

N° d'ordre :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE & POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR & DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE DJILLALI LIABES  
FACULTE DES SCIENCES  
DE LA NATURE ET DE LA VIE  
SIDI BEL ABBES

*Thèse*  
*De Doctorat en Sciences Biologiques*

Présentée par :

Mme ABBES Arbia

**Spécialité :** Sciences Biologiques

**Option :** Biologie Cellulaire et Moléculaire

**Intitulée**

*De l'épidémiologie à la transcriptomique, une  
contribution à l'étude des cancers colorectaux :  
isolement et surexpression de deux ARNm codant  
deux gènes régulateurs de l'énergie cellulaire*

Soutenue le 04/06/2020

Devant le jury composé de :

<b>Présidente :</b>	Pr DEMMOUCHE Abbassia	UDL-Sidi Bel-Abbès
<b>Examineurs :</b>	Pr AOUES Abdelkader	Université Oran 1
	Pr KHARROUBI Omar	Université Oran 1
	Dr MENADI Nouredine	UDL-Sidi Bel-Abbès
<b>Rapporteur</b>	Pr BENALI Mohammed	UDL-Sidi Bel-Abbès
<b>Co-rapporteur</b>	Pr RECHRECHE Hocine	Université de Jijel

Année universitaire 2019/2020

*En tout premier lieu, je remercie **ELLAH**, le tout puissant, de m'avoir donné la force et la patience pour finaliser ce travail de thèse.*

*Madame, le Pr **DEMMOUCHE Abbassia**, Directrice du laboratoire de Biotoxicologie de l'Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbès, vous me faites un grand honneur de présider le Jury de ma thèse, en remplaçant le Pr **ABBOUNI Bouziane** du Directeur du Laboratoire de Microbiologie Moléculaire, Protéomique et Santé de l'Université Djelali Liabes de Sidi Bel Abbès. Je tiens à vous remercier, pour votre disponibilité et le temps que vous avez bien voulu consacrer à expertiser ce travail. Merci de votre confiance et du soutien que vous m'avez apporté. Soyez assurée de ma sincère reconnaissance et ma profonde amitié. Aussi, je tiens à exprimer mes vifs remerciements, mon plus profond respect et ma solidarité .au Pr **ABBOUNI Bouziane**, tout en lui souhaitant un prompt rétablissement dans les plus brefs délais.*

*Monsieur, le Pr **AOUES Abdelkader**, Directeur du Laboratoire de Biotoxicologie Expérimentale, de Biodépollution et Phytoremédiation de l'Université d'Oran 1, vous avez accepté de siéger dans ce Jury et d'évaluer ce travail, veuillez agréer l'expression de ma respectueuse considération. Votre présence, le temps et l'attention que vous avez accordés à lire ce travail sont un honneur pour nous. Je vous remercie d'avoir accepté notre invitation.*

*Monsieur, le Pr **KHARROUBI Omar**, du laboratoire de Biotoxicologie Expérimentale, de Biodépollution et Phytoremédiation de l'Université d'Oran 1. C'est avec amabilité et spontanéité que vous avez accepté de juger ce travail. Vous me faites l'honneur d'apporter votre expérience à l'évaluation de ce travail. Je vous prie de bien vouloir accepter ma respectueuse considération. Je vous remercie d'avoir accepté notre invitation.*

*Monsieur, le Dr **MENNADI Noureddine**, du Laboratoire de Biotoxicologie de l'Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbès, vous me faites un grand honneur de participer au Jury de ma thèse. Pour votre disponibilité et le temps que vous avez bien voulu consacrer à expertiser ce travail, veuillez recevoir mes plus vifs remerciements et l'expression de mon plus profond respect.*

*Monsieur, le Pr **BENALI Mohammed**, Ex-Directeur du Laboratoire de Biotoxicologie de l'Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbès, tout au long de mon cursus universitaire, j'ai eu la chance et le privilège de vous avoir comme enseignant et encadrant. Vous avez dirigé mon travail de thèse avec brio, bienveillance, disponibilité et rigueur scientifique. Soyez assuré de ma sincère reconnaissance. Je vous remercie pour votre patience, votre bonne humeur, votre écoute et vos conseils précieux et pertinents qui m'ont permis de mener à bien mon projet de thèse.*

*Monsieur, le Pr **RECHRECHE Hocine**, Directeur du Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire (MCBL à l'Université MSB de Jijel). Vous avez codirigé ce travail de thèse, veuillez trouver ici toute ma reconnaissance pour votre confiance, votre disponibilité, votre patience, et vos précieux conseils, tout au long de ce travail. Je vous remercie pour l'attention et la bienveillance que vous m'avez accordée en me prodiguant vos compétences et savoir-faire en Biologie Moléculaire et Cellulaire, le tout avec rigueur et professionnalisme.*

*Je tiens à exprimer mes vifs remerciements aux Dr **IOVANNA Juan** (Directeur de Laboratoire) et Dr **SOUBEYRAN Philippe** (Chef d'équipe) du Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille (U1068, CRCM, Marseille, France), pour l'accueil chaleureux au sein de leur Laboratoire, la disponibilité et les échanges de bons procédés. Ils m'ont permis de s'initier aux techniques de base de la Biologie Moléculaire, notamment.*

*Un grand remerciement aux médecins, infirmiers et administrateurs de l'Unité d'Oncologie de l'Hôpital Mohamed Seddik Benyahia de Jijel, pour leur collaboration qui se sont volontairement prêtés à cet exercice. En particulier, je suis très reconnaissante pour le Dr **SAHALI Ilham** et le Dr **BENCHARIF Saliha**, pour leur aide précieuse. Aussi je remercie tous les patients atteints de CCR, pour la collaboration et l'acceptation de nous faire partager leur vécu. Que le bon DIEU leur accorde patience et guérison.*

*Je remercie également mes **étudiants en Master BMC** et les **thésards** de notre Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire de l'université de Jijel.*

***Enfin**, merci à tous ceux qui n'ont jamais cessé de me soutenir d'une manière ou d'une autre au cours de mon parcours universitaire et professionnel.*

**Chers parents,**

*En signe d'amour, de reconnaissance et de gratitude pour le dévouement et les sacrifices dont vous avez fait toujours preuve à mon égard, c'est un moment de plaisir de vous dédier cet œuvre, vous qui ravivez dans mon esprit un sentiment profond d'une vie sûre et correcte, suivi tant par vos chaleureuses bénédictions. Pour avoir été mon moteur et la source de ma motivation pendant toutes ces années. Pour avoir cru en moi chaque seconde et pour votre soutien de chaque instant. Je n'aurai pas assez d'une vie pour vous prouver tout mon amour et ma gratitude. Je vous remercie d'avoir su me soutenir, me supporter, m'encourager Pendant toute la durée de ma thèse et plus particulièrement durant les derniers mois de rédaction, qui n'ont pas toujours été des plus agréables. Cette thèse et moi vous devons beaucoup.*

**Chère petite famille,**

*Hocine, mon époux ; Ines-Yakouta et Rayene-Yahia, mes enfants et prunelles de mes yeux. Merci pour votre amour, Puisse Dieu vous protéger et vous procurer santé et longue vie.*

**Chères sœurs,**

*Fatima, Meryem, Zahira et Chahrazed, pour votre soutien durant toutes ces années, et pour tout ce que vous m'avez apporté, merci ! Vous êtes ma ressource inépuisable. Je vous aime. Pour avoir toujours été présentes dans les bons comme les mauvais moments, pour avoir construit cette magnifique famille, pour avoir su rester si soudées malgré nos vies bien occupées et nos parcours différents. Je vous souhaite tout le bonheur du monde.*

**Chères nièces et chers neveux,**

*Sarah, Allae, Adda, Dhoha, Akram, Arabi, Kawter, Raghad et Islem. Puisse dieu vous protéger et vous procurer santé et longue vie.*

**Chers beaux-frères,**

*Abdelkader, Mohamed, Sallaheddine et Nacif, grand merci pour vos encouragements.*

**Mes chères belles-sœurs,**

*Nabiha et Lisa, grand merci pour votre gentillesse et amitié.*

**Enfin,**

*Mes dédicaces vont à toute ma grande famille et mon cher pays, l'Algérie*

Le CCR est un véritable problème de santé public, sa fréquence est en constante augmentation en Algérie. C'est une pathologie génétique complexe, caractérisée par l'altération qualitative et quantitative de l'expression de nombreux gènes. Certains de ces gènes sont des cibles thérapeutiques potentielles, alors que d'autres sont des marqueurs tumoraux probables. L'objectif majeur de ce travail de thèse était de chercher des gènes d'intérêts, cependant, il nous a été très judicieux et utile de le précéder par une étude rétrospective multifactorielle et une enquête nutritionnelle. Nous avons établi les profils épidémiologique et clinique de 62 cas de CCR dans la Wilaya de Jijel. Les données collectées ont permis de confirmer un état des lieux très sombre : progression accélérée, diagnostic tardif et traitement par chimiothérapie. La prédominance de l'adénome lieberkühnien bien différencié (98%) et de localisation colique droite a été observée. La mutation du gène KRAS était associée à des stades avancés et métastatiques (72,58%). Une enquête nutritionnelle de type cas-témoins (68 cas) a révélé des corrélations entre l'évolution des CCR et la situation socioéconomique, le tabagisme (RC=0,0751 ; p=0,0174) et les antécédents familiaux (OR=5,2500 ; p=0,0034). Un effet protecteur de la consommation de produits laitiers (OR=0,9808 ; p=0,0437) et des céréales (RC=0,9865 ; p=0,0100) a été démontré. Les tumeurs proximales du côlon étaient associées à une faible consommation de fruits, de légumes, de céréales et de produits laitiers, alors que, la consommation de viande rouge n'a eu aucun effet. La transcriptomique est devenue de plus en plus une approche efficace et pertinente. Ainsi, nous avons employé le criblage différentiel sur filtres HD pour chercher des ARNm dont l'expression est altérée et qui peuvent constituer un réservoir de gènes candidats pour développer des stratégies thérapeutique et/ou diagnostique. Nos résultats ont permis de présélectionner deux clones codant deux gènes régulateurs de l'énergie cellulaire comme étant potentiellement surexprimés. Il s'agissait d'IF1 et de la GAPDH. En particulier, l'expression de ces deux gènes a été analysée par Northern blot et la séquence complète de l'ARNm d'IF1 a été obtenue. Nous avons suggéré que la formation excessive de l'ATP pourrait être, du moins partiellement, due à l'expression accrue d'IF1 et de la GAPDH dans les cellules malignes, ce qui inhiberait leur activité de dégradation de l'ATP. L'accumulation d'IF1 et de la GAPDH dans la tumeur colorectale pourrait participer dans la promotion du cancer, par l'amélioration du métabolisme énergétique. Cette hypothèse, si elle est confirmée, fournirait une thérapeutique contre le CCR, en utilisant une stratégie anti-sens basée sur les régulateurs de l'énergie cellulaire.

