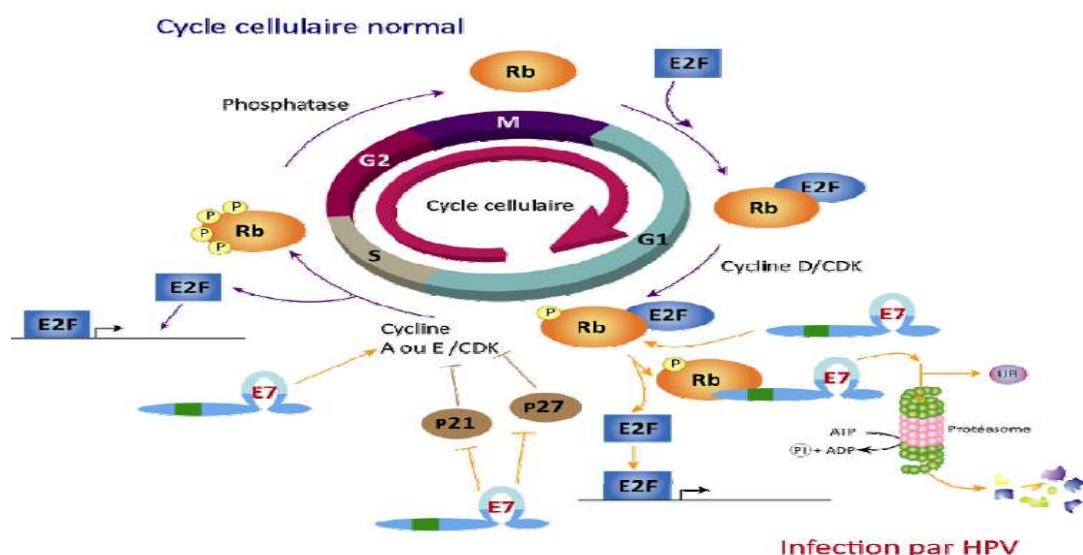


Figure 9 : E7 et cycle cellulaire (Jones *et al.*, 1997).

III. L'enzyme de conversion de l'angiotensine

L'ECA ou la dipeptide carboxypeptidase ou la peptidylpeptide hydrolase ou Kininase II (EC 3.4.15.1) est une enzyme ubiquitaire de distribution très large. Elle agit sur les deux derniers acides aminés de l'extrémité carboxy-terminale des peptides et l'hydrolyse (Laraqui, 2006).

L'ECA est une metalloenzyme (protéines qui comportent un ou plusieurs cofacteurs métalliques) à zinc donc l'activité enzymatique nécessite la présence des anions. La conformation allostérique du site actif est modifiée grâce à la présence de l'atome de zinc et du chlore, lui donne sa spécificité pour les substrats dipeptidiques (Laraqui, 2006).

Elle existe sous trois formes : une forme membranaire, pourvue de peptide d'ancrage, de poids moléculaire 160 Kda ; une forme circulante soluble légèrement plus petite, de PM 140 Kda, et une forme testiculaire de PM 90 Kda (Laraqui, 2006).

La molécule mature d'ECA est résultant d'un clivage d'un peptide précurseur. L'ancrage de l'ECA sur la membrane cellulaire épithéliale et endothéliale se fait par un peptide hydrophobe. Des modifications post traductionnelles (clivage protéolytique) au niveau de la partie ancrée à la membrane cellulaire pour donner la forme circulaire (Laraqui, 2006).

L'ECA membranaire possède 4 domaines : 24 acides aminés représentent le domaine intracellulaire ; un domaine transmembranaire hydrophobe de 20 acides aminés s'occupe de la fixation de la protéine dans la membrane cellulaire ; deux domaines extracellulaires possédant d'environ 60% d'homologie entre eux, possédant chacun un site actif pouvant lier le zinc (Laraqui, 2006).

1. Localisation du gène d'ECA

Le gène d'ECA est localisé sur le bras long du chromosome 17 en position 17q23 (Mattei *et al.*, 1989). Il est constitué de 26 exons et 25 introns et d'une taille de 21 Kb. Les exons sont d'une taille variée entre 88 pb et 481 pb, et les introns entre 150 pb et 2000 pb. Son ARNm est d'une taille 4.3 Kb, et sa traduction résulte en un peptide de 1340 acides aminés.

Chez l'homme il existe qu'un seul gène d'ECA (Soubrier *et al.*, 1988). Les différentes formes de la protéine sont dues à l'épissage différentiel du transcrite du gène de l'ACE. (Soubrier *et al.*, 1988).

2. Le polymorphisme génétique du gène de l'ECA

Grace a le clonage de l'ADNc de l'ECA on détecte un polymorphisme d'Insertion (I)/Délétion (D) d'un fragment intronique de 287 pb, riche en séquence alu au sein de l'intron 16. Les séquences alu sont des fragments d'ADN appartenant à la famille des SINE (*short interspersed élément*). Elles sont caractérisées par la présence d'un site de restriction de l'endonuclease de restriction Alu I. ces séquences sont longues d'environ environ 300 pb et ne comporte aucun gène, et elles sont répétées 300000 copies tout au long du génome (Laraqui, 2006).

Trois génotypes sont possibles pour ce polymorphisme deux homozygotes II qui signifier une insertion sur les deux allèles (490 pb). DD délétion sur les deux allèles (190 pb), et un hétérozygote ID qui signifier l'existence de deux allèles : I (Insérée) de 490 pb et D (Déléte) de 190pb (Laraqui, 2006). Il existe d'autres polymorphismes du gène de l'ECA situé sur des régions variables de ce dernier (T-5491C, T-93C, a-240T, T237C, 4656CT2/3). Mais ne sont pas encore identifiés comme fonctionnels (Laraqui, 2006).

3. L'ECA et la carcinogènèse

L'angiotensine II (AngII) est un peptide vasoactifs, et aussi mitogènes et pro-angiogénique. Il exerce leur action par l'intermédiaire de récepteurs couplés aux protéines G :

L'expression des composants des systèmes AngII dans diverses tumeurs présente généralement une ou plusieurs des caractéristiques suivantes :

Surexpression du peptide et/ou du récepteur, modification du sous-type de récepteur exprimé et localisation nucléaire du récepteur. AngII agissent sur les différentes étapes de la progression tumorale, et l'utilisation d'antagonistes spécifiques de leurs récepteurs, ou d'inhibiteurs de leur synthèse, est efficace pour ralentir la croissance tumorale in vitro et in vivo dans différents modèles animaux.

3.1. Expression de système angiotensine II dans les tumeurs

En 1995 et pour la première fois, une étude a suggéré qu'ET-1 pouvait être impliqué dans le cancer de la prostate (Nelson JB, 1995). Depuis, une expression de plusieurs des composants du système ET-1 et plus récemment du système AngII, a été mise en évidence dans différentes cellules cancéreuses.

Outre une augmentation de la synthèse du peptide, une régulation positive de l'expression du récepteur est couramment observée. C'est ainsi qu'une augmentation de l'expression de composants du système AngII a pu être reliée à certaines tumeurs (adénome colorectal, cancers du sein et de la prostate) (Anguelova E, 2005).

Les récepteurs d'AngII sont exprimés dans les cellules tumorales sont essentiellement du sous-type AT1R, même si une augmentation de l'expression d'AT2R a été observée dans les cancers du sein, suggérant une éventuelle participation des deux sous- types de récepteurs à la progression tumorale. (Lahav R, 1999).

3.2. Mécanismes d'action de l'angiotensine II sur la croissance tumorale et l'angiogénèse

a. AngII et croissance tumorale

AngII a une action mitogène ou anti-apoptotique sur de nombreux types cellulaires (ovaire, peau, prostate, sein, côlon et système nerveux central) (Nelson J, 2003) (Grant K, 2003) (Deshayes F, 2005) (Juillerat-Jeanneret L, 2004) (Anguelova E, 2005) (Lazarini F, 1999). Selon le type cellulaire, l'un ou l'autre des deux sous-types de récepteur d'AngII peut être impliqué dans ces réponses, alors qu'AngII agit toujours par l'intermédiaire d'AT1R. Comme d'autres récepteurs mitogènes, ils induisent l'activation de la voie ERK, principalement par transactivation du récepteur de l'EGF (EGFR) (Figure 10), dont le rôle sur la croissance tumorale est bien documenté (Fischer O, 2003). D'autres voies de signalisation, parmi lesquelles les voies PI3K/Akt et FAK, sont également impliquées dans les effets de ces récepteurs sur la prolifération, la survie et la migration cellulaires (Figure 10). En accord avec son action antiproliférative et proapoptotique, AT2R trans-inactive l'EGFR (Elbaz N, 2000) (Figure 10), notamment via l'activation de la tyrosine phosphatase SHP-1 (Src homology region 2 domain-containing phosphatase 1) (Nouet S, 2000), dont le rôle dans le cancer a été rapporté. Une nouvelle famille de protéines interagissant avec AT2R (ATIP), capables d'inhiber la prolifération cellulaire induite par

l'EGF a été identifiée (Nouet S, 2004), et des études récentes suggèrent un rôle potentiel d'ATIP en tant que suppresseur de tumeur.