**Mots clés :** CCR ; profils épidémiologique, biologique, clinique et nutritionnel, KRAS, transcriptome, criblage différentiel, surexpression, ARNm, IF1, GAPDH, métabolisme énergétique

The CRC is a real public health problem; its frequency is constantly increasing in Algeria. It is a complex genetic pathology characterized by qualitative and quantitative alteration of the expression of many genes. Some of these genes are potential therapeutic targets, while others are likely tumor markers. The main objective of my thesis work was to look for genes with therapeutic and/or diagnostic interest; however, it was very judicious and useful to precede it by a multifactorial retrospective study and a nutritional investigation. We have established the epidemiological, pathological and clinical profiles of 62 cases of CRC in the Wilaya of Jijel. The data collected allowed us to confirm a very dark state of the CRC: accelerated progression, late diagnosis and chemotherapy treatment. The predominance of well-differentiated adenomas of Lieberkühn (98%) and right colic localization was observed. The KRAS gene mutation was associated with advanced and metastatic stages (72.58%). A case-control nutrition survey (68 cases) revealed correlations between CRC trends and socioeconomic status, smoking (RC=0.0751; p=0.0174) and family history (OR=5.2500; p=0.0034). A protective effect of the consumption of dairy products (OR=0.9808; p=0.0437) and cereals (RC=0.9865; p=0.0100) has been demonstrated. Proximal tumors of the colon were associated with low consumption of fruits, vegetables, cereals and dairy products, while consumption of red meat had no effect. The transcriptome alteration is becoming an original and useful approach. Thus, we have used differential screening on high-density filters to look for mRNAs whose expression is impaired and which can constitute a reservoir of candidate genes for developing therapeutic and/or diagnostic strategies. We preselected two clones, encoding two cell energy regulatory genes, as potentially overexpressed. These were IF1 and GAPDH. In particular, the expression of these two genes was analyzed by Northern blot, and the complete sequence of the IF1 mRNA has been obtained. We suggested that the excessive formation of ATP could be, at least partially, due to the increased expression of IF1 and GAPDH in malignant cells, which would inhibit their ATP hydrolysis activity. The accumulation of IF1 and GAPDH in the colorectal tumor could participate in the promotion of cancer by improving cellular energy metabolism. This hypothesis, if confirmed, will provide possible treatment against CRC, using an antisense strategy against the regulators of energy metabolism.

**Key words:** CRC; epidemiological, biological, clinical and nutritional profiles, KRAS, transcriptome, differential screening, overexpression, mRNA, IF1, GAPDH, energy metabolism.

يشكل سرطان القولون والمستقيم مشكلة حقيقية للصحة العمومية، تتوفر لنا القليل من البيانات حول خصائص هذا المرض في الجزائر، ووتيرة تطوره في تزايد مستمر. يعد الـ CCR من الأمراض الوراثية المنتشرة على نطاق واسع، ويتميز بالتغيير الكمي والنوعي للعديد من الجينات، بعضها يشكل أهداف علاجية ممكنة، بينما البعض الآخر يمكنه أن يكون مؤشرا يسمح بالكشف المبكر عن المرض. في هذا السياق تندرج دراستنا في هذه الأطروحة التي كان هدفها الأساسي هو البحث عن هذه الجينات ذات الفائدة العلاجية، كان من الضرورة إجراء دراسة مسبقة للجوانب الوبائية والسرييرية لدى 62 حالة إصابة بهذا النوع من السرطان في ولاية جيجل، وكذا دراسة نمط التغذية. أثبتت المعطيات الوبائية الوصفية نسبة تزايد مستمر، تشخيص متأخر واستعمال العلاج الكيميائي. الورم من نوع «Adénome lieberkuhnien bien différencié» هو النمط النسيجي السائد (98%)، ثم إن طفرة الجين KRAS ارتبطت بمراحل متقدمة من المرض (72,58%). أثبتت دراسة مختلف المجموعات الغذائية ووتيرة استهلاكها بمقارنة الحالات مع الشواهد (68 حالة)، وجود علاقة بين العوامل الاجتماعية والاقتصادية وظهور هذا النوع من السرطان. التدخين ( $RC=0,0751$  ;  $p=0,0174$ ) والتاريخ العائلي ( $OR=5,2500$  ;  $p=0,0034$ ) يمكن أن تكون عوامل مرتبطة به. لقد لوحظ وجود تأثير وقائي لاستهلاك منتجات الألبان ( $OR=0,9808$  ;  $p=0,0437$ ) والحبوب ( $RC=0,9865$  ;  $p=0,0100$ ) وارتباط الأورام في مستوى الـ Côlon proximal مع انخفاض استهلاك الفواكه والخضروات، بينما استهلاك اللحوم الحمراء لم يكن له تأثير. لم يعد علم الأورام الجزيئي يركز على تحديد الحالات المرضية الوراثية، ولكنه أصبح يستخدم مقارنة ناجعة ومفيدة. لقد استخدمنا الفحص التفاضلي (Criblage différentiel sur filtres HD) للبحث عن جينات ذات التغيير الكمي أو النوعي والتي يمكنها أن تشكل خزاناً للجينات المرشحة لتطوير استراتيجيات علاجية وتشخيصية. لقد سمحت لنا النتائج المتحصل عليها بإنتقاء اثنين من الجينات المنظمة للطاقة الخلوية، ويتعلق الأمر بـ IF1 الذي يعتبر مثبط لإنزيم الـ ATPase، إضافة إلى الـ GAPDH الميتوكوندري. على وجه الخصوص تمت دراستهما باستخدام تقنية الـ Northern blot في مستوى الأنسجة السرطانية و مقارنتها بالأنسجة السليمة. إضافة إلى ذلك تم تحديد السلسلة الكاملة للأحماض الأمينية المكونة لـ IF1. أخيراً اقترحنا أن التراكم المفرط لـ IF1 يمكن أن يكون مرتبط ولو جزئياً على الأقل، بزيادة إنتاج IF1 و GAPDH داخل الخلايا السرطانية، مما يؤدي إلى تثبيط تفكك الـ ATP. إن تراكم IF1 و GAPDH في ورم القولون والمستقيم يمكن أن يساهم في تطور السرطان عن طريق تحسين الأيض الطاقي للخلية. هذه الفرضية إن تم تأكيدها، ستوفر علاجاً ممكناً ضد سرطان القولون باستخدام، على سبيل المثال، استراتيجية ضد منظمات الطاقة الخلوية.

**الكلمات المفتاحية:** CCR، الملامح الوبائية البيولوجية، السرييرية والمرتبطة بالتغذية، KRAS، Transcriptome، النسخ، الفحص التفاضلي، زيادة التعبير لـ IF1 و GAPDH، أيض طاقي.

<b>Liste des abréviations</b> .....	<b>I</b>
<b>Liste des Figures</b> .....	<b>II</b>
<b>Liste des Tableaux</b> .....	<b>III</b>
<b>Introduction générale</b> .....	<b>01</b>
<b>Partie I. Revue bibliographique</b> .....	<b>05</b>
<b>I.1. Généralités et état des lieux sur les CCR</b> .....	<b>05</b>
I.1.1. Structure et fonction du côlon.....	05
I.1.1.1. Anatomie.....	05
I.1.1.2. Histologie.....	06
I.1.1.3. Fonction.....	06
I.1.2. Généralités sur les CCR.....	07
I.1.2.1. Introduction.....	07
I.1.2.2. Epidémiologie.....	07
I.1.2.3. Facteurs de risque.....	09
I.1.2.3.1. Alimentation et mode de vie.....	10
I.1.2.3.2. Facteurs individuels, héréditaires et génétiques.....	12
I.1.3. Histopathologie des CCR et cancérogénèse.....	13
I.1.4. Symptômes et diagnostic des CCR.....	14
I.1.5. Classifications des CCR.....	16
I.1.5.1 Classification TNM.....	16
I.1.5.2. Classification moléculaire par analyse transcriptomique.....	18
I.1.6. Thérapeutiques des CCR.....	19
I.1.6.1. Chirurgie.....	19
I.1.6.2. Chimiothérapie.....	19
I.1.6.3. Radiothérapie.....	20
I.1.6.4. Thérapie ciblée.....	20
<b>I.2. Cancérogénèse colorectale</b> .....	<b>22</b>
I.2.1. Introduction.....	22
I.2.2. Mécanismes moléculaires.....	22
I.2.2.1. Inactivation du gène APC et voies d'instabilité chromosomique.....	22
I.2.2.2. Inactivation des gènes MMR.....	24
I.2.2.3. Inactivation par mutation-forme familiale.....	24
I.2.2.4. Inactivation par hyperméthylation du promoteur-forme sporadique.....	24
I.2.2.5. Mutations activatrices de KRAS.....	25
I.2.3. Voies de signalisation cellulaire.....	26
I.2.3.1. Voie de signalisation Wnt.....	26
I.2.3.2. Voie de signalisation TGF $\beta$ .....	27
I.2.3.3. Voie de signalisation MAPK et PI3K.....	28
I.2.3.4. Voie p53.....	29

<b>I.3. Métabolisme énergétique de la cellule cancéreuse.....</b>	<b>30</b>
I.3.1. Introduction.....	30
I.3.2. Spécificités du métabolisme de la cellule tumorale.....	30
I.3.2.1. Effet Warburg et son interprétation au fil des années.....	31
I.3.2.2. Avantages de l'effet Warburg dans la cellule cancéreuse.....	33
I.3.3. Mitochondries et cancer.....	36
I.3.3.1. Structure des mitochondries.....	36
I.3.3.2. Fonctions mitochondriales.....	37
I.3.3.3. Métabolisme mitochondrial de la cellule cancéreuse.....	38
I.3.4. ATPase mitochondriale.....	40
I.3.4.1. Structure et assemblage.....	40
I.3.4.2. Principales fonctions.....	41
I.3.4.3. Régulation et expression.....	42
I.3.5. IF1, inhibiteur de l'ATPase.....	43
I.3.5.1. Structure et fonctions.....	43
I.3.5.2. Régulation de l'expression d'IF1.....	45
I.3.5.3. Régulation de l'ATPase par IF1.....	46
I.3.6. Glyceraldéhyde déshydrogénase.....	47
I.3.6.1. Structure et classification.....	47
I.3.6.2. Fonctions.....	48
<b>Partie II. Matériel et méthodes.....</b>	<b>50</b>
II.1. Etude épidémiologique, clinicopathologique et nutritionnelle.....	50
II.1.1. Population et type d'étude.....	50
II.1.2. Collecte des données.....	52
II.1.2.1. Données épidémiologique, biologique et clinique.....	52
II.1.2.2. Données sur le mode de vie.....	53
II.1.2.3. Données alimentaires.....	53
II.1.4. Saisie des données et statistiques.....	55
II.1.5. Histologie et microscopie optique.....	56
II.2. Analyse du transcriptome.....	57
II.2.1. Spécimens de tissus.....	57
II.2.2. Culture cellulaire.....	57
II.2.3. Préparation et analyse de l'ADN.....	57
II.2.4. Extraction des ARN totaux.....	57
II.2.5. Etablissement du transcriptome d'une tumeur colique.....	58
II.2.6. Criblage différentiel sur filtres HD.....	59
II.2.6.1. Principe.....	59
II.2.6.2. Mise en œuvre.....	60
II.2.7. Analyse par Northern blot.....	61
II.2.8. Analyse par RT-PCR.....	62
II.2.9. Clonage et séquençage de l'ADNc d'IF1.....	63