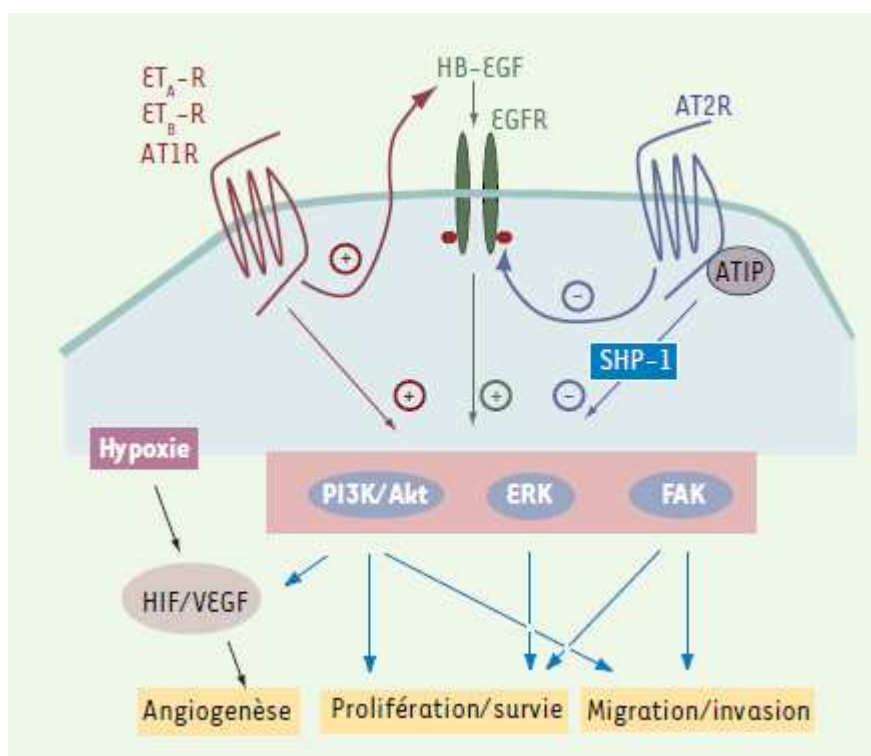


Figure 10 : Principales voies de signalisation intracellulaire, couplées aux récepteurs de l'endothéline 1 (ET-1) et de l'angiotensine II (AngII), impliquées dans la progression tumorale. (S. Cazaubon, 2005).

b. AngII et angiogenèse

En Parallèle aux facteurs angiogéniques VEGF (vascular endothelium growth factor), FGF ou HGF (hepatocyte growth factor), AngII apparaisse désormais aussi comme un acteur de l'angiogenèse (pour revues, voir (Bagnato A, 2004) (Escobar E, 2004)). en agissant directement sur les cellules endothéliales par l'intermédiaire d'AT1R, sont capables de moduler in vitro les étapes précoces de l'angiogenèse (prolifération, migration, invasion, production de métalloprotéases spécifiques de la matrice extracellulaire - MMP), mais aussi l'étape, plus tardive, de tubulogenèse. AngII, en active respectivement AT1R, est également de puissants mitogènes pour les cellules musculaires lisses vasculaires. Au contraire, AT2R, par son action négative sur les voies de signalisation couplées à AT1R et au récepteur du VEGF, régule négativement la migration des cellules endothéliales et la tubulogenèse. Il faut en outre noter AngII.

Chapitre III : Enzyme de conversion de l'angiotensine

Stimulent indirectement l'angiogenèse tumorale via la production de VEGF, aussi bien par les cellules tumorales que par les cellules endothéliales. Cela implique notamment l'induction d'HIF-1 α , le facteur de réponse à l'hypoxie (hypoxia-induced factor) contrôlant la production de VEGF (Figure 10). Une augmentation de la sécrétion de VEGF par les macrophages associés à la tumeur et par les cellules stromales a également été observée en réponse à l'AngII (Egami K, 2003) (Fujita M, 2005). Réciproquement, le VEGF induit la sécrétion d'ET-1 par les cellules endothéliales et les cellules musculaires lisses, conduisant à une boucle d'amplification de la production de ces facteurs pro-angiogéniques. Finalement, ET-1 comme AngII sont sécrétés en réponse à plusieurs stimuli associés au processus tumoral (hypoxie, cytokines inflammatoires, facteurs de croissance), et peuvent agir de concert avec le VEGF sur les différentes étapes de l'angiogenèse.

1. Population d'étude

Notre étude est une étude de type cas témoin transversale faite entre Mai et juin 2014 au sein du Centre Hospitalier Universitaire de Constantine. L'étude intéresse deux types de populations l'un témoin et l'autre malade.

1.1. Population témoin

Elle représente la population des sujets apparemment sains de différentes tranches d'âge et de sexe féminin, habitant essentiellement à Constantine. Cette population est prise en fonction de certains critères :

- **Critères d'inclusion :**

- Sujets de sexe féminin
- Tous âges confondus
- Sujets mariés

- **Critères d'exclusion :**

Les sujets qui sont exclus de l'étude sont :

- Sujets fumeurs
- Sujets sous traitement médical
- Femmes enceintes

1.2. Population malade

Elle correspond à 10 sujets algériens présentant un cancer du col de l'utérus sélectionnés parmi les patientes admises au sein du service de radiothérapie en cancérologie au niveau du Centre Hospitalier Universitaire de Constantine (CHUC) et qui réfèrent à nos critères d'exclusions et d'inclusions.

- **Critère d'inclusion :**

- 10 malades ayant un cancer du col de l'utérus diagnostiqué par des médecins spécialisés.
- Tout âge confondu
- Visant les femmes

- **Critères d'exclusion :**

Les malades refusant de faire le prélèvement.

2. Méthode de travail

2.1. Le recueil des données

Un questionnaire (annexe 1) clinique comprenant toutes les données nécessaires est établi pour la population d'étude. Tous les renseignements nécessaires sont enregistrés dans ce questionnaire après une consultation du dossier médicale du malade et un interrogatoire du patient réalisé par nous-mêmes.

Le questionnaire est relié à notre malade par une numérotation appropriée et les tubes de prélèvement sont étiquetés par la suite par la même numérotation, et tout cela est mentionné dans un cahier d'enregistrement pour assurer une bonne organisation du travail.

2.2. Prélèvement sanguin

Le prélèvement sanguin s'effectue selon certains critères :

- Le prélèvement se fait systématiquement à chaque hospitalisation d'une patiente de cancer du col de l'utérus.
- Tous les prélèvements s'effectuent avec pose de garrot
- Les prélèvements sont faits par le personnel qualifié
- les prélèvements se font en position semi- assise
- Les prélèvements sont réalisés dans deux tubes EDTA (5ml) pour chaque patiente

Le tube EDTA est acheminé au laboratoire de recherche université Constantine 3, en vue d'une extraction de l'ADN qui sera utilisé pour l'étude moléculaire au sein du laboratoire de biologie et génétique moléculaire université 3.

3. Etude moléculaire

3.1. Extraction d'ADN

Toutes les études génétiques nécessitent la disposition d'échantillons d'acides nucléiques, les leucocytes sanguins représentent la source majeure d'ADN, les autres sources cellulaires peuvent être des biopsies

- **Principe**

L'ADN de chaque patient est extrait à partir de leucocytes du sang périphérique recueillis sur tube EDTA, suivant la technique au NaCl. Ainsi les leucocytes sont séparés du sang total par lyse hypotonique et traités ensuite par un détergent (SDS) et une protéinase K. L'ADN nucléaire est libéré dans le milieu et les protéines qui lui sont associées sont digérées et éliminées par précipitation au NaCl. La pelote est formée dans le surnageant par précipitation avec l'éthanol. (Annexe 2).

L'ADN est solubilisé en phase aqueuse.

- **Détermination de la pureté et de la concentration d'ADN**

- *Détermination de la pureté*

La détermination de la pureté **se fait par le calcul du** rapport de la DO à 260 nm sur DO à 280nm (longueur d'onde d'absorption des protéines) qui doit être compris entre 1.8 à 2. Les acides nucléiques absorbent à une longueur d'onde 260nm alors que les protéines absorbent à une longueur d'onde 280 nm. . Le rapport de la DO à 260 nm sur la DO à 280 nm est utilisé pour s'assurer de la pureté d'ADN de tout contaminant d'ADN soit protéine ou ARN.

On considère que:

-L'ADN est suffisamment pur lorsque le rapport $R = DO_{260} / DO_{280}$ est compris entre 1.6 et 2 ($1.6 < R \leq 2$).

-L'ADN est contaminé par les protéines si: $DO_{260} / DO_{280} < 1.6$.

-L'ADN est contaminé par les ARN si : $DO_{260} / DO_{280} > 2$.

La pureté de l'ADN est essentielle pour une action efficace des enzymes de restriction utilisées par la suite. Dans le cas où l'ADN est contaminé il faut procéder à la réextraction d'ADN pour un bon usage et un bon résultat dans l'étape suivante de la PCR. Enfin L'ADN pur est conservé à +4°C jusqu'à utilisation.

3.2. Recherche du polymorphisme 16 ins/del du gène ECA

Le polymorphisme ECA 16 ins/ del est une délétion d'un fragment de 287 Pb dans l'intron **numéro** 16 du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine.

3.2.1. Amplification par PCR (Polymérase Chaîne Réaction)

La PCR est une méthode de biologie moléculaire. Son principe repose sur la synthèse de multiples copies d'une séquence d'ADN spécifique.

a. Préparation du milieu réactionnel de la PCR

- **Les Amorces (annexe3)**
- **Le mélange réactionnel :**

Un mix de PCR comprenant des désoxyribonucléotides triphosphates (dNtp 2mM), une enzyme d'amplification in vitro (Taq polymérase), deux amorces oligonucléotidiques (annexe) (ECA 1R 20 pmol, et ECA 1F 20 pmol), un environnement réactionnel constitué d'un tampon (10X), MgCl₂ (25 mM) et H₂O.

Après avoir préparé le mix de la PCR, nous avons pris 24µl de ce mélange avec 1 µl d'ADN pour chaque tube.

b. Déroulement des cycles de la PCR

Le déroulement des cycles de la PCR a été assuré par un thermocycleur (techniNE : TC-512) et les conditions d'amplification étaient comme suit : une dénaturation initiale à 94 °C pendant 1 minute, suivie de 30 cycles de PCR, comprenant chacun une dénaturation à 94 °C pendant 30 second, une hybridation à 65.8 °C pendant 30 second et une élongation à 72 °C pendant 30 second et enfin une élongation finale à 72°C pendant 8 minutes (annexe 3). On ajoute une goutte d'huile de paraffine dans chaque tube pour éviter l'évaporation des produit de PCR.



Figure 11 : le thermocycleur

c. Préparation du gel d'agarose du contrôle de PCR

A la suite de notre PCR un gel d'agarose à 1.5 % est préparé (1.5g d'agarose et 100 ml du TBE 1X) additionné de 10 µl du BET (Bromure d'éthidium) (Annexe 3). Le gel est déposé sur une plaque d'une cuve horizontale.



Figure 12 : la cuve pour électrophorèse

d. Contrôle des produits de la PCR

Le Contrôle de La taille des fragments amplifiés s'effectue par une électrophorèse sur un gel d'agarose à 1,5 %. Dans chaque puit du gel, nous déposons 10 µl du produit d'amplification en présence de 2µl d'un tampon de charge qui permet de suivre le front de migration. Parallèlement un échantillon sans ADN (blanc), est inclus dans la série à amplifier et sert de control négatif. Le dépôt se fait du coté cathode (-), et le système est soumis à une migration sous un courant de 100 volts pendant 30 mn.

- **Profile**

Après la migration, le gel est soumis au rayon UV. Les génotypes du polymorphisme 16ins/del du gène de l'ECA sont déterminés selon les bandes obtenues. Le profil électrophorétique montrant une seule bande de 490 pb, représente le phénotype I/I, une seule bande de 190 pb correspond au type homozygote délété D/D caractérisé par la délétion sur les deux allèles. Le génotype hétérozygote D/I est représenté par deux bandes de 190 et 490 pb.

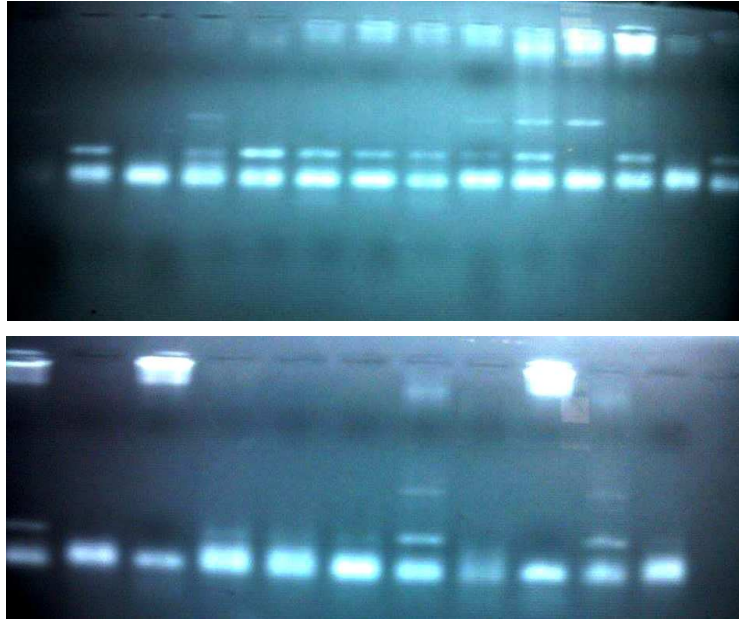


Figure 13 : Profil électrophorétique des fragments amplifiés par PCR du gène ECA 1 (287 Pb) sur gel d'agarose 1.5%

On observe chez les hétérozygotes (I/D), une troisième bande qui représente un produit hétéro duplex d'ADN.

L'apparition de l'allèle (D) chez les hétérozygotes est souvent préférentielle à l'allèle (I) donc il peut y avoir une confusion entre le génotype D/D et D/I.

- **Confirmation de la délétion**

Tous les génotypes D/D doivent subir une deuxième PCR de confirmation avec de nouvelles amorces et les mêmes conditions sauf pour la température d'hybridation. Les nouvelles amorces concernent le fragment délété.

3.2.2. La deuxième Amplification par PCR (Polymérase Chaîne Réaction)

Un mix de PCR semblable à celui utilisé pour la première PCR est préparé mais avec un nouveau couple d'amorce (Annexe) qui encadre le fragment Délété. Les conditions de la PCR sont aussi semblables à ceux de la première PCR sauf pour la température d'hybridation qui est 67 C°. Les produits d'amplification sont déposés sur un gel d'agarose de 15% à 100 Volt pendant 30 minutes

3.3. Profils obtenus

Le profil électrophorétique montrant une bande de 335 pb révèle la présence du fragment Déleté et le génotype est D/I au lieu de D/D. L'absence de toute bande sur le profil électrophorétique confirme la délétion et le génotype est réellement D/D.

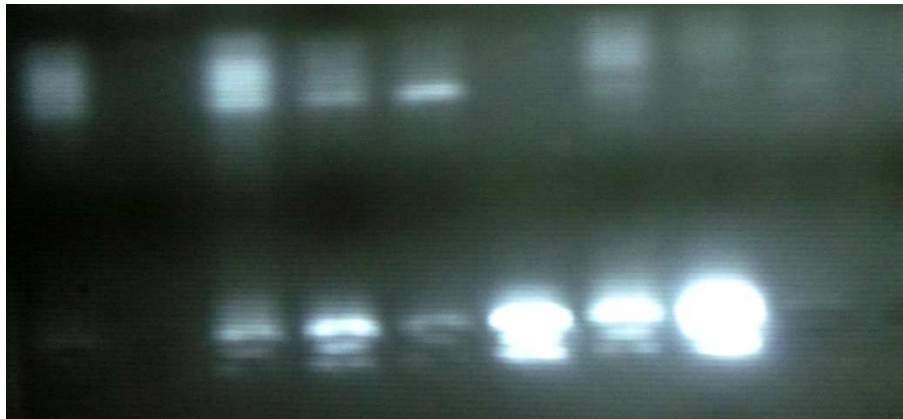


Figure 14 : *Profil électrophorétique des fragments D/D amplifié dans la premier PCR du gène ECA
2sur gel d'agarose 1.5%.*

1. Répartition des sujets selon l'âge

1.1. Les sujets témoins

Notre population témoin est composée de 10 sujets de sexe féminin. La moyenne d'âge des témoins est de 55 ans. La répartition d'âge est présentée dans le tableau suivant :

Tableau 1 : Répartition de la population témoin selon l'âge

âge	N	%
[20-30[0	0
[30-40[1	10
[40-50[3	30
[50-60[3	30
[60-70[1	10
>70	2	20
	10	100

1.2. Les sujets malades

Notre échantillon s'étale sur une étendu de 48 ans avec un âge minimal de 20 ans et un âge maximal de 80 ans. La moyenne d'âge de notre échantillon est de 58 ans.

Tableau 2 : Répartition des sujets présentant un cancer du col de l'utérus selon l'âge

âge	N	%
[20-30[0	0
[30-40[1	10
[40-50[3	30
[50-60[3	30
[60-70[1	10
>70	2	20

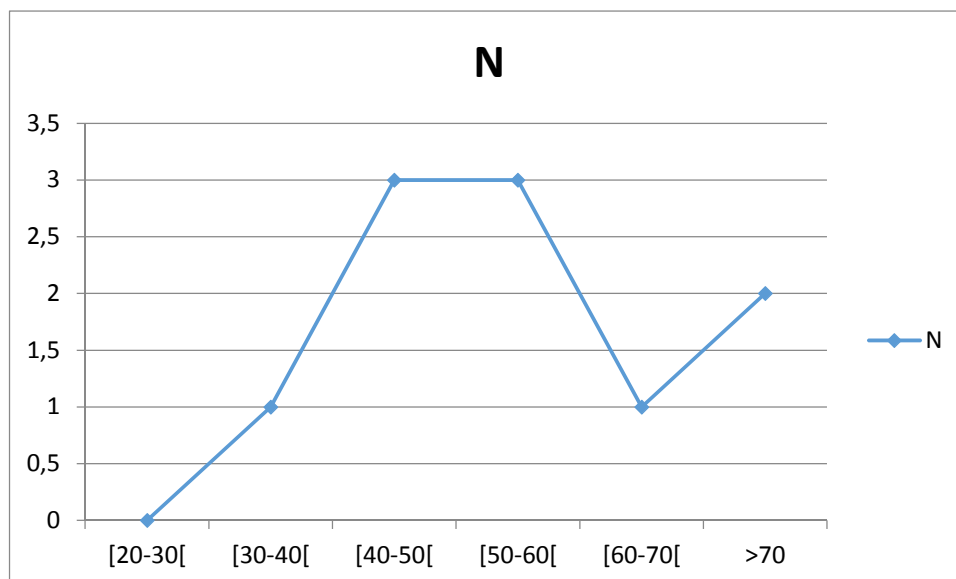


Figure 15 : Répartition des sujets avec un cancer du col de l'utérus selon l'âge

On observe une augmentation de l'incidence de la maladie avec l'âge. Les individus les plus touchés sont situés entre 40 et 60 ans. L'incidence diminue un peu entre 60 et 70 ans et elle augmente à nouveau au-delà de 70 ans

La majorité des infections à HPV et en particulier les HPV à haut risque oncogène sont transitoires avant 35 ans. La proportion des femmes concernées par cette infection après 35 ans sont celles qui ont une infection persistante par les HPV à haut risque et pour lesquelles une lésion cervicale actuelle ou future a une forte probabilité d'être détectée. Un âge plus élevé entraîne un taux de clairance plus faible (MONSONEGO J.2007)

2. Les facteurs de risque du cancer du col de l'utérus

Nous nous sommes intéressés aux facteurs de risque suivants : le tabac, l'âge du mariage, l'âge de la première grossesse, le nombre de grossesses, multiplicité des partenaires et le niveau socio-économique.