<b>Partie III. Résultats et discussion.....</b>	<b>64</b>
<b>III.1. Etat des lieux épidémiologique et clinique des CCR .....</b>	<b>64</b>
III.1.1. Avant-propos.....	64
III.1.2. Profils épidémiologiques.....	65
III.1.3. Profils cliniques.....	71
III.1.4. Examens para-cliniques.....	72
III.1.5. Anatomopathologie et histologie.....	74
III.1.6. Bilan biologique et Moléculaire.....	79
III.1.7. Profils thérapeutiques.....	82
III.1.8. Conclusion.....	85
<b>III.2. Enquête nutritionnelle sur les CCR .....</b>	<b>87</b>
III.2.1. Avant-propos.....	87
III.2.2. Evaluation du mode de vie et risques de CCR.....	88
III.2.3. Corrélations entre fréquences de consommation et incidence des CCR....	92
III.2.4. Corrélations entre fréquence de consommation et localisation des CCR....	96
III.2.5. Conclusion.....	99
<b>III.3. Expression de deux gènes régulateurs de l'énergie cellulaire .....</b>	<b>101</b>
III.3.1. Avant-propos.....	101
III.3.2. Présélection de deux clones potentiellement surexprimés.....	105
III.3.3. Clonage de la séquence complète de l'ADNc codant IF1.....	108
III.3.4. Surexpression de l'ARNm codant IF1 dans les CCR.....	111
III.3.5. Surexpression de l'ARNm codant la GAPDH.....	116
III.3.6. Conclusion.....	121
<b>Conclusion générale .....</b>	<b>125</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>129</b>

**A-Annexes**

**B-Communications**

**ACE** : Antigène carcino-embryonnaire  
**ADN** : Acide désoxyribonucléique  
**ADNc** : ADN complémentaire  
**ADNmt** : ADN mitochondrial  
**AEROGLY** : Glycolyse aérobie  
**AICR** : American Institute for Cancer Research  
**AJCC** : American Joint Committee on Cancer  
**ALDH** : Aldéhydes déshydrogénase  
**APC** : Adenomatous polyposis coli  
**ATPase** : ATP synthase mitochondriale  
**BRAF** : B rapidly accelerated fibrosarcoma  
**CA19-9** : Carbohydrate antigen  
**CCR** : Cancer colorectal  
**CIMP** : CpG island methylator phenotype  
**CIN** : Chromosome instability  
**CMS** : Consensus molecular subtype  
**dNTP** : Désoxyribonucléotide-3-triphosphates  
**EDTA** : Acide éthylène diamino tétraacétique  
**EGFR** : Epidermal growth factor receptor  
**EST** : Expressed sequence tags  
**FADH<sub>2</sub>** : Flavine adénine dinucléotide (diphosphate)  
**FFQ** : Food frequency questionnaire  
**Filtres HD** : Filtres à haute densité  
**G3P** : Glycéraldéhyde-3-phosphate  
**GAPDH** : Glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase  
**GDP** : Guanosine diphosphate  
**GpC** : Cytosine-phosphate-guanine  
**GTP** : Guanosine triphosphate  
**HNPCC** : Hereditary non polyposis colorectal cancer  
**IF1** : Inhibitor facteur 1  
**IGFR II** : Insulin like growth factor receptor II  
**KRAS** : Kirten rat sarcoma  
**LOH** : Loss of heterozigosity

**LS** : Lynch syndrom  
**MAP** : MUTYH associated polyposis  
**MAPK** : Mitogen-activated protein kinase  
**MET** : Metabolic equivalent  
**Mff** : Mitochondrial fission receptor  
**MIN** : Microsatellite instability  
**MMI** : Membrane mitochondriale interne  
**MMR** : Mismatch repair  
**MNT** : Maladies non transmissibles  
**MSI** : Micro-satellite instability  
**MSS** : Microsatellitaire stable  
**MTS** : Mitochondrial transport signal  
**NADPH** : Nicotinamide adénine dinucléotide (phosphate)  
**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé  
**OXPHOS** : Phosphorylation oxydative  
**PAF** : Polypose adénomateuse familiale  
**PCR** : Polymerase chain reaction  
**Pi** : Phosphate inorganique  
**PI3K** : Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-Kinase  
**PKM2** : Pyruvate kinase subtype M2  
**PMF** : Proton motive force  
**PTEN** : Phosphatase and tensin homolog  
**PTP** : Permeability transition pore  
**RAS** : Rat Sarcoma  
**RC** : Rapport de cotes  
**ROS** : Reactive oxygen species  
**RT-PCR** : Reverse transcription PCR  
**TCF** : T-cell factor  
**TGFβ** : Transforming growth factor β  
**TNM** : Tumor Node Metastasis  
**TP53** : Tumor protein 53  
**VEGF** : Vascular endothelial growth factor  
**Wnt** : Wingless iNT

<b>Fig. 01.</b> Localisation du côlon et ultrastructure de la paroi colique	05
<b>Fig. 02.</b> Incidence et taux de mortalité des différents types de cancers dans le monde	08
<b>Fig. 03.</b> Incidence des différents types de cancers en Algérie	09
<b>Fig. 04.</b> Séquence de la progression tumorale colique	13
<b>Fig. 05.</b> Classification TNM des CCR et valeur pronostique	17
<b>Fig. 06.</b> Chimiothérapie et thérapie ciblée des CCR	20
<b>Fig. 07.</b> Mécanisme d'inactivation de la transcription par méthylation	25
<b>Fig. 08.</b> Illustration schématique de la voie de signalisation Wnt/ $\beta$ -caténine.	27
<b>Fig. 09.</b> Voies de signalisation de la famille TGF- $\beta$ et les gènes mutés dans les CCR.	28
<b>Fig. 10.</b> Représentation des domaines de la protéine p53	29
<b>Fig. 11.</b> Effet Warburg	32
<b>Fig. 12.</b> Le module glycolytique et sa connexion aux voies de biosynthèse.	34
<b>Fig. 13.</b> Glycolyse, métabolisme mitochondrial, biosynthèse et maintien de l'homéostasie redox dans les cellules cancéreuses	35
<b>Fig. 14.</b> Représentation schématique de l'ultrastructure d'une mitochondrie	37
<b>Fig. 15.</b> Principales fonctions mitochondriales	38
<b>Fig. 16.</b> Structure de la chaîne respiratoire	39
<b>Fig. 17.</b> Structure schématique de l'ATPase d' <i>Escherichia coli</i>	40
<b>Fig. 18.</b> Principales contributions de l'ATPase aux fonctions mitochondriales	42
<b>Fig. 19.</b> Isoformes et changements conformationnels d'IF1	44
<b>Fig. 20.</b> Régulation de l'activité de l'ATPase par phosphorylation d'IF1	47
<b>Fig. 21.</b> Incidence des différents types de cancers en fonction du sexe	67
<b>Fig. 22.</b> Répartition des CCR en fonction du sexe et des tranches d'âge	68
<b>Fig. 23.</b> Répartition géographique des CCR dans la Wilaya de Jijel	70

<b>Fig. 24.</b> Analyse par microscopie optique d'un CCR, présentant une forme normale du gène KRAS	77
<b>Fig. 25.</b> Analyse par microscopie optique d'un CCR présentant une forme mutée du gène KRAS	78
<b>Fig. 26.</b> Répartition des CCR en fonction des extensions métastatiques	79
<b>Fig. 27.</b> Répartition des CCR en fonction de la présence des mutations du gène K-RAS	81
<b>Fig. 28.</b> Répartition des CCR en fonction de la localisation et le stade de la maladie	81
<b>Fig. 29.</b> Répartition des CCR en fonction des thérapies employées.	83
<b>Fig. 30.</b> Répartition de consommation des différents groupes d'aliments	93
<b>Fig. 31.</b> Fréquence des CCR selon les sous-sites tumoraux	97
<b>Fig. 32.</b> Fréquence de consommation d'aliments selon le siège de la tumeur	98
<b>Fig. 33.</b> Principe du criblage différentiel sur filtres HD	102
<b>Fig. 34.</b> Autoradiogrammes obtenus par criblage différentiel HD d'ADNc d'une tumeur colique	105
<b>Fig. 35.</b> Séquence complète de l'ARNm d'IF1 et la séquence prédite en acides aminés	108
<b>Fig. 36.</b> Comparaison des séquences en acides aminés d'IF1 chez trois espèces de mammifères	109
<b>Fig. 37.</b> Analyse par Northern blot de l'expression du gène codant IF1 dans les CCR	111
<b>Fig. 38.</b> Quantification des résultats d'analyse de l'expression d'IF1 par Northern blot	111
<b>Fig. 39.</b> Analyse par Northern blot de l'expression du gène de la GAPDH dans les CCR	116
<b>Fig. 40.</b> Quantification des résultats d'analyse de l'expression de la GAPDH par Northern blot	116
<b>Fig. 41.</b> Contribution d'IF1 au processus de cancérogénèse	123

<b>Tableau 01.</b> Facteurs augmentant ou diminuant le risque de CCR.....	11
<b>Tableau 02.</b> Rapport de cotes dans une étude cas-témoins.....	51
<b>Tableau 03.</b> Groupes d'aliments étudiés.....	54
<b>Tableau 04.</b> Répartition des CCR en fonction des antécédents personnels et familiaux.....	69
<b>Tableau 05.</b> Répartition des CCR en fonction des signes cliniques.....	72
<b>Tableau 06.</b> Répartition des CCR en fonction des données para-cliniques.....	73
<b>Tableau 07.</b> Répartition des CCR en fonction du siège de la tumeur chez les deux sexes...	74
<b>Tableau 08.</b> Répartition des CCR en fonction des données anatomopathologiques.....	75
<b>Tableau 09.</b> Répartition des CCR en fonction de la classification TNM.....	76
<b>Tableau 10.</b> Répartition des CCR en fonction des bilans biologiques.....	80
<b>Tableau 11.</b> Description de la population étudiée.....	90

# **INRODUCTION GENERALE**

Notre corps compte des milliers de milliards de cellules regroupées en tissus et en organes. Toutes ces cellules contiennent des gènes qui leur disent quand se développer, travailler, se diviser et mourir. Ainsi, en respectant ces directives, elles nous permettent de demeurer en bonne santé. Cependant, il arrive que les instructions deviennent confuses, incitant nos cellules à se développer et à se diviser d'une manière désordonnée ou à ne pas mourir comme elles le devraient. Comme de plus en plus de cellules anormales se développent et se divisent, elles peuvent finir par former une masse dans le corps appelée tumeur (ACS, 2015).

Le risque d'un individu de développer un CCR au cours de sa vie est de 5%, mais, ce chiffre augmente considérablement avec l'âge (Short et Sampson, 2019), avec un risque un peu plus élevé chez les hommes que chez les femmes (Dubé et Rabeneck, 2019). Le CCR est le 3<sup>ème</sup> cancer le plus fréquemment diagnostiqué, en termes d'incidence, et le 4<sup>ème</sup> en termes de mortalité dans le monde. L'incidence et la mortalité sont plus élevées chez les hommes que chez les femmes dans la plupart des régions du monde (Zhu et al., 2017). Chez les hommes, il est classé en 3<sup>ème</sup> position, après le cancer de la prostate et du poumon. Tandis qu'il est classé en 2<sup>ème</sup> position chez les femmes, après le cancer du sein (Bray et al., 2018). En Algérie, le CCR est classé en 2<sup>ème</sup> position, après le cancer du poumon chez les hommes, et le cancer du sein chez les femmes (Globocan, 2018). Néanmoins, son incidence demeure faible par rapport aux pays développés, en dépit du fait qu'elle est en constante croissance. Les CCR sont devenus les 1<sup>ers</sup> cancers digestifs chez les deux sexes, surclassant le cancer de l'estomac, et occupant la 3<sup>ème</sup> place de l'ensemble des cancers.

De nombreuses études sur le CCR étaient destinées à améliorer les pratiques médicales, le diagnostic et la thérapeutique. Toute politique de prévention ne peut être mise en place sans études épidémiologiques et analyses statistiques très poussées. L'objectif majeur de notre travail de thèse était de chercher des gènes à intérêts thérapeutique et/ou diagnostique, cependant, il nous a été très judicieux et utile de le précéder par une étude rétrospective multifactorielle et une enquête nutritionnelle. Ainsi, nous avons initié notre travail par une étude rétrospective sur les données épidémiologique et clinico-pathologique dans la Willaya de Jijel, ainsi qu'une enquête nutritionnelle. Nous avons analysé différents paramètres de cette pathologie chez 62 patients parmi un total de 474 cas de CCR. Ce travail a été très utile et nous a confortés dans la démarche pour explorer ce fléau. En effet, sans surveillance épidémiologique, il est impossible de mettre en place un plan national ou même régional de lutte contre les cancers, adapté à notre région.

Les bonnes règles hygiéno-diététiques et le dépistage organisé permettent de réduire les risques de CCR. La transformation de l'environnement, le changement aigu dans la vie individuelle et collective et le changement de style de vie sont responsables de l'émergence de maladies non transmissibles (MNT), telles que le cancer, une maladie multifactorielle dont les causes restent difficiles à étudier. Les CCR se déclarent généralement après 50 ans et plusieurs facteurs de risques ont été identifiés. Parmi les facteurs environnementaux et liés au mode de vie, le surpoids, l'alimentation riche en graisses animales, la composition du microbiote, la consommation d'alcool et de tabac, l'inactivité physique, ou encore l'exposition à des substances médicamenteuses sont connus pour influencer le risque de développement de cancer (Siegel et al., 2017 ; Johnson et al., 2013 ; Hagggar et Boushey, 2009). Ainsi, une enquête nutritionnelle a été menée afin d'explorer les associations possibles entre le mode de vie et le CCR. Les principaux facteurs qui ont été analysés comprenaient l'obésité, le surpoids, le manque d'activité physique, les antécédents familiaux et le statut socioéconomique. De plus, l'impact de l'alimentation et des habitudes alimentaires (Composition des repas, leur distribution quotidienne et fréquence) sur le risque de CCR a été évalué.

Au cours du développement tumoral, les cellules malignes reprogramment leur métabolisme pour répondre à la demande en biosynthèses conditionnant l'augmentation de leur biomasse et pour s'adapter aux propriétés de leur microenvironnement. Il est évident que des changements significatifs dans l'expression de gènes se produisent au cours de la progression de la maladie. La connaissance de gènes différentiellement exprimés est susceptible d'apporter des informations concernant les événements biochimiques anormaux qui se produisent lors de l'initiation et la progression de cette maladie. Pour identifier les gènes dont l'expression est altérée, il faut d'abord quantifier l'expression d'une population d'ARNm dans les deux situations normale et pathologique, puis comparer les valeurs obtenues. Il existe plusieurs approches pour analyser les changements de l'expression des gènes de manière systématique.

Comme, il a été mentionné, précédemment, l'objectif principal de mon travail était d'analyser le transcriptome d'une tumeur humaine appropriée, afin d'identifier des ARNm codant des gènes préférentiellement exprimés au cours de la cancérogénèse colorectale. De tels gènes pourraient présenter un réservoir de candidats potentiels pour pêcher des marqueurs tumoraux à intérêts thérapeutiques, pronostiques et/ou diagnostiques. Ainsi, nous avons utilisé le criblage différentiel sur filtres à haute densité (HD) pour analyser le transcriptome d'une tumeur colorectale. Ce travail a eu pour vocation le développement d'une stratégie pour la recherche de gènes différentiellement exprimés au cours de la carcinogénèse colorectale. De telles molécules peuvent être d'une grande utilité pour la prévention et le dépistage des CCR.

Ainsi, nous avons identifié deux ARNm dont l'expression est régulée positivement au cours du développement des CCR. Il s'agissait de deux ARNm codant pour deux gènes régulateurs de l'énergie cellulaire : IF1 (Inhibitory factor 1 ou Inhibiteur de l'ATPase mitochondriale) et GAPDH (Glyceraldéhyde déshydrogénase). Les avancées récentes de la recherche ont révélé l'étonnante flexibilité des cellules cancéreuses qui alternent entre un métabolisme glycolytique aérobie (Effet Warburg) et un métabolisme oxydatif en fonction de leurs conditions de développement, une plasticité métabolique requérant une mutualisation de leurs ressources énergétiques (Cordier-Bussat et al., 2018). Le métabolisme des cellules cancéreuses décrit par Otto Warburg dans les années 1930 est devenu une marque spécifique associée au cancer. Les cellules cancéreuses puisent leur énergie, essentiellement, à partir du glucose, à travers la glycolyse, afin de répondre à leurs besoins en énergie, mais, également à leur besoin en biomasse nécessaire à leur division accrue.

IF1 est une protéine clé au sein des mitochondries, permettant l'adaptation des cellules au stress et favorise la résistance à l'apoptose, en bloquant le remodelage des mitochondries (Galluzzi et al., 2015 ; Faccenda et al., 2013a). Ce facteur endogène est régulé positivement dans de nombreux carcinomes humains (Yin et al., 2015 ; Song et al., 2014 ; Sanchez-Cenizo et al., 2010). De plus, le niveau d'expression d'IF1 dans les carcinomes hépatocellulaires, les gliomes et les cancers gastriques a été étudié en corrélation avec l'agressivité et l'envahissement des tumeurs, avec de mauvais pronostic chez les patients (Yin et al., 2015 ; Wu et al., 2015 ; Song et al., 2014). Il a été confirmé que IF1 est surexprimé dans différents types de cancers humains, cette protéine supprime la mort cellulaire programmée, en augmentant l'invasion de la tumeur et la chimiorésistance (Faccenda et al., 2017).

La GAPDH est un régulateur essentiel de la glycolyse, surexprimé de manière omniprésente dans 21 types de cancer, étant l'un des gènes glycolytiques surexprimés dans le CCR, avec la pyruvate kinase (Tang et al., 2012 ; Altenberg et Greulich, 2004). Elle est l'une des enzymes glycolytiques, les plus impliquées dans de multiples processus cellulaires, notamment, la survie et la résistance à la mort cellulaire (Kim et Dang, 2005), devenant un biomarqueur prometteur de cancer.

Récemment, il a été montré qu'il existe une corrélation positive entre l'autophagie et la GAPDH dans différents types de cancer. Etant donné que l'autophagie est une voie de dégradation associée à la régulation de la mort cellulaire, plusieurs recherches récentes ont été menées sur la GAPDH, en tant que cible thérapeutique pour la régulation de l'autophagie dans le traitement du cancer. En outre, les mécanismes moléculaires et les effets cellulaires de la GAPDH sont corrélés aux dysfonctionnements mitochondriaux et peuvent être considérés

comme cible thérapeutique potentielle pour diverses maladies, notamment, le cancer et les troubles neurodégénératifs (Butera et al., 2019).

Ce manuscrit comporte quatre parties principales. La première est une revue bibliographique, consacrée à une synthèse riche et actualisée des données de la littérature concernant les différents aspects des CCR (Epidémiologie, Biologie Moléculaire,...), l'ATPase, la régulation du métabolisme énergétique de la cellule tumorale, l'IF1 et la GAPDH. La seconde décrit l'essentiel des méthodes employées, alors que la troisième présente et discute les résultats obtenus. Enfin, la dernière est une conclusion générale qui tentait d'apporter une analyse globale et horizontale de l'ensemble des données obtenues.

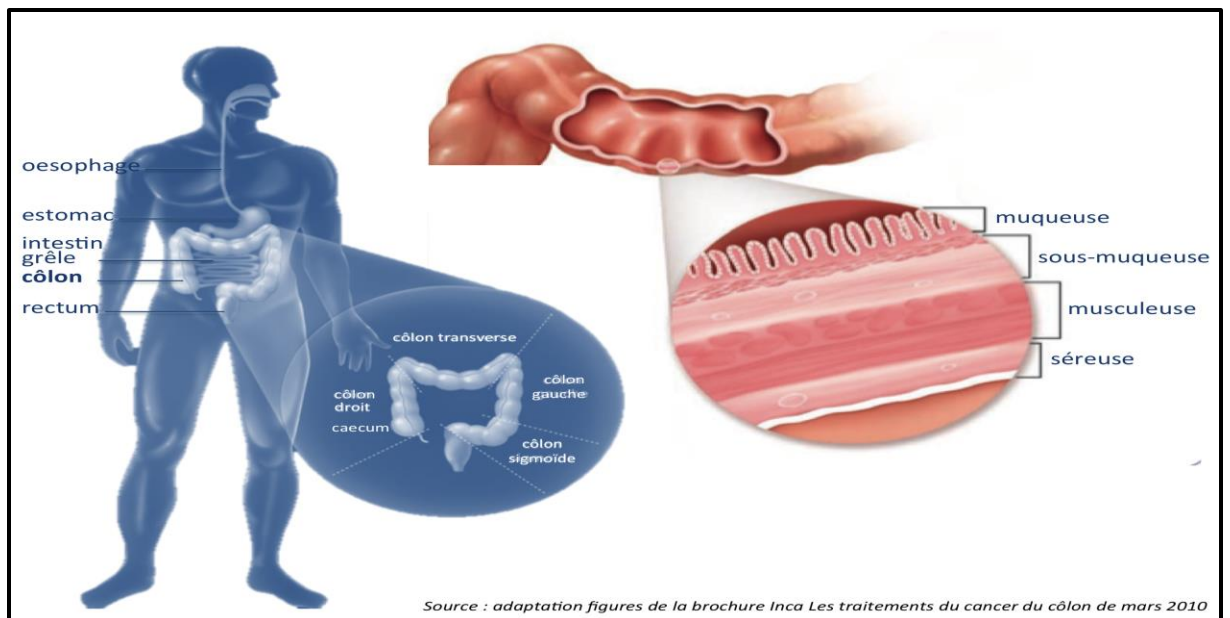
**Partie I :**  
**REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

## I.1. Généralités et état des lieux sur les CCR

### I.1.1. Structure et fonction du côlon

#### I.1.1.1. Anatomie

Le côlon et le rectum, aussi, appelés gros intestin, sont une structure tubulaire située dans l'abdomen, qui est généralement d'environ 150 cm de long. Ses principales fonctions comprennent l'absorption des fluides et des nutriments, et la formation de selles pour l'élimination, il absorbe généralement ~90% des fluides qui y entrent (Waters et al., 2019). Le côlon se divise en 4 segments : le côlon droit ou côlon ascendant, le côlon transverse, le côlon gauche et le côlon sigmoïde (Fig. 01). Les 2 premiers segments constituent le côlon proximal, et les 2 derniers segments constituent le côlon distal (Droit et gauche sont, parfois, employés pour proximal et distal). Cette séparation, en côlon proximal et en côlon distal, reflète l'appartenance à des structures embryonnaires distinctes, l'intestin primitif moyen et l'intestin primitif postérieur, respectivement. L'origine embryonnaire du tissu est un déterminant clé de la biologie des tumeurs, tout comme la cellule d'origine et le phénotype de la cellule ayant été transformée (Weinberg, 2013).