2.1. Le tabac

La consommation de tabac semble être fortement associée au développement des lésions cervicales précancéreuses et au cancer du col utérin (Hildesheim *et al.*, 2001 ; Szarewski *et al.*, 1998).

Mais dans notre recherche on n'a pas trouvé de femmes fumeuses dans la population malade mais nos malades peuvent être exposées au tabagisme passif, ce qui explique l'absence de cas fumeuses dans cette recherche alors que le tabac est considéré comme un facteur de risque dans la majorité des cancers.

2.2. Age du mariage

Dans notre population 50% des femmes ont eu des rapports sexuels très précoces (l'âge du mariage est entre 15 et 20 ans). Le pourcentage des femmes mariées entre 21 et 25 ans est de 30%. Seulement 10% des femmes se sont mariées avant 15ans, le même pourcentage est observé pour les femmes mariées au-delà de 25 ans.

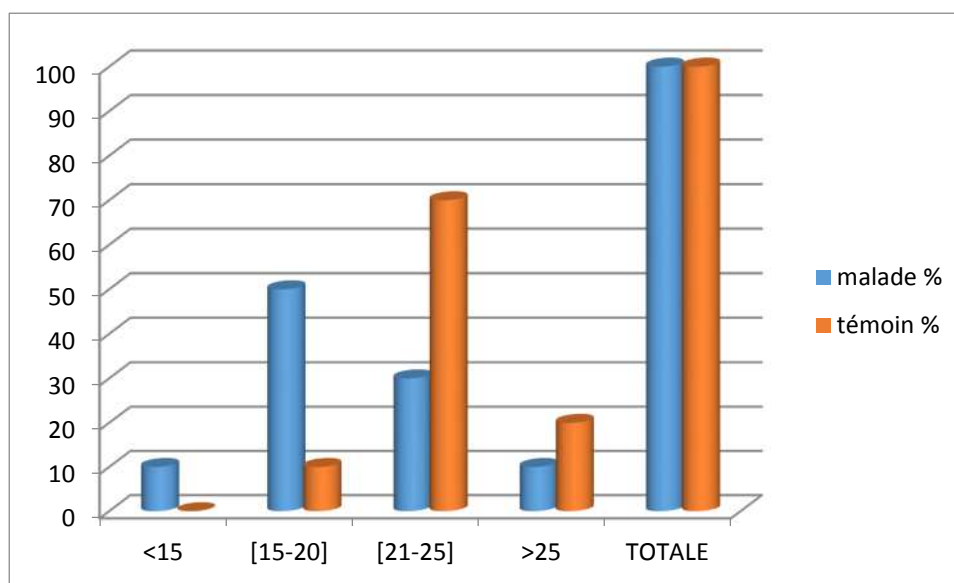


Figure 16 : Répartition des femmes avec un cancer du col de l'utérus selon l'âge du mariage

On croit que l'activité sexuelle précoce accroît le risque du cancer du col de l'utérus puisqu'un grand nombre des changements qui se produisent dans le tissu cervical lors de la puberté rendent la région plus vulnérable aux lésions.

Les femmes ayant eu leur premier rapport a un âge précoce avant 16 ans présentent un risque deux fois plus élevé que celle dont le premier rapport a eu lieu après 20 ans (Kokotek, 2011).

2.3. Age de la 1^{ère} grossesse

L'âge précoce de la première grossesse a été représenté dans la population malade par un pourcentage de 40%, 10% de femmes malades ont tombée enceinte a un âge très précoce (≤ 15), chez la population témoin il y a une absence de grossesse dans un âge précoce et même très précoce.

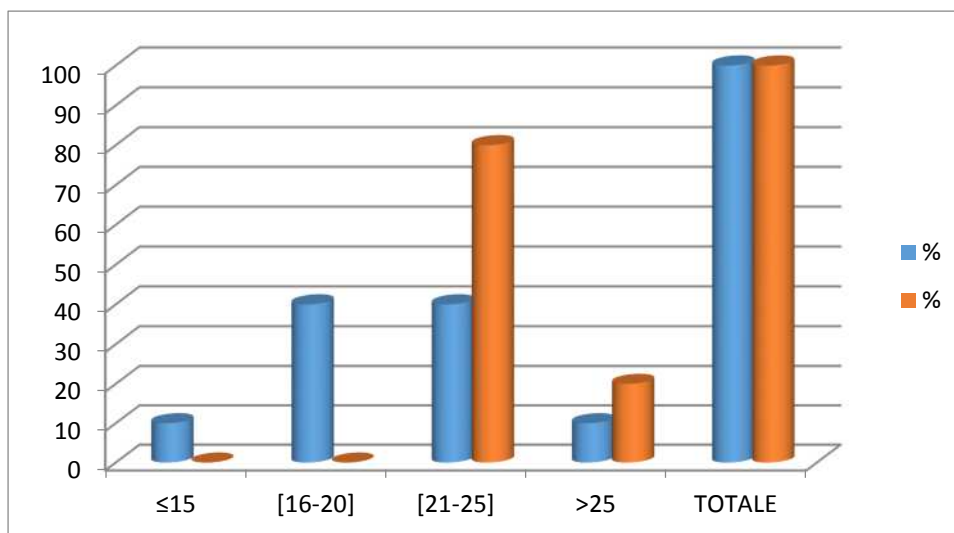


Figure 17: Répartition des malades en fonction de l'âge de la première grossesse

Il semble que les femmes dont l'âge de la première grossesse est précoce ont un risque plus élevé d'avoir un cancer du col utérin à cause de l'inversion de l'épithélium cylindrique pendant la grossesse qui fait apparaître un épithélium métaplasique immature et des transformations cellulaires

2.4. Nombre de grossesse

La multiparité est représentée dans les deux populations avec un pourcentage élevé chez la population malade par rapport à la population témoin. Presque la moitié de l'ensemble des femmes atteintes de cancer du col utérin sont des multipares, cela est plus au moins fréquent chez la population témoin avec un pourcentage de 30%

La grande multiparité (plus que 5 enfants) constitue 60% pour la population malade et 20% pour la population témoin.

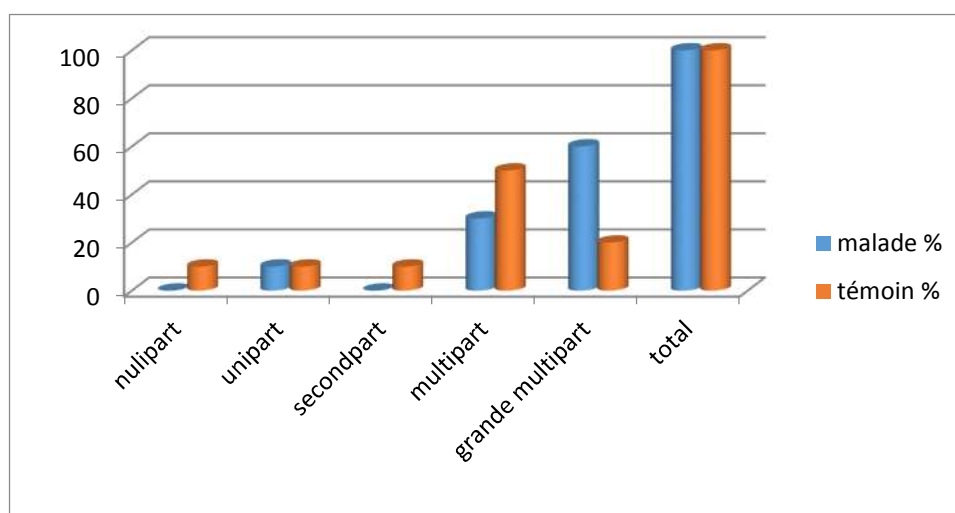


Figure 18 : Répartition des malades en fonction de nombre de grossesse

Les données groupées de huit études cas-témoins sur le cancer invasif du col utérin et deux études sur le cancer in situ (CIS) provenant de quatre continents semblent montrer que, par rapport à des femmes qui n'ont jamais eu d'enfant, celles qui en ont eu trois ou quatre ont 2,6 fois plus de risque de contracter un cancer du col utérin ; celles qui en ont eu sept ou plus avaient 3,8 fois plus de risque (Muñoz *et al.*, 2002). D'autres études corroborent cette relation positive établie entre le nombre d'enfants et le cancer du col (Thomas *et al.*, 2001).

2.5. Multiplicité des partenaires

C'est une notion difficile à préciser car elle représente un sujet tabou. Elle a été précisée selon la situation familiale des sujets.

Dans La population malade la multiplicité des partenaires est représentée chez 20% des femmes qui sont mariées deux fois et 0% chez la population témoin.

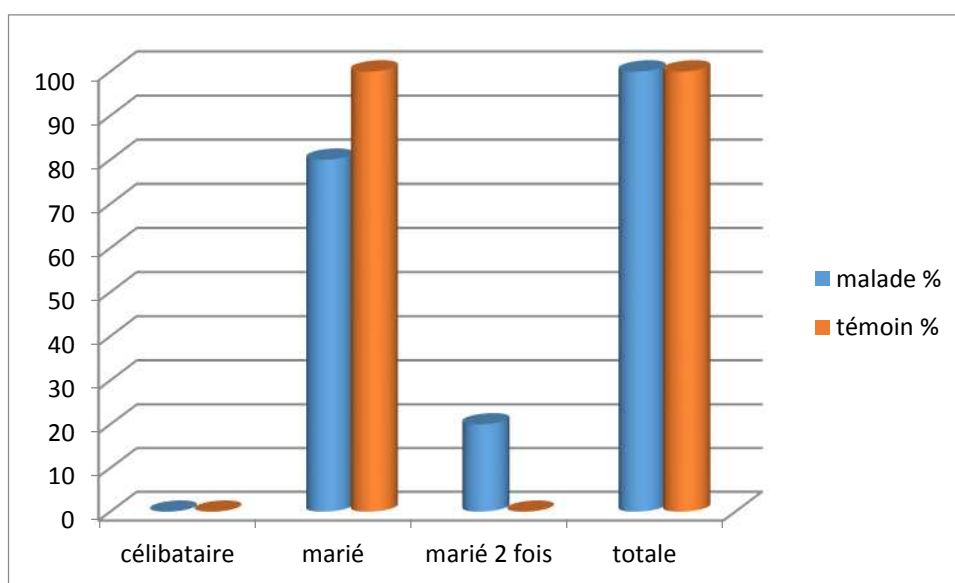


Figure 19 : Répartition des malades et témoin selon la situation familiale.