**Fig. 01. Localisation du côlon et ultrastructure de la paroi colique.** Les positions des différents segments du côlon et des quatre tuniques de la paroi du côlon (Muqueuse, sous-muqueuse, musculuse et séreuse) sont présentées (INCa, 2016).

Bien que des lésions cancéreuses puissent apparaître sur toutes les portions du côlon, dans plus de la moitié des cas, le cancer se développe au niveau du côlon sigmoïde. Le rectum mesurant entre 15 et 18 cm de long, est tapissé sur toute sa surface interne de plusieurs replis horizontaux, puis, verticaux au niveau de la jonction avec le canal anal (INCa, 2016).

### **I.1.1.2. Histologie**

La paroi du gros intestin est composée de plusieurs couches histologiques distinctes (Fig. 01), en partant de la lumière : la muqueuse (Comprenant l'épithélium et le chorion), la musculaire muqueuse (Muscle lisse), la sous-muqueuse (Composée de tissu conjonctif), la musculuse (Une tunique constituée de muscles lisses) et la séreuse (Une couche externe, riche en tissu adipeux) (INCa, 2016). La muqueuse est la couche la plus interne, elle est constituée d'un épithélium de revêtement, qui présente des invaginations appelées glandes (Cryptes) de Lieberkühn, ainsi que d'un tissu conjonctif sous-jacent, le chorion. Les glandes de Lieberkühn contiennent plusieurs types cellulaires (Humphries et Wright, 2008) : les cellules caliciformes, secrètent le mucus intestinal ; les cellules absorbantes (Colonocytes), absorbent l'eau, les électrolytes et les nutriments non absorbés par l'intestin grêle ; les cellules entéro-endocrines, secrètent des hormones ; les cellules souches (Au nombre de 5 à 6 par crypte), sont localisées dans le fond des glandes et permettent le renouvellement cellulaire (Baker et al., 2014). La sous-muqueuse est constituée d'un tissu conjonctif dense et abritant un important réseau vasculaire et lymphatique, ainsi que des fibroblastes et des mastocytes. La musculuse est formée de 2 couches de tissu musculaire lisse, assurant les mouvements, permettant l'excrétion des matières fécales. Enfin, la séreuse est la couche la plus externe, elle se compose d'un tissu conjonctif tapissé par un épithélium simple.

### **I.1.1.3. Fonction**

Le côlon a pour principales fonctions, la sécrétion de mucus et l'absorption d'eau et de nutriments. De plus, cet organe est le siège d'une activité microbienne permettant, notamment, la synthèse de la vitamine K et de l'acide folique. Le rectum est responsable du stockage de la matière fécale avant l'expulsion par l'anus. Il est important de noter que, les cellules de l'épithélium colique participent à la fonction d'absorption, tout en jouant un rôle de barrière protectrice contre les pathogènes de la lumière intestinale (Guzman et al., 2013). Ce rôle de barrière est assuré par la forte interaction, qui se met en place entre les cellules épithéliales, grâce à plusieurs complexes de jonctions intercellulaires (Jonctions serrées, jonctions intermédiaires, desmosomes et jonctions communicantes). Ce sont les jonctions

serrées, qui assurent une fonction d'un filtre sélectif de l'épithélium. Elles sont constituées de protéines transmembranaires.

## **I.1.2. Généralités sur les CCR**

### **I.1.2.1 Introduction**

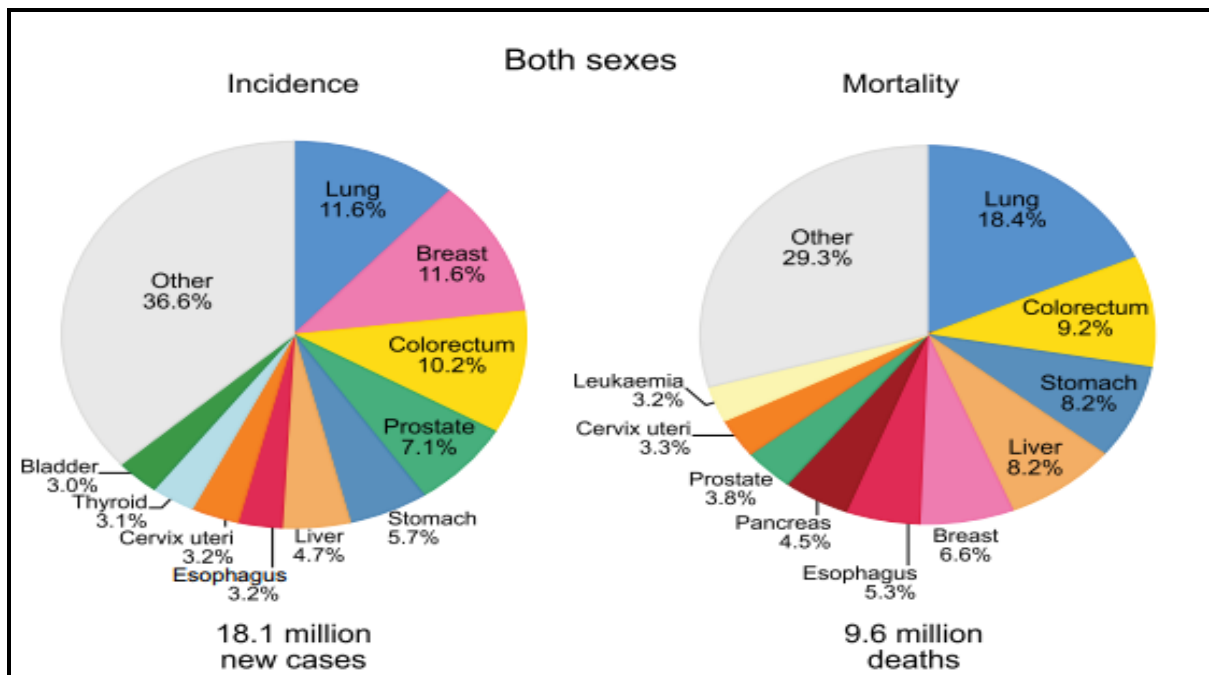
L'idée que le CCR, puisse être une maladie génétique a été évoquée, pour la première fois en 1890, lorsque Bickersteth décrit une mère et son enfant atteints de polypose adénomateuse familiale (PAF) (Bickersteth, 1890). La PAF pouvait conduire au cancer colique (Handford, 1890), toutefois, il fallut attendre encore 35 ans pour que l'association des deux pathologies soit reconnue. Le concept, selon lequel, la PAF est une pathologie héréditaire précancéreuse à caractère autosomal dominant a été décrite par Lockhardt-Mummery en 1925. En 1913, Warthin fut le premier à décrire une famille nombreuse atteinte de CCR. Il fallut, encore attendre longtemps, avant que la réévaluation de cette généalogie affirme l'évolution de la PAF en cancer héréditaire (Lynch et al., 1966). Ensuite, Henry Lynch publia de nombreuses études qui accrurent, énormément, nos connaissances quant à cette entité, actuellement, appelée «Syndrome de Lynch» ou LS (Lynch et al., 1988 ; Lynch et Krush, 1971).

### **I.1.2.2 Epidémiologie**

On estime que, le fardeau mondial du cancer a atteint 18,1 millions de nouveaux cas et 9,6 millions de décès, en 2018. Un homme sur cinq et une femme sur six dans le monde développeront un cancer au cours de leur vie, et un homme sur huit et une femme sur 11 meurent de cette maladie. A l'échelle mondiale, le nombre total de personnes vivantes avec un cancer dans les cinq ans, après, le diagnostic est estimé à 43,8 millions (Globocan, 2018). Le CCR occupe le troisième rang des cancers malins, en termes, d'incidence et de mortalité. L'incidence du CCR est généralement élevée dans les pays développés par rapport aux pays à faible risque (20 fois plus élevés) (Short et Sampson, 2019). En effet, les taux les plus élevés sont observés aux États-Unis, Canada, Australie, Nouvelle-Zélande et en Europe ; tandis que l'Inde, l'Égypte et l'Afrique du Centre-Ouest affichent les taux les plus bas (Khiari et al., 2017). On pense que cette différence résulte, en grande partie, des facteurs environnementaux, en particulier, les différences de régimes alimentaires (Short et Sampson, 2019). Dans le monde, 1,8 million de cas de CCR ont été diagnostiqués en 2018 (Globocan, 2018) contre 1,36 millions de cas en 2012, cela représente environ 10% des cancers tous sexes confondus.

En termes d'incidence, il se situe au deuxième rang chez la femme, après le cancer du sein (823 303 cas : 9,5%) et en troisième position chez l'homme, après le cancer de la prostate et du poumon (1 026 215 cas : 10,9%) (Bray et al., 2018). En termes de mortalité, il se situe au deuxième rang des décès par cancer, derrière le cancer du poumon, tous sexes confondus avec 881 000 décès en 2018 (Fig. 02). La survie à 5 ans diminue avec l'âge et le taux de survie dépend du stade de dépistage (INCa, 2016 ; NCI, 2015), alors que, la survie nette est estimée à 63% à 5 ans contre 52% à 10 ans.