Les résultats donnés par la VECCHIA en 1986 a démontré que les femmes ayant comme en céléuractivité sexuelle avant 23 ans et avec plus2 partenaires sexuel sont trois fois plus de risque de cancer in situ(CIS) et de cancer invasif.

2.6. Niveau socio-économique

90% de notre population malade sont sans profession et probablement issues d'un niveau socioéconomique bas.

Par contre dans notre population témoin le niveau socioéconomique est plus au moins élevé représenté par le fait que 70% des femmes soient cultivées ayant des fonctions et un niveau universitaire.

3. Etude clinique

3.1. Les typeshistologiques du cancer

On a pu classer les différents types histologiques du cancer du col de l'utérus d'après les résultats de l'examen histologique mentionné dans les dossiers des patientes. On a trouvé que le cancer épidermoïde représente la majorité des cas avec 80%, seulement 10% des cas présente un adénocarcinome, et enfin pour 10 % des malades le type du cancer n'a pas été mentionner dans leurs dossiers.

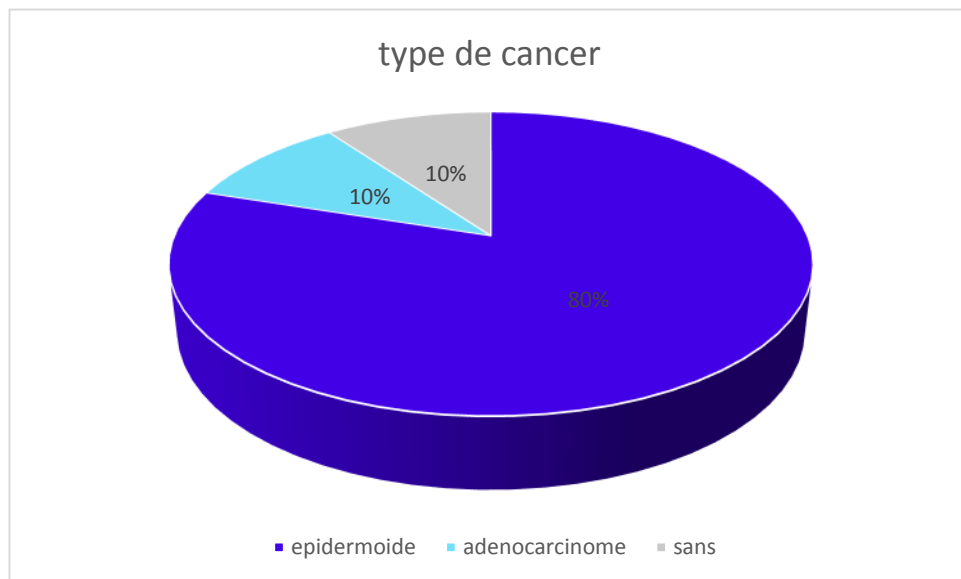


Figure 20 : la répartition des malades selon le type histologique du cancer du col de l'utérus

Nos résultats concordent avec la littérature où le cancaner épidermoïde représente l'immense majorité des cas (85-90%) (Gerbaulet *et al.*, 1997).

3.2. Stade du cancer

Le stade le plus fréquent chez les patientes est : IIB, 50% de la population malade sont à ce stade par contre 20% représente le stade IIIB, et 30% pour le stade IB.

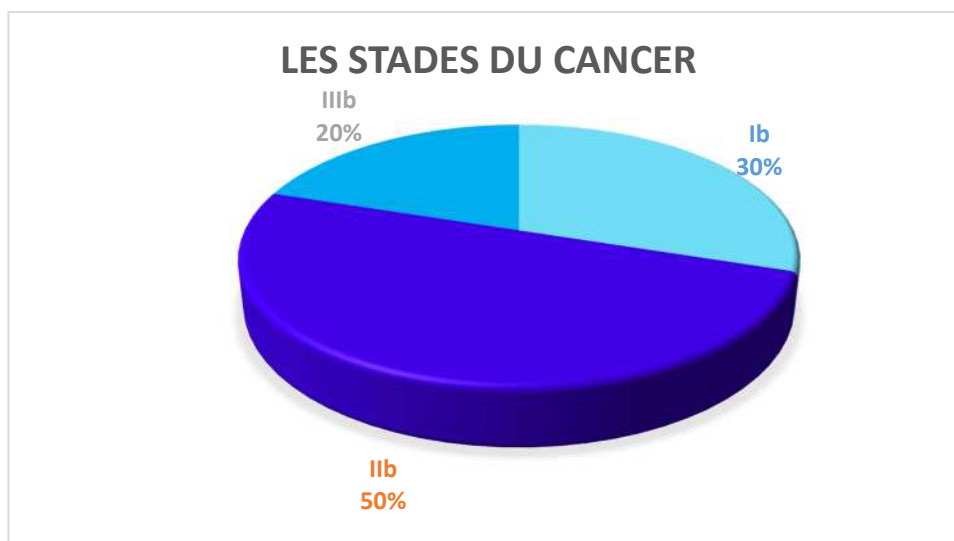


Figure 21 : La répartition des malades selon le stade clinique

4. Fréquence génotypique du polymorphisme insertion/délétion de l'ECA 16

L'étude génétique du polymorphisme d'insertion/délétion de l'enzyme de conversion de l'angiotensine a concerné 10 témoins et 10 malades. Après la première PCR, 2 malades et 7 témoins avec le génotype DD ont subis une deuxième PCR de confirmation de la délétion. Le profil électrophorétique de la deuxième PCR a montré que seulement un malade et 3 témoins présentent réellement la délétion. Les génotypes des deux populations ont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 3 : Les génotypes des deux populations obtenus après la PCR

	malade		Témoin	
	N	%	N	%
DD	1	10	3	30
DI	9	90	7	70
II	0	0	0	0

Chapitre V : Résultats et Discussion

La fréquence des hétérozygotes (D/I) chez les sujets avec cancer du col de l'utérus est de 90% et celle du génotype homozygote délété (D/D) est de 10%. Nous constatons qu'on n'a pas de sujet avec le génotype I/I pour les deux populations malade et témoin. Il y a une différence des fréquences de délétion entre les sujets témoins et les sujets malade (respectivement 30% et 10%).

Notre résultat ne montre pas d'association entre la délétion et le cancer du col de l'utérus. Cela peut être expliqué par la taille de notre échantillon car les résultats obtenus par (Jun-Ge Han, 2012) sur une population de 147 sujets avec un cancer du col de l'utérus ont prouvés qu'il y a une relation entre la délétion du gène de l'ECA et le cancer du col de l'utérus.

Plusieurs études ont montré l'implication du polymorphisme d'insertion/délétion du gène de l'ECA dans différents cancers mais jusqu'à 2012 aucune étude n'a été réalisé pour l'implication de ce polymorphisme dans le cancer du col de l'utérus. Depuis peu d'étude ont été réalisées. D'autres études avec une population plus large reste envisageables pour l'étude de ce nouveau marqueur génétique du cancer du col de l'utérus.

Bibliographie

- ✚ **Al Sallout RJ**, Sharif FA. Polymorphisms in NOS3, ACE and PAI-1 genes and risk of spontaneous recurrent miscarriage in the gaza strip. *Med Princ Pract*, **2010**, 19:99-104.
- ✚ **Anguelova E**, Beuvon F, Leonard N, *et al.* Functional endothelin ET(B) receptors are selectively expressed in human oligodendrogliomas. *Brain Res Mol Brain Res*, **2005**, 137 : 77-88.
- ✚ **Arzu Y**, Sebahat T, Raziye K, *et al.* Association between the polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene and tumor size of breast cancer in premenopausal patients. *Tohoku J EXP.med*, 2006, 210:109-16.
- ✚ **Attal.** - Stratégie Préventive du Dépistage du Cancer du Col de l'Utérus en Médecine Général, **2012**.
- ✚ **Bagnato A, Spinella F.** Emerging role of endothelin-1 in tumor angiogenesis *Trends Endocrinol Metab*, **2003**, 14 : 44-50.
- ✚ **Barasso R.** - Cancer du col : quel dépistage avant 40 ans ? *Reprod. Hum. Horm*, **1995**, 8, 7,413-415
- ✚ **Barbosa MS, Lowy DR, Schiller JT** - Papillomavirus polypeptides E6 and E7 are zinc-binding proteins. *J Virol*, **1989**, 63:1404-7.
- ✚ **Barlev NA, Liu L, Chehab NH, Mansfield K, Harris KG, Halazonetis TD, Berger SL.** - Acetylation of p53 activates transcription through recruitment of coactivators/histone acetyltransferases. *Mol Cell*, **2001**, 8:1243-54.
- ✚ **BasemanJ.,KoutskyL.** -The epidemiology of human papillomavirus infections.*ClinVirolMar*;32Suppl, **2007**, 1:S16-S24.
- ✚ **Belot A., Grosclaude P., Bossard N., Jougla E., Benhamou E.** - Cancer incidence and mortality in France over the period 1980-2005. *Rev Epidemiol Sante Publique*. **2008**, 56, 159-175.
- ✚ **Bernard P.** - Les néoplasies intra épithéliales de haut grade du col utérin, **1999**.
- ✚ **Bosch FX, de Sanjose S. Chapter 1.** - Human papillomavirus and cervical cancer-Burden and assessment of causality. *Journal of the National Cancer Institute Monographs*, **2003**, 31:3-13.
- ✚ **Boyer SN, Wazer DE, Band V** - E7 protein of human papilloma virus-16 induces degradation of retinoblastoma protein through the ubiquitin-proteasome pathway. *Cancer Res*, **1996**, 56:4620-4.