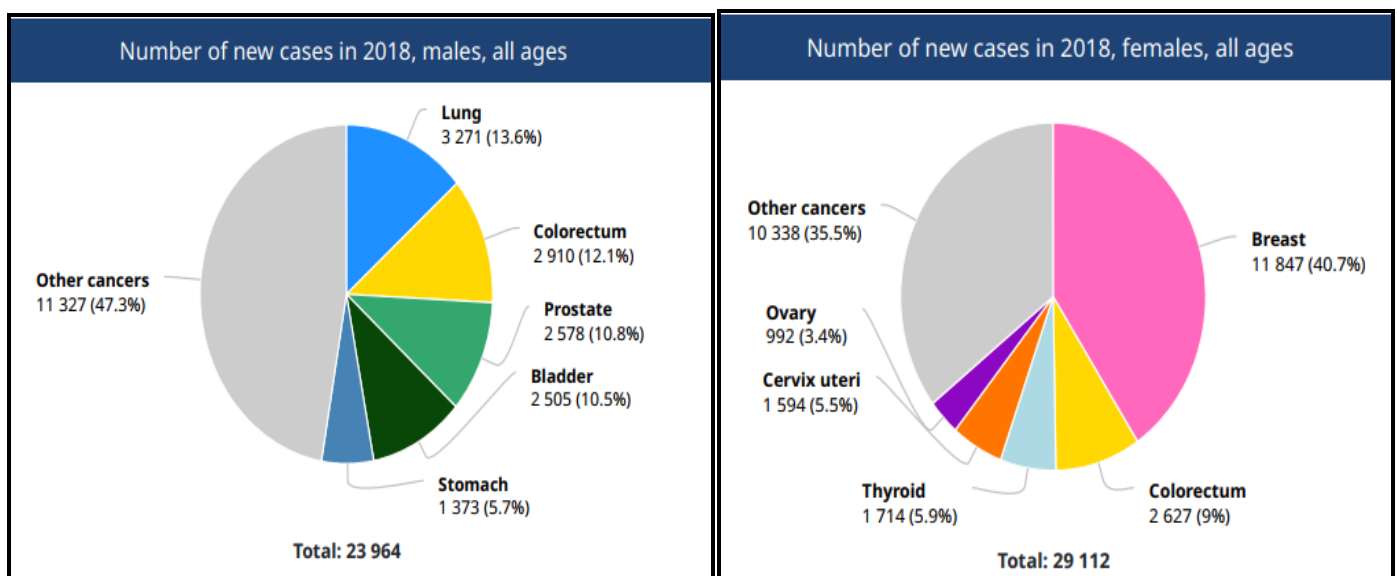
En Afrique, l'incidence du CCR est classée en 5<sup>ème</sup> position (61846 nouveaux cas : 5,9% enregistrés en 2018 chez les deux sexes), après le cancer du foie, le cancer de la prostate, le cancer du col de l'utérus et le cancer du sein. Le CCR est la 6<sup>ème</sup> cause de décès en Afrique chez les deux sexes (36 365 décès : 6,01%) (Globocan, 2018).



**Fig. 02. Incidence et taux de mortalité des différents types de cancers dans le monde.** L'incidence et les taux de mortalité des cancers les plus répandus dans le monde tous sexes confondus sont présentés. On note que les CCR occupent la troisième place aussi bien en termes d'incidence que de mortalité (Globocan, 2018).

En Algérie, au moment où l'on commence à enregistrer une diminution notable des maladies infectieuses, grâce aux différents programmes nationaux instaurés ces dernières décennies, on assiste à une transition épidémiologique qui est marquée par une modification démographique avec une augmentation de l'espérance de vie et une transformation de

l'environnement et des changements de mode de vie. De cette situation, sont apparus de nouvelles pathologies dont le cancer (y compris le CCR) et les MNT qui s'inscrivent, aujourd'hui, parmi les nouveaux besoins prioritaires en santé publique. Comme illustré dans la Figure 03, l'incidence du CCR en 2018 est de 5 573 nouveaux cas (10.4%). Ce type de cancer est classé en deuxième position chez la femme, après le cancer du sein (11 847 cas nouveaux : 40,7%) (Globocan, 2018). Chez l'homme, le CCR se situe au deuxième rang des cancers les plus fréquents, après le cancer des poumons. Cependant, 2687 nouveaux cas ont été enregistrés en 2014, avec un taux d'incidence brut de 13,5 pour 100 000 habitants et un taux d'incidence standardisé de 16,3 (Hamdi Cherif et al., 2014) contre 2 910 nouveaux cas recensés en 2018 ( Globocan, 2018). Le taux de mortalité par CCR en Algérie se situe au 3<sup>ème</sup> rang des décès avec 2984 décès estimés en 2018 tous sexes confondus, derrière le cancer du sein (3367 décès) et le cancer du poumon (3826 décès). Il représente près de 11.7% des décès par cancers (Globocan, 2018).



**Fig. 03. Incidence des différents types de cancers en Algérie.** L'incidence des cancers les plus réponsus en Algérie, tous sexes confondus sont présentés. On note que les CCR occupaient la deuxième place chez les deux sexes (Globocan, 2018).

### I.1.2.3. Facteurs de risque

Parmi les facteurs de risque, on peut citer l'environnement qui joue un rôle prépondérant dans la survenue de la plupart des cancers (Anand et al., 2008 ; Minamoto et al., 1999). Ici, l'environnement se définit au sens large par des facteurs environnementaux tels

que l'alimentation, la consommation d'alcool et de tabac, l'exposition au soleil, l'obésité et la sédentarité, le stress, ainsi que l'exposition à des polluants (Minamoto et al., 1999). De ce fait, le cancer, et en particulier, le CCR, est une maladie pour laquelle des causes modifiables sont identifiées. Il s'agit donc d'une pathologie théoriquement évitable, notamment, en adoptant un mode de vie sain (Hagggar et Boushey, 2009 ; Boyle et Langman, 2000). Parmi les preuves de risque environnemental, on peut citer des études faites dans les années 2000 sur des populations émigrantes d'une zone à faible incidence vers une zone à forte incidence. Ces études révélaient que, dès la première génération, l'incidence de CCR dans ces populations devenaient comparable à celle du pays hôte (O'Keefe et al., 2007 ; Sharma et O'Keefe, 2007). Ces études ont démontré que les facteurs génétiques à eux seuls ne peuvent expliquer l'incidence du CCR et que les facteurs environnementaux ont une grande importance.

Par ailleurs, une étude récente a montré que les facteurs extrinsèques définis par les facteurs environnementaux affectant le taux de mutagenèse et contribue à une augmentation de 70 à 90% du risque de survenue d'un cancer, contre 10 à 30% due aux facteurs intrinsèques (Wu et al., 2015). Ces auteurs définissent les facteurs intrinsèques comme résultant de mutations dues à des erreurs aléatoires dans la réplication de l'ADN. Par contre, une étude controversée datant de la même année a estimé que seulement 1/3 de la plupart des cas de cancer sont dus à l'interaction des facteurs héréditaires et environnementaux, alors que les 2/3 restants sont dus à des mutations survenant pendant la réplication de l'ADN (Tomasetti et Vogelstein, 2015). De plus, ces auteurs estiment que le risque de survenue d'un cancer dans un tissu est corrélé principalement au taux de division des cellules souches dans ce même tissu. S'agissant du CCR, ces mêmes auteurs, l'ont catégorisé comme étant susceptible de dépendre à la fois des prédispositions génétiques et de facteurs environnementaux.

#### **I.1.2.3.1. Alimentation et mode de vie**

Plusieurs facteurs environnementaux ont été identifiés comme des facteurs de risque du CCR : l'alimentation, la sédentarité, l'obésité et la consommation d'alcool (AICR/WCRF, 2011 ; Hagggar et Boushey, 2009). Afin de clarifier le rôle de l'environnement, et en particulier, le rôle de l'alimentation sur le risque de cancer, le World Cancer Research Fund (WCRF) et l'American Institute for Cancer Research (AICR) ont publié une synthèse systématique de tous les résultats publiés sur l'alimentation, l'activité physique et la prévention du cancer (AICR/WCRF, 2007). Les données sur le CCR ont été mises à jour en 2011 via la publication d'un CUP (Continuous Update Project) sur cet organe (AICR/WCRF,

2011). Concernant le risque de CCR, les experts ont classé les différents facteurs (Majoritairement des aliments) en 4 catégories augmentant ou diminuant le risque, selon les preuves scientifiques existantes : convaincant, probable, limité et non concluant (Tableau 01).

**Tableau 01. Facteurs augmentant ou diminuant le risque de CCR.** Les corrélations entre les preuves scientifiques et les différents facteurs de risque de CCR sont classées en quatre types (convaincant, probable, limité et non concluant) (AICR/WCRF, 2011).

	Diminution du risque	Augmentation du risque
Convainquant	Activité physique Aliments contenant des fibres alimentaires	Viande rouge Charcuteries Boissons alcoolisées Obésité Obésité abdominale Taille à l'âge adulte
Probable	Ail Lait Calcium	
Limité	Légumes sans amidon Fruits Aliments contenant de la vitamine D	Aliments contenant du fer Fromage Aliments contenant des graisses animales Aliments contenant du sucre
Non concluant	Aliments contenant des folates, poisson, sélénium	

Les facteurs alimentaires ont un impact majeur sur la santé humaine, affectant positivement l'incidence et la prévalence de nombreuses maladies humaines. En 1981, une étude quantitative a estimé que plus de 80% des décès liés au cancer gastrique et au CCR pourraient être associés à certains facteurs alimentaires. Des études ont indiqué un risque plus élevé du CCR d'environ 20% par augmentation de la consommation de la viande rouge et transformée. Des données similaires existent pour les adénomes colorectaux, suggérant qu'effectivement, la consommation de viande rouge constitue l'un des principaux facteurs de risque pour l'évolution du CCR (Niederreiter et al., 2018 ; Ben et al., 2014). Le risque de CCR associé à la consommation de viandes rouges et de charcuteries est classé comme convaincant. Les méta-analyses d'études de cohorte pour les viandes rouges et les charcuteries ont donné des risques relatifs globaux faibles, mais, significatifs (Respectivement 1,17 pour 100 g/j de viande rouge et 1,18 pour 50 g/j de charcuterie). Le lien entre la consommation de la viande et le CCR a été attribué à ses teneurs élevées en matières grasses, aux amines hétérocycliques et/ou aux hydrocarbures aromatiques polycycliques, formés lors de la cuisson des composés N-nitrosés et du fer hémique (Pham et al., 2014). Par contre, les fruits et légumes peuvent protéger contre le CCR, en raison des niveaux élevés de plusieurs composés anti-carcinogènes potentiels, y compris, les fibres, le folate et les vitamines (Song

et al., 2015). La pratique régulière d'une activité physique est un facteur associé à une diminution de risque de CCR d'environ 20% (Namasivayan et Lim, 2017).

La consommation d'alcool et le tabagisme sont considérés comme des facteurs de risque dans l'étiologie de divers cancers, en particulier, le CCR (Na et Lee, 2017). Plusieurs études ont indiqué un risque accru de développer des adénomes colorectaux, qui sont beaucoup plus fortes avec le tabagisme (Colangelo et al., 2004 ; IARC, 2004), De plus, selon Franco et al. (2005), le tabagisme augmente fortement le risque de développer le CCR si la période d'exposition était prolongée (30-40 ans).

De nombreuses études ont montré que la vitamine D possède des propriétés anti-néoplasiques, en particulier, dans le colo-rectum. De plus, un apport élevé en calcium est également associé à des risques faibles de néoplasie colorectale (Baron et al., 2015). Aussi, le risque relatif associé à l'obésité est plus élevé pour le cancer du côlon que pour le cancer du rectum, et chez les hommes que chez les femmes. En revanche, l'adiposité abdominale est également fortement associée au cancer du côlon chez les deux sexes (Aleksandrova et al., 2013).

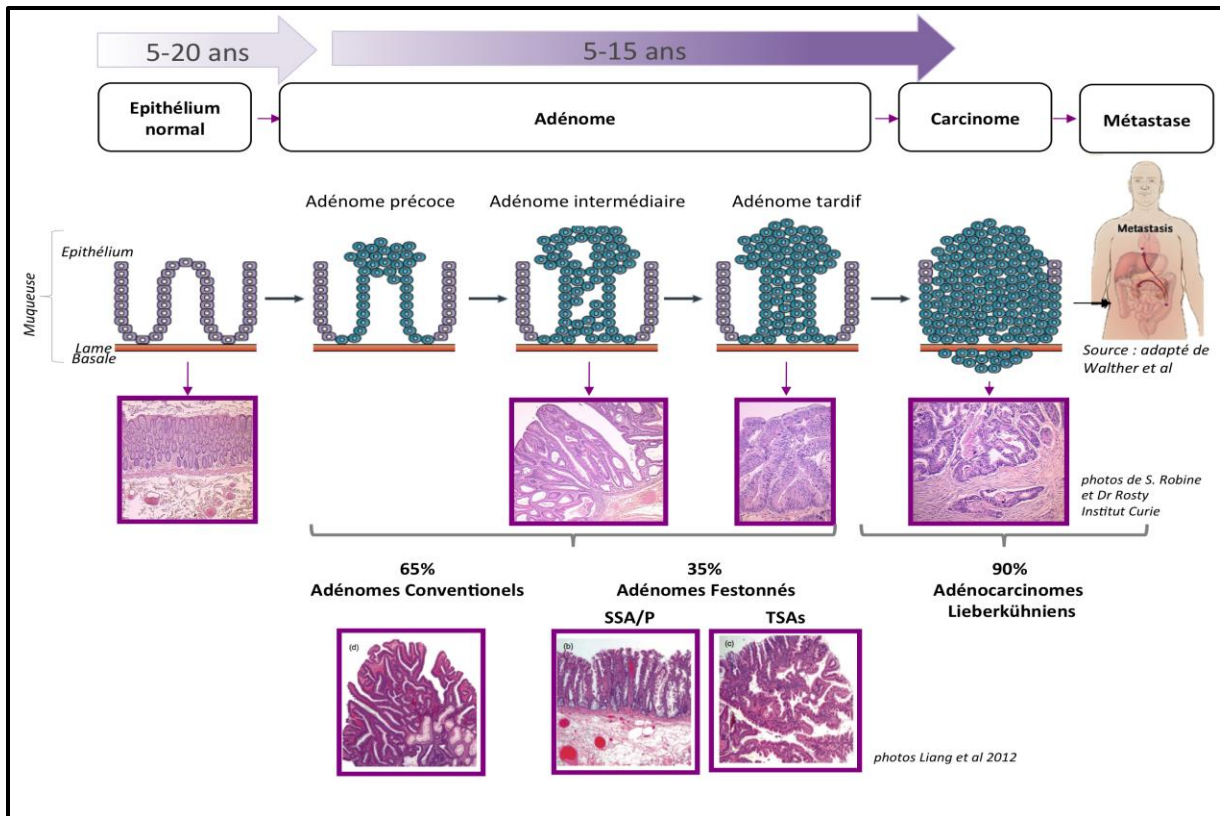
#### **I.1.2.3.2. Facteurs individuels, héréditaires et génétiques**

Le risque de développer un CCR augmente avec l'âge, plus de 90% des personnes diagnostiquées avec la maladie ont plus de 50 ans. L'âge moyen au moment du diagnostic est de 64 ans (Manceau et al., 2014). En plus de l'âge, les maladies inflammatoires de l'intestin constituent, également, un risque important pour le développement du CCR. Une personne ayant des antécédents d'adénome a un risque accru de développer un CCR, la détection et l'élimination d'un adénome avant la transformation maligne peuvent réduire son risque (Hagggar et Boushey, 2009). Avoir un parent de premier ou deuxième degré avec un CCR ou même une histoire de polypes adénomateux, augmente son risque et affecte souvent les recommandations de dépistage (Brenner et al., 2017). Dans ~5% des cas, le CCR est associé à un syndrome héréditaire dominant, fortement, pénétrant. Le plus connu est le LS connu sous le nom de HNPCC (Hereditary Non Polyposis Colon Cancer) représente ~3 à 5% des CCR. Le risque de développer un CCR chez les patients LS est de 28 à 75% chez les hommes et 24 à 52% chez les femmes, avec un âge moyen du diagnostic est ~44 ans (Donald et al., 2018 ; Mishra et Hall, 2012). Cependant, moins de 1% des CCR est causé par la PAF qui se caractérise par le développement de centaines de polypes, dont un ou plusieurs subissent une

transformation maligne dès l'âge de 20 ans. A l'âge de 40 ans presque toutes les personnes atteintes de ce trouble auront développé un cancer, si le côlon n'est pas enlevé (Hagggar et Boushey, 2009).

### I.1.3. Histopathologie des CCR et cancérogénèse

Toute perturbation de l'équilibre entre prolifération et différenciation cellulaire au sein de l'épithélium colique peut entraîner la mise en place de lésions cancéreuses. En effet, la présence d'une dysplasie, c'est-à-dire d'accumulation d'anomalies dans la régulation de la différenciation, de la prolifération et/ou de l'apoptose des cellules épithéliales, peut aboutir à un CCR. Du tissu sain au carcinome, différents stades se distinguent (Fig. 04).



**Fig. 04. Séquence de la progression tumorale colique.** Les différents états du développement d'un CCR (Epithélium normal ; adénome précoce, intermédiaire ou tardif ; carcinome ; métastase), ainsi que les formes histologiques (Conventionnelle, festonnée et lieberkühnienne) sont présentés (Liang et al., 2013).

Du point de vue histologique, le diagnostic du CCR est simple, c'est un adénocarcinome développé à partir des glandes de Lieberkühn qui ne pose pas de difficulté.

Différents grades sont définis, correspondant à des degrés variables de différenciation de la tumeur, de ressemblance de la tumeur avec l'épithélium glandulaire normal et de la richesse en formations glandulaires (Selves, 2009). La différenciation de l'adénocarcinome a été classée en grade 1 (Bien différencié), grade 2 (Moyennement différencié) et grade 3 (Peu différencié). Les grades 1 et 2 ont été définis comme des mauvais grades histologiques, tandis que le grade 3, le carcinome mucineux, et le carcinome avec différenciation neuroendocrine ont été caractérisés comme un haut grade histologique (Ha et al., 2017).

#### I.1.4. Symptômes et diagnostic des CCR

Les symptômes des CCR dépendent de la localisation et de la présence éventuelle de métastases. Les symptômes les plus répandus sont la présence de sang dans les selles, une constipation importante, une diminution de la taille des selles, une perte d'appétit et de poids (Adelstein et al., 2011 ; Astin et al., 2011). Le diagnostic le plus commun, consiste à réaliser un prélèvement du côlon à l'occasion d'une sigmoïdoscopie (Observation de l'anus, du rectum et des parties basses du côlon) ou d'une coloscopie (Observation du côlon-rectum et de l'anus). Ces techniques médicales permettent, non seulement, l'observation, mais également, le prélèvement de tissu suspecté à risque dans le but d'effectuer des analyses complémentaires (NCI, 2015 ; Cunningham et al., 2010).

Les CCR restent longtemps latents, ils ne deviennent symptomatiques qu'à un stade souvent avancé. Cependant, ils peuvent être découverts à un stade précoce dans le cadre d'un dépistage. Les troubles du transit intestinal sont également un signe d'appel fréquent, ils peuvent se traduire par l'alternance de diarrhée/constipation. L'anémie chronique, les douleurs abdomino-pelviennes, l'altération de l'état général (Amaigrissement), l'asthénie, l'anorexie, la fièvre et la perte de poids ou la fatigue révèlent parfois un CCR. Plus rarement, ils se manifestent par une occlusion intestinale aiguë, une péritonite, une masse abdominale palpable, un foie métastatique qui se traduit souvent par une hépatomégalie (Stracci et al., 2014). Le toucher rectal est un élément essentiel pour le diagnostic, il doit être réalisé en décubitus dorsal et en position genou pectorale, éventuellement sous anesthésie, si les douleurs le rendent impossible. Lorsque la lésion est accessible (Cancers du bas et moyen rectum), il permet d'apprécier la taille de la tumeur et son caractère plus ou moins circonscrit, son siège sur le rectum, son type bourgeonnant, ulcéré ou infiltrant, la distance entre le pôle inférieur de la tumeur et la marge anale (Pierluigi et al., 2008).

L'endoscopie permet de visualiser la tumeur, et surtout. Elle permet également de préciser son siège par rapport à la marge de l'anus, ce qui conditionne les indications chirurgicales. Les localisations multiples, rectales et coliques, sont relativement fréquentes. Un cancer du côlon doit être recherché systématiquement par coloscopie (Stracci et al., 2014; Pierluigi et al., 2008). La rectoscopie permet de visualiser la lésion souvent ulcéro-bourgeonnante, dure et saignante au contact. Elle est indispensable à l'exploration des lésions du tiers supérieur du rectum inaccessibles au toucher rectal (Bon Min, 2014).

Le bilan hépatique est peu sensible et peu spécifique dans le suivi de l'évolution des CCR et la détection des métastases hépatiques. L'augmentation de l'activité sérique des phosphatases alcalines (PAL) et de la gamma-glutamyl-transpeptidase a une sensibilité atteignant, respectivement, 77 % et 83 % dans les formes évoluées (Saif et al., 2005). L'augmentation concomitante de l'ACE et des PAL est sensible pour la détection des métastases hépatiques. Un taux très élevé de PAL est de plus un facteur de mauvais pronostic (Stracci et al., 2014). Le dosage des marqueurs tumoraux qui sont des molécules, le plus souvent, des glycoprotéines produites par les cellules tumorales, représentent des témoins de la maladie. Ils ne sont, ni sensibles, ni spécifiques, pour le diagnostic de l'adénocarcinome. Ils représentent, plutôt, un outil de dépistage précoce des récurrences, et d'évaluation de la réponse aux traitements (Laurent-Puig et al., 2010). L'ACE est le paramètre biologique le plus sensible pour détecter des métastases hépatiques, sa sensibilité est estimée entre 56 % et 93 %. Le taux d'ACE préopératoire est inconstamment augmenté, notamment, dans les tumeurs peu différenciées ou de petite taille. Une augmentation au-delà de 20 ng/mL est évocatrice d'une maladie évoluée ou métastatique. Elle est associée à un taux de récurrence postopératoire plus élevé et représente, à stade égal, un facteur de pronostic péjoratif (Vukobrat et al., 2013). Le CA 19-9 fait partie des antigènes tumoraux, il a été identifié en 1979 par Koprowski grâce à l'anticorps monoclonal 1116-NS 19-9 obtenu par immunisation de souris avec une lignée cellulaire SW 1116 dérivée d'un adénocarcinome du côlon humain. Le dosage de CA 19-9 a un intérêt pratique, il a été démontré, que le taux de ce marqueur est indiqué essentiellement dans l'évaluation pronostique et le suivi thérapeutique (Vukobrat et al., 2013).