Bibliographie

- ✚ **Carl-McGrath S, Ebert MP, Lendeckel U, et al.** Expression of the Local Angiotensin II System in Gastric Cancer May Facilitate Lymphatic Invasion and Nodal Spread. *Cancer Biology & Therapy*, **2007**, 6(8):1-9.
- ✚ **Castellsagué X, Bosch FX, Muñoz, N.** - Environmental co-factors in HPV carcinogenesis. *Virus Research*, **2002**, 89 (2):191–199.
- ✚ **Chakrabarti O, Krishna S** - Molecular interactions of 'high risk' human papillomaviruses E6 and E7 oncoproteins: implications for tumour progression. *J Biosci*, **2003**, 28:337-48.
- ✚ **Charlotte Boulad-Ladame.** -Cancer du col de l'utérus : Etude de l'oncoprotéine E6 du papillomavirus humain de type 16 et adressage de vecteurs adenovirus, **2009**.
- ✚ **Cooper B, Schneider S, Bohl J,** -Requirement of E6AP and the features of human papillomavirus E6 necessary to support degradation of p53. *Virology*, **2003**, 306 (1), 87–99.
- ✚ **Crook T, Tidy JA, & Vousden KH.** -Degradation of p53 can be targeted by HPV E6 sequences distinct from those required for p53 binding and trans-activation. *Cell*, **1991**, 67 (3), 547–556.
- ✚ **Culp TD, Christensen ND** -Kinetics of In vitro adsorption and entry of papillomavirus virions. *Virology*, **2004**, 319:152-61.
- ✚ **Czegledy J.**-Sexual and non -sexual transmission of human papillomavirus. *Acta Microbiol Immunol Hung*, **2001**, 48(3-4), 511-7.
- ✚ **Day PM, Lowy DR, Schiller JT** -Papillomaviruses infect cells via a clathrin-dependent pathway. *Virology*, **2003**, 307:1-11.
- ✚ **De Sanjose S, Palefsky J-** Cervical and anal HPV infections in HIV positive women and men. *Virus Research*, **2002**, 89(2):201–211.
- ✚ **Denis-** HPV16 E6 oncoprotein inhibits apoptosis induced during serum-calcium differentiation of foreskin human keratinocytes. *Virology*, **1999**, 257(2), 383–396.
- ✚ **Deshayes F, Nahmias C.** Angiotensin II receptors : a new role in cancer ? *Trends Endocrinol Metab*, **2005** ; 16 : 293-9.
- ✚ **Djigma, W.F-** Caractérisation moléculaires des papillomavirus humains et leurs co-infection avec les mycoplasmes chez les femmes VIH-séropositives et negatives a ouagadougou, **2011**.
- ✚ **Dos Santos IS, Beral V-** Socio-economic differences in reproductive behaviour. IARC Scientific Publications, **1997**, 38:285–308.

Bibliographie

- ✚ **D'Souza G, Agrawal Y, Halpern J-** Oral sexual behaviors associated with prevalent oral human papillomavirus infection. *The Journal of Infectious Diseases*, **2009**, 199(9), 1263-1269.
- ✚ **Dyson N, Guida P, Munger K, Harlow E-** Homologous sequences in adenovirus E1A and human papillomavirus E7 proteins mediate interaction with the same set of cellular proteins. *J Virol*, **1992**, 66:6893-902.
- ✚ **Edmonds C, Vousden KH-** A point mutational analysis of human papillomavirus type 16 E7 protein. *J Virol*, **1989**, 63:2650-6.
- ✚ **Egami K, Murohara T, Shimada T, et al.** Role of host angiotensin II type 1 receptor in tumor angiogenesis and growth. *J Clin Invest*, **2003**, 112 : 67-75.
- ✚ **Elbaz N, Bedecs K, Masson M, et al.** Functional trans-inactivation of insulin receptor kinase by growth-inhibitory angiotensin II AT2 receptor. *Mol Endocrinol*, **2000** ; 14 : 795-804.
- ✚ **Escobar E, Rodriguez-Reyna TS, Arrieta O, Sotelo J.** Angiotensin II, cell proliferation and angiogenesis regulator : biologic and therapeutic implications in cancer. *Curr Vasc Pharmacol*, **2004** ; 2 : 385-99.
- ✚ **ESMO-** cancer du col utérin : un guide pour les patients – basé sur les recommandations de L'ESMO-v, **2012**.
- ✚ **Fauquet C, Mayot M, Maniloff J-** Virus Taxonomy: VIIIth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses, **2005**.
- ✚ **FMPIFO-** faculté de médecine PIFO : cours de gynécologie, **2009**.
- ✚ **Fujita M, Hayashi I, Yamashina S, et al.** Angiotensin type 1a receptor signaling-dependent induction of vascular endothelial growth factor in stroma is relevant to tumor-associated angiogenesis and tumor growth. *Carcinogenesis*, **2005**, 26: 271-9.
- ✚ **Gerbaulet et Coen-**Cancer du col utérin. *Cancers : évaluation, traitement et surveillance*. Colonna Ed. ESTEM, PARIS, **1997**.
- ✚ **Gewin L, Myers H, Kiyono T, Galloway DA -** Identification of a novel telomerase repressor that interacts with the human papillomavirus type-16 E6/E6-AP complex. *Genes & Development*, **2004**, 18 (18), 2269-2282.
- ✚ **Gillison ML, D'Souza G, Westra W, et al. 2008-** Distinct risk factor profiles for human papillomavirus type 16-positive and human papillomavirus type 16-negative head and neck cancers. *Journal of the National Cancer Institute*, 100(6), 407-420.
- ✚ **Gonzalez SL, Stremlau M, He X, Basile JR, Munger K-** Degradation of the retinoblastoma tumor suppressor by the human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein is

Bibliographie

- important for functional inactivation and is separable from proteasomal degradation of E7. *J Virol*, **2001**, 75:7583-91.
- ✚ **Gonzalez Zuloeta Ladd AM**, Vasquez AA, Tabatabaei FAS, et al. Angiotensin converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism and breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, **2005**, 14:2143–6.
 - ✚ **Grant K, Loizidou M, Taylor I**. Endothelin-1 : a multifunctional molecule in cancer. *Br J Cancer*, **2003**, 88 : 163-6.
 - ✚ **Grossman SR, Laimins LA**- E6 protein of human papillomavirus type 18 binds zinc. *Oncogene*, **1989**, 4:1089-93.
 - ✚ **GuillEmotonia A., Tralaloc P**-Adénocarcinomes cervicaux vaginaux : problèmes diagnostiques. *Reprod. Hum. Horm*, **1995**, 8, 7,429-431.
 - ✚ **Hainaut P, Hernandez T, Robinson A, Rodriguez-Tome P, Flores T, Hollstein M, Harris CC, Montesano R** - IARC Database of p53 gene mutations in human tumors and cell lines: updated compilation, revised formats and new visualisation tools. *Nucleic Acids Res*, **1998**, 26:205-13.
 - ✚ **HAMDI CHERIF Mokhtar**. ENREGISTREMENT DU CANCER EN ALGERIE Contexte et évolution, 2010.
 - ✚ **Hildesheim A, Herrero R, Castle PE**- HPV co -factors related to the development of cervical cancer: results from a population-based study in Costa Rica. *British Journal of Cancer*, **2001**, 84(9): 1219–1226.
 - ✚ **Hoffstelter S, Trouflau P, Weber B**- Néoplasies intra épithéliales et carcinome micro-invasif du col utérin *Bull.Cancer.Radiother*, **1994** , 81,473-445.
 - ✚ **Honda R, Tanaka H, Yasuda H**- Oncoprotein MDM2 is a ubiquitin ligase E3 for tumor suppressor p53. *FEBS Lett*, **1997**, 420:25-7.
 - ✚ [http : //omarqasmieh.files.wordpress.com.2012](http://omarqasmieh.files.wordpress.com.2012)- Anatomie de l’utérus.
 - ✚ [http : //www.biologie.ens-lyon.fr.2009](http://www.biologie.ens-lyon.fr.2009)-/génom- des –papillomavirus.
 - ✚ [http : //www.cancer.ca.2007](http://www.cancer.ca.2007)-société canadienne du cancer, le cancer : une lutte a finir.
 - ✚ [http : //www.ligue-cancer.net.2009](http://www.ligue-cancer.net.2009)-/shared/.../cancers-appareil-genital-feminin.
 - ✚ [http:// www.med.univ-montp1.fr](http://www.med.univ-montp1.fr).Année Universitaire 2007-2008Anatomie d’Appareil génitale féminine.
 - ✚ <http://www.echoalgerie.com.2013>-article.php?id=2204.
 - ✚ **Huh K, Zhou X, Hayakawa H, Cho JY, Libermann TA, Jin J, Harper JW, Munger K** **2007**- Human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein associates with the cullin 2 ubiquitin

Bibliographie

- ligase complex, which contributes to degradation of the retinoblastoma tumor suppressor. *J Virol* 81:9737-47.
- ✚ **Huibregtse JM, Scheffner M, Howley PM** - A cellular protein mediates association of p53 with the E6 oncoprotein of human papillomavirus types 16 or 18. *Embo J*, **1991**, 10:4129-35.
 - ✚ **IARC N**: handbooks of cancer prevention: cervix cancer screening. Lyon, **2005**.
 - ✚ **Jones DL, Thompson DA, Munger K**- Destabilization of the RB tumor suppressor protein and stabilization of p53 contribute to HPV type 16 E7-induced apoptosis. *Virology*, **1997**, 239:97-107.
 - ✚ **Juillerat-Jeanneret L, Celerier J, Chapuis Bernasconi C, et al.** Renin and angiotensinogen expression and functions in growth and apoptosis of human glioblastoma. *Br J Cancer*, 2004 ; 90 : 1059-68.
 - ✚ **Jun-Ge Han, Hong Jin, Lin-Bo Gao, Jian Zhang, Xue-Ke Deng, Li-Juan Li , Chang-Ping Song , Tao Wang, Lin Zhang** Relationship between Polymorphisms of Angiotensin-converting Enzyme Gene Insertion/Deletion Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Intron 4 VNTR and Risk for Cervical Cancer, **2012**.

 - ✚ **Kim KH, Yoon DJ, Moon YA, Kim YS**- Expression and localization of human papillomavirus type16 E6 and E7 open reading frame proteins in human epidermal keratinocyte. *Yonsei Med*, **1994**, J 35:1-9.
 - ✚ **Kiyono T, Foster SA, Koop JI** - Both Rb/p16INK4a inactivation and telomerase activity are required to immortalize human epithelial cells. *Nature*, **1998**, 396(6706), 84-88.
 - ✚ **Klingelutz AJ, Foster SA, & McDougall JK** - Telomerase activation by the E6 gene product of human papillomavirus type 16. *Nature*, **1996**, 380(6569), 79-82.
 - ✚ **Koh WP, Yuan JM, Sun CL, et al.** Angiotensin I-converting enzyme (ACE) gene polymorphism and breast cancer risk among Chinese women in Singapore. *Cancer Res* **2003**, 63:573-8.
 - ✚ **Kokotek, M**-Introduction du vaccine Gardasil : Expérience d'un programme de vaccin systématique et organisé. **2011**.
 - ✚ **Kumar A, Zhao Y, Meng G**-Human papillomavirus oncoprotein E6 inactivates the transcriptional coactivator human ADA3. *Molecular and Cellular Biology*, **2002**, 22(16), 5801-5812.
 - ✚ **Laaredj N**: les cancers du col utérin .thèse pour obtenir le doctorat en médecine. Université du Casablanca. Maroc, **2006**.

Bibliographie

- ✚ **Lahav R, Heffner G, Patterson PH.** An endothelin receptor B antagonist inhibits growth and induces cell death in human melanoma cells *in vitro* and *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA*, **1999**, 96 : 11496-500.
- ✚ **Le Cru F.,Hoffman H.,Mezan De Malartic., Taurelle R-** Cancer micro-invasif du col utérin, *J. Gynecol.Obstet. Biol.Reprod*, **1997**, 26, 662-670.
- ✚ **Lechner MS, & Laimins LA** - Inhibition of p53 DNA binding by human papillomavirus E6 proteins. *Journal of Virology*, **1994**, 68(7), 4262-4273.
- ✚ **Li E, Stupack D, Bokoch GM, Nemerow GR** - Adenovirus endocytosis requires actin cytoskeleton reorganization mediated by Rho family GTPases. *J Virol*, **1998**, 72, 8806-12.
- ✚ **Liu X, Clements A, Zhao K, Marmorstein R:** Structure of the human Papillomavirus E7 oncoprotein and its mechanism for inactivation of the retinoblastoma tumor suppressor. *J Biol Chem*, **2006**, 281:578-86.
- ✚ **Liu Y, Chen JJ, Gao Q**-Multiple functions of human papillomavirus type 16 E6 contribute to the immortalization of mammary epithelial cells. *Journal of Virology*, **1999**, 73(9) , 7297-7307.
- ✚ **Luc Van Haute** - Fondation contre le Cancer - Chaussée de Louvain 479, B-1030 Bruxelles, **2003**.
- ✚ **Mantovani F, & Banks L**-The human papillomavirus E6 protein and its contribution to malignant progression. *Oncogene*, **2001**, 20(54), 7874-7887.
- ✚ **Martel P.,Connan L.,Bonnet F.,Delannes M., Mihura J., Elgaoui. A-** Aspects diagnostiques, pronostiques et thérapeutiques des adénocarcinomes du col utérin : à propos d'une série de 49 cas (étude cas-témoins). *J. Gynecol.ObstetBiol.Reprod*, **2000**, 29, 48-54.
- ✚ **Mclaughlin-Drubin ME. Et Munger K**-The human papillomavirus E7 oncoprotein. *Virology*, **2009**, 384(2), 335-44.
- ✚ **Medeiros R, Vasconcelos A, Costa S, et al.** Linkage of angiotensin I-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism to the progression of human prostate cancer. *J Pathol* **2004**, 202:330-5
- ✚ **Monsonogo J.** and editor-Infections à papillomavirus, état des connaissances, pratiques et prévention vaccinale. Paris: Springer. ISBN-10: 2-287-33479-3; ISBN-13: , **2006**, 978-2-287-33479-5. 245pp.
- ✚ **montagne, L-** Question autour de l'introduction d'une vaccination de masse contre les papillomavirus, **2010**.

Bibliographie

- ✚ **Munger K, Werness BA, Dyson N, Phelps WC, Harlow E, Howley PM**-Complex formation of human papillomavirus E7 proteins with the retinoblastoma tumor suppressor gene product. *Embo*, **1989**, J8:4099-105.
- ✚ **Muñoz N, Bosch FX, de Sanjose S** - Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *New England Journal of Medicine*, **2003**, 348(6), 518–527.
- ✚ **Muñoz N, Franceschi S, Bosetti C**- Role of parity and human papillomavirus in cervical cancer: the IARC multicentric case-control study. *Lancet*, **2002**, 359(9312), 1093–1101.
- ✚ **Munoz N, Castellsague X, Gonzalez A**-Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer. *Vaccine*: **2007**, S1-S10.-tg.
- ✚ **Naima El Aarji** -Les Cancers du col utérin (A propos de 172 cas) **2006**.
- ✚ **Nelson J**, Bagnato A, Battistini B, Nisen P. The endothelin axis : emerging role in cancer. *Nat Rev Cancer*, **2003**, 3 : 110-6.
- ✚ **Nelson JB, Hedican SP, George DJ**- Identification of endothelin-1 in the pathophysiology of metastatic adenocarcinoma of the prostate. *Nat Med*, **1995**, 1: 944-9.
- ✚ **Nicolas Duport**-Données épidémiologiques sur le cancer du col de l'utérus, **2007**.
- ✚ **Nomine Y, Masson M, Charbonnier S, Zanier K, Ristriani T, Deryckere F, Sibler AP, Desplancq D, Atkinson RA, Weiss E, Orfanoudakis G, Kieffer B, Trave G**-Structural and functional analysis of E6 oncoprotein: insights in the molecular pathways of human papillomavirus-mediated pathogenesis *Mol Cell*, **2006**, 21, 665-78.
- ✚ **Nouet S, Amzallag N, Li J, et al.** Trans-inactivation of receptor tyrosine kinases by novel angiotensin II AT2 receptor-interacting protein, ATIP. *J Biol Chem* 2004 ; 279 : 28989-97
- ✚ **Nouet S, Nahmias C.** Signal transduction from the angiotensin II AT2 receptor. *Trends Endocrinol Metab*, **2000**, 11 : 1-6.
- ✚ **Ozbun MA, Meyers C**-Temporal usage of multiple promoters during the life cycle of human papillomavirus type 31b. *J Virol*, **1998**, 72, 2715-22.
- ✚ **Pan H, Griep AE**-Temporally distinct patterns of p53-dependent and p53-independent apoptosis during mouse lens development. *Genes Dev*, **1995**, 9:2157-69.
- ✚ **Parkin DM, Stjernsward J, Muir CS.** Estimates of the worldwide frequency of twelve major cancers. *Bull WHO*, **1984**, 62 : 1 63-82.
- ✚ **Patel D, Huang SM, Baglia LA, & McCance DJ**-The E6 protein of human papillomavirus type 16 binds to and inhibits co-activation by CBP and p300. *The EMBO Journal*, **1999**, 18(18) , 5061-5072.

Bibliographie

- ✚ **Patrick DR, Oliff A, Heimbrook DC** - Identification of a novel retinoblastoma gene product binding site on human papillomavirus type 16 E7 protein. *J Biol Chem*, **1994**, 269, 6842-50.
- ✚ **Pereira R, Hitzeroth II, & Rybicki EP**- Insights into the role and function of L2, the minor capsid protein of papillomaviruses. *Archives of Virology*, **2009**154(2), 187-197.
- ✚ **Pr Mokhtar Hamdi Cherif**-Enregistrement du cancer en Algérie contexte et évolution, **2010**.
- ✚ **Reich O., Pickel H., Tamussino K., Winter R**- Microinvasive carcinoma of the cervix: site of first focus of invasion. *Obstet. Gynecol*, **2001**, 97, 6, 8889-891 .
- ✚ **Röcken C, Lendelkel U, Dierkes J, et al.** The number of the lymph node metastasis in gastric cancer correlates with the Angiotensin I-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism. *Clin Cancer Res*, **2005**, 11:2526–30
- ✚ **Rouquille Nelly**- papillomavirus et cancer associés : Données actualisées sur le dépistage ,Les recommandations Et la prophylaxie vaccinale, **2009**.
- ✚ **Sapp M, Day PM**-Structure, attachment and entry of polyoma- and papillomaviruses. *Virology*, **2009**, 384, 400-9.
- ✚ **Scheffner M, Huibregtse JM, Vierstra RD, & Howley PM**-The HPV-16 E6 and E6-AP complex functions as a ubiquitin-protein ligase in the ubiquitination of p53. *Cell*, **1993**, 75(3), 495-505.
- ✚ **Scheffner M, Werness BA, Huibregtse JM**- The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. *Cell*, **1990**, 63(6), 1129-1136.
- ✚ **Schiffman M, Castle PE, Jeronimo J, et al.** Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet* **2007**; 370:890-907.
- ✚ **Schwartz SM, Daling JR, Doody DR**- Oral cancer risk In relation to sexual history and evidence of human papillomavirus infection. *Journal of the National Cancer Institute*, **1998**, 90(21), 1626-1636.
- ✚ **Seedorf K, Krämmer G, Dürst M** - Human papillomavirus type 16 DNA sequence. *Virology*, **1985**, 145(1), 181-185.
- ✚ **Smith JS, Herrero R, Bosetti C**- Herpes simplex virus- 2 as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, **2002**, 94(21),1604–1613.
- ✚ **Sophie Isautier**- Place de la Vaccination Anti papillomavirus Humains dans la Prévention du Cancer du Col de L’uterus Situation a L’ile de la Reunion, **2012** .

Bibliographie

- ✚ **Sugimoto M, Furuta T, Shirai N, et al.** Influences of chymase and angiotensin I-converting enzyme gene polymorphisms on gastric cancer risks in Japan. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, **2006**, 15, 1929-34.
- ✚ **Szarewski A, Cuzick J-** Smoking and cervical neoplasia: a review of the evidence. *Journal of Epidemiological Biostatistics*, **1998**, 3, 229–256.

- ✚ **Thomas DB, Qin Q, Kuypers J-** Human papillomavirus and cervical cancer in Bangkok. II. Risk factors for in situ and invasive squamous cell cervical carcinomas. *American Journal of Epidemiology*, **2001**, 153,732–739 .
- ✚ **Thomas DB, Ray RM, Kuypers J, Kiviat N, Koetsawang A, Ashley RL, Qin Q, Koetsawang S-**Human papillomaviruses and cervical cancer in Bangkok. III. The role of husbands and commercial sex workers. *Am J Epidemiol*, **2001**, 153(8), 740-8.
- ✚ **Thomas M, Massimi P, Jenkins J, & Banks L-** HPV-18 E6 mediated inhibition of p53 DNA binding activity is independent of E6 induced degradation. *Oncogene*, **1995**, 10(2), 261–268.
- ✚ **Thomas MC, & Chiang C-**E6 oncoprotein represses p53-dependent gene activation via inhibition of protein acetylation independently of inducing p53 degradation. *Molecular Cell*, **2005**, 17(2), 251–264.
- ✚ **Veldman T, Liu X, Yuan H, & Schlegel R-** Human papillomavirus E6 and Myc proteins associate in vivo and bind to and cooperatively activate the telomerase reverse transcriptase promoter. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **2003**, 100 (14), 8211–8216.
- ✚ **Walboomers JM-** Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *Journal of Pathology*, 1999, 189, 12-19.
- ✚ **Webb JC.,Key C., Clifford R.,Harriet O-** Population based study of Obstet. Gynecol, **2001**, 97, 5, 701-706.
- ✚ **Winer RL., Kiviat NB., Hughes JP., Adam DE., Lee SK., Kuypers JM. et Koutsky LA-** Development and duration of human papillomavirus lesions, after initial infection. *J Infect Dis*, **2005**, 191(5), 731-8.
- ✚ **Zur Hausen Harald-** Human papillomavirus & cervical cancer. *Indian J Med Res*, **2009**, 130, pp 209.

Résumé

Le cancer du col de l'utérus continue de poser un réel problème de santé, même dans les pays développés. Sa fréquence décroît grâce au dépistage précoce des lésions précancéreuses. Les cellules cancéreuses du col sont presque toujours associées à la présence dans leur génome de l'ADN de papillomavirus de type 16 ou 18.

Dans notre étude on a confirmé l'effet de plusieurs facteurs de risque tels que : l'âge, l'âge précoce du mariage et de grossesse, la multiparité et la multiplicité des partenaires ajoutant le tabagisme passif avec la survenue du cancer du col de l'utérus. Par contre nous n'avons pas trouvé de relation entre le polymorphisme du gène de l'ECA et le cancer du col.

Mots clé :

Cancer du col de l'utérus, polymorphisme, papillomavirus, Enzyme de conversion de l'angiotensine, ADN, oncoprotéine.



Abstract

Cancer of the cervix remains a real health problem, even in developed countries. Its frequency decreases through early detection of precancerous lesions. Cervical cancer cells are almost always associated with the presence in their genome DNA of papillomavirus type 16 or 18.

In our study we confirmed the effect of several risk factors such as age, early age of marriage and pregnancy, multiparity and multiple partners adding passive smoking occurred with the cervical cancer uterus. By cons we did not find any relationship between the polymorphism of the ACE gene and cervical cancer.

Keywords:

Cancer of the cervix, polymorphism, papillomavirus, Converting enzyme angiotensin, DNA, oncoprotein.

الملخص

يشكل سرطان عنق الرحم مشكل حقيقي على الصحة، حتى في الدول المتقدمة. تناقصت وتيرته بفضل التشخيص المبكر للإصابة بالسرطان، ترتبط الخلايا السرطانية لعنق الرحم دائماً بوجود الحمض النووي لفيروس الورم الحليمي البشري من النوع 16 و18.

في هذه الدراسة أكدنا على تأثير عدة عوامل مثل: السن، سن المبكرة للزواج والإنجاب، تعدد الشركاء وعدد مرات الحمل، إضافة إلى التدخين السلبي مع ظهور سرطان عمق الرحم. كما أكدنا على عدم وجود علاقة بين تعدد الأنماط الوراثية لمورثة الإنزيم المحول للانجيوتنسين وسرطان عنق الرحم.

كلمات مفتاحية:

سرطان عنق الرحم، تعدد الأنماط الوراثية، فيروس الورم الحليمي البشري، انزيم محول للانجيوتنسين، الحمض النووي، مورثة ورمية.

Questionnaire

Patiente N° :

Nom :

Prénom :

Age :

Adresse :

Tel :

Profession :

Situation familiale : mariée

célibataire

Age du mariage (date du 1^{er} rapport) :

Nombre des mariages (nombre de partenaires) :

Moyen de contraception : oui non

Nombre de grossesses :

date de la 1^{ere} grossesse :

Ménopause : oui

non

Infection virale : oui

non

Tabagisme : oui

non

nombre de cigarettes par jour :

Lieu d'habitat : rural

urbain

Etats d'immunodépression : oui

non

Présence du cancer dans la famille : oui

non

Type du cancer (mentionné dans le dossier) :

Date du diagnostic et motif d'hospitalisation :

Traitement :

Durée du traitement :

Rémission complète : oui

non

Poursuite évolutive :

Rechute : oui

non

date de rechute :

Si autre cancer : Diagnostiqué le :

Siège :

L'extraction d'ADN

Préparation des leucocytes

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

Extraction de l'ADN

- dilacérer le culot de leucocytes soigneusement afin de les prendre complètement et les mettre dans un tube Falcon conique de 15 ml.
- Ajouter 3 ml de tampon de lyse (Na Cl 400 mM, EDTA 2mM, Tris 10mM, PH 8.2)
- Ajouter 200 µL de SDS à 10% (détruire les membranes cellulaires et libérer l'ADN)
- Ajouter 100 µL de protéinase K (PK) à 10 mg / ml. (purification du mélange)
- 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 pelote d'ADN se forme** 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 eppendorf stérile.

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 jours).
- Par le moyen du rapport de DO 260 nm/ DO 280 nm, la pureté de l'ADN est déterminée en indiquant la contamination de l'ADN par les protéines ou par les ARN.

- **Amorce du la 1^{er} PCR**

ECA1R : CTGGAGACCATCCCCATCCTTTCT

ECA1F : GATGTGGCCATCACATTCGTCAGAT

Tableau 2 : Déroulement des cycles de la PCR I dans le thermocycleur

Nombre de cycles	Étape	Temperature (°C)	Duree
X 1	Dénaturation finale	94	1 min
X 30	Dénaturation	94	30s
X 30	Hybridation	65.8	30s
X 30	Elongation	72	1 min
X 1	Elongation finale	72	8 min

Préparation du tampon TBE 10x

Composants	Quantité
TRIS	108 g
Acide borique	55 g
EDTA disodium salt	9.3g
H2o	Complété jusqu' à 1 L

Préparation du tampon TBE 10x

100 ml TBE10x

900 ml Eau distillé

Amorce du 2^{ème} PCR

ECA2r : TCGGACCACAGCGCCCGCCACTAC

ECA2f : TCGCCAGCCCTCCCATGCCCATAA



Tableau 2 : Déroulement des cycles de la PCR II dans le thermocycleur

Nombre de cycles	Étape	Temperature (°C)	Duree
X 1	Dénaturation finale	94	1 min
X 30	Dénaturation	94	30s
X 30	Hybridation	67	30s
X 30	Elongation	72	1 min
X 1	Elongation finale	72	8 min

Objectif :

Implication du polymorphisme du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine dans le cancer du col de l'utérus

Résumé

Le cancer du col de l'utérus continue de poser un réel problème de santé, même dans les pays développés. Sa fréquence décroît grâce au dépistage précoce des lésions précancéreuses. Les cellules cancéreuses du col sont presque toujours associées à la présence dans leur génome de l'ADN de papillomavirus de type 16 ou 18.

Dans notre étude on a confirmé l'effet de plusieurs facteurs de risque tels que : l'âge, l'âge précoce du mariage et de grossesse, la multiparité et la multiplicité des partenaires ajoutant le tabagisme passif avec la survenue du cancer du col de l'utérus. Par contre nous n'avons pas trouvé de relation entre le polymorphisme du gène de l'ECA et le cancer du col.

Mots clé :

Cancer du col de l'utérus, polymorphisme, papillomavirus, Enzyme de conversion de l'angiotensine, ADN, oncoprotéine.