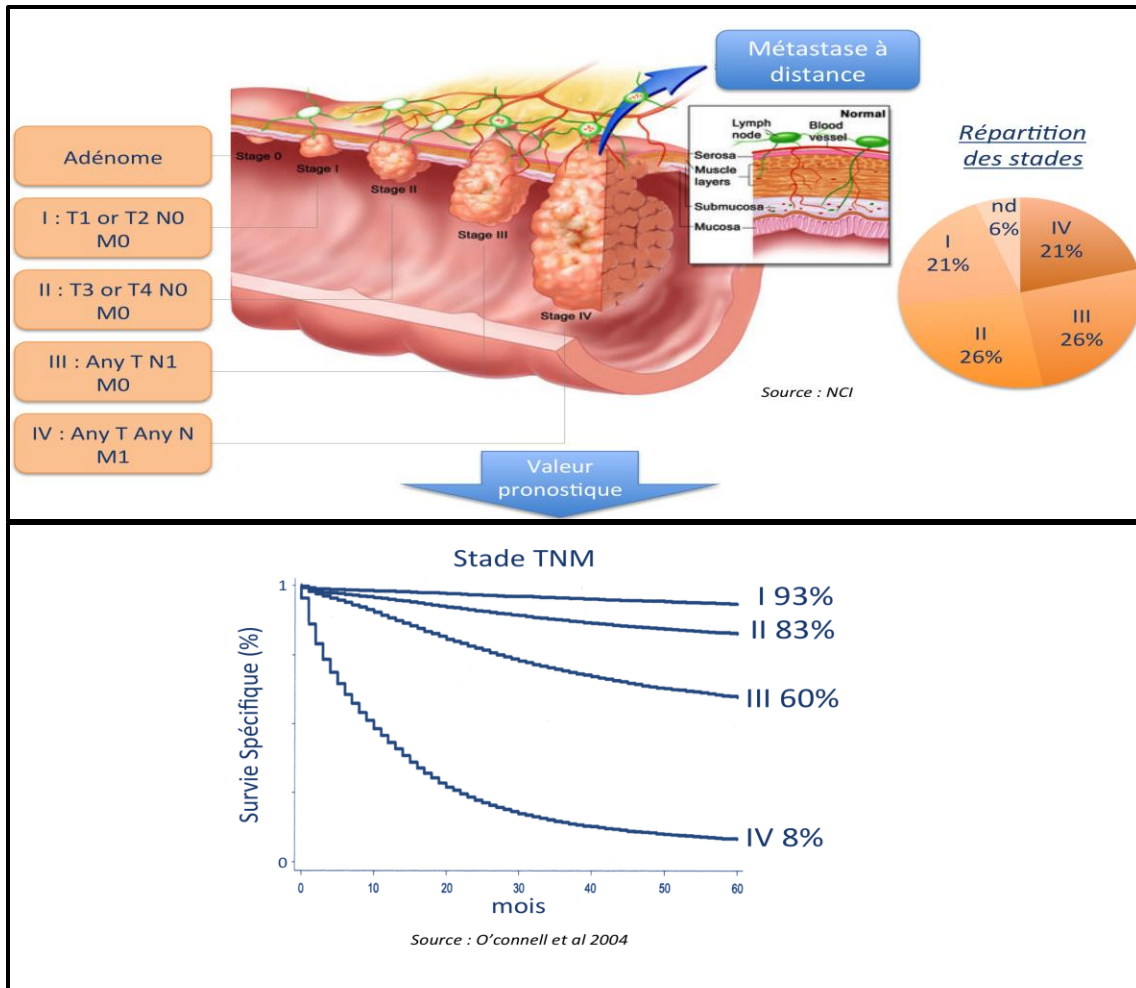
Par ailleurs, la recherche des métastases abdominales implique plusieurs examens qui peuvent déterminer les différents sites métastatiques hépatiques, pelviens, péritonéaux, ovariens ou ganglionnaires. Ces examens sont essentiellement l'échographie abdominale, l'imagerie par résonance magnétique (IRM) et la tomodensitométrie (TDM). La radiographie thoracique est utile dans la détection des métastases pulmonaires, en raison de sa facilité de réalisation. Sa fiabilité est inférieure à l'examen TDM thoracique. Cette dernière complète le

cliché radiologique standard en cas de doute sur une localisation secondaire pulmonaire. Enfin, la ponction biopsie est un examen qui possède une valeur diagnostique élevée. Elle est réalisable par voie percutanée, sous contrôle échographique de type TDM ou laparoscopie. Elle concerne, le plus souvent, les métastases hépatiques. Il existe un risque rare de dissémination tumorale aux points de ponction (Stracci et al., 2014).

### **I.1.5. Classifications des CCR**

#### **I.1.5.1 Classification TNM**

En clinique, classer les tumeurs est primordial pour savoir comment traiter et prendre en charge les patients. Avant les années 1930, l'établissement du pronostic était basé sur le grade histologique (Différentiation cellulaire), mais, sa valeur pronostique était limitée. En 1932, Cuthbert Dukes publia la classification des cancers du rectum qui constituera la base des systèmes de classifications actuels. Le succès de cette classification résida dans sa simplicité, de part, sa valeur pronostique et prédictive de la mortalité après opération, dans son impact pour le choix thérapeutique. Cette classification prend en compte la profondeur de pénétration dans la paroi et la présence ou non de métastases dans les ganglions lymphatiques régionaux. La classification de Dukes fut longtemps utilisée pour les CCR, mais, elle a été supplantée depuis quelques années par la classification plus détaillée, la classification TNM (Tumor-Node-Metastasis) (Haq et al., 2009 ; Locker et al., 2006). Cette dernière a été proposée par l'American Joint Committee on Cancer (AJCC) qui, depuis 1959, travaillait sur la définition de standards de classification des cancers. Elle mesure l'étendue locale et à distance des cellules cancéreuses à 3 niveaux : envahissement de la tumeur primaire (T), envahissement ganglionnaire périphérique et le nombre de ganglions touchés (N, pour node) et la dissémination métastatique (M) (Fig. 05). Pour chaque niveau, un chiffre est donné, puis, le tout est combiné en 4 stades, allant de I à IV. Schématiquement, les stades I et II sont caractérisés par un envahissement de la paroi intestinale, allant de la sous-muqueuse à la totalité de la paroi ; le stade III se manifeste par un envahissement de la paroi et des ganglions locorégionaux ; le stade IV présente des métastases à distance, généralement dans le foie, les poumons ou le péritoine. Le stade 0 correspond aux adénomes, c'est-à-dire que les cellules tumorales ne dépassent pas la lame basale. Selon les données de l'INCa de 2009, la répartition en fonction des 4 stades est quasiment identique avec 26% de stade I, 21% de stade II, 21% de stade III et 26% de stade IV (6% non déterminé).



**Fig. 05. Classification TNM des CCR et valeur pronostique.** Les CCR sont classés en fonction de l'étendue locale et à distance des cellules cancéreuses à 3 niveaux (Envahissement de la tumeur primaire (T), envahissement ganglionnaire périphérique et le nombre de ganglions touchés (N, pour node) et la dissémination métastatique (M). Les différents stades (I-IV) et la survie spécifique sont présentés (O'Connell et al., 2004).

L'intérêt majeur de la classification TNM est sa forte association au pronostic (Fig. 05). En effet, la survie spécifique à 5 ans est de 93% pour le stade I, de 83% pour le stade II, de 60% pour le stade III, et seulement, de 8% pour le stade IV. Des raffinements de cette classification, sous-divisant les stades existants, lors de la 6<sup>ème</sup> édition en 2002, ont permis de mieux définir le pronostic (O'Connell et al., 2004). Elle constitue l'un des facteurs pronostiques majeurs des cancers coliques, et reste le principal outil du clinicien pour la décision thérapeutique, après chirurgie. Toutefois, d'autres facteurs apportent de l'information complémentaire au pronostic : le grade (Degré de différenciation), la qualité de la résection (Ou exérèse) chirurgicale, l'invasion lympho-vasculaire et nerveuse, la présentation sous forme d'occlusion ou d'une perforation tumorale (Stade T4) et le nombre de ganglions envahis (Sablin et al., 2009 ; O'Connell et al., 2004).

### I.1.5.2. Classification moléculaire par analyse transcriptomique

Depuis quelques années, une nouvelle classification moléculaire des CCR par analyses transcriptomiques a été développée, en plus des classifications anatomopathologiques et géniques (Roepman et al., 2014 ; Budinska et al., 2013 ; Marisa et al., 2013 ; Sadanandam et al., 2013 ; Schlicker et al., 2012). Les auteurs ont tenté de classer les tumeurs coliques, en fonction du profil d'expression des ARNm de la tumeur primitive, sur des cohortes comprenant des milliers de patients. Ces données transcriptomiques ont été corrélées avec la présence des mutations fréquentes dans les CCR (APC, KRAS, BRAF, TP53), le statut micro-satellitaire stable (MSS)/micro-satellitaire instable (MSI), l'hyper-méthylation des îlots CpG (CIMP), ainsi qu'avec les données clinico-biologiques disponibles (Récidive locorégionale ou métastatique, survie globale, réponse aux biothérapies, etc...). Selon ces études, 3 à 6 groupes de CCR ont pu émerger, en fonction du profil d'expression génique des tumeurs. De manière remarquable, dans toutes ces études, l'un des sous-groupes discriminés de manière aléatoire, est associé à une survie globale plus faible des patients. En termes de prédiction de la survie et de la récurrence tumorale, le profil phénotypique est plus puissant que la présence d'une mutation ou qu'une signature génétique de type MSS ou MSI, quant à la survie globale ou sans récurrence du patient. Ce CMS (Consensus Molecular Subtype) dans les différentes études est dit mésenchymateux, cellule souche, etc, car enrichi en transcrits de cellules souches ou associés à la transition épithélio-mésenchymateuse. De plus, une résistance aux thérapies anti-EGFR (Epidermal growth factor receptor) est observée chez les patients métastatiques des groupes mésenchymateux, indépendamment du statut mutationnel de KRAS. Un consensus a vu le jour en 2015 (Guinney et al., 2015), rassemblant les auteurs des 6 analyses préalables, permettant de rassembler ces différentes classifications moléculaires en quatre CMS : CMS1 (Enrichi en tumeurs MSI<sup>+</sup>/CIMP<sup>+</sup>, tumeurs BRAFV600E), CMS2 (Tumeurs CIN, signature moléculaire dite entérocytaire et activité Wnt élevée), CMS3 (Tumeurs KRAS mutées, activation des voies du métabolisme), CMS4 (Signature mésenchymateuse et marqueurs de cellules souches). Le sous type CMS4 est associé avec le pronostic, le plus sombre pour les patients. Au niveau mutationnel, le sous type CMS4, identifié chez près de 25% des tumeurs, contient des tumeurs arborant les mutations des gènes BRAF (Moins de 10% des cas), KRAS (40%), APC et TP53 (Plus de 50% des cas pour les deux gènes), ainsi que peu de patients MSI et/ou CIMP<sup>+</sup>. Dès lors, l'on peut imaginer que la recherche d'un nombre restreint de transcrits, parmi les plus spécifiques de chacun de ces 4 sous-groupes, permettrait de phénotyper la tumeur d'un patient, après exérèse pour mieux orienter la thérapie et le suivi, en fonction de l'agressivité supposé de son cancer.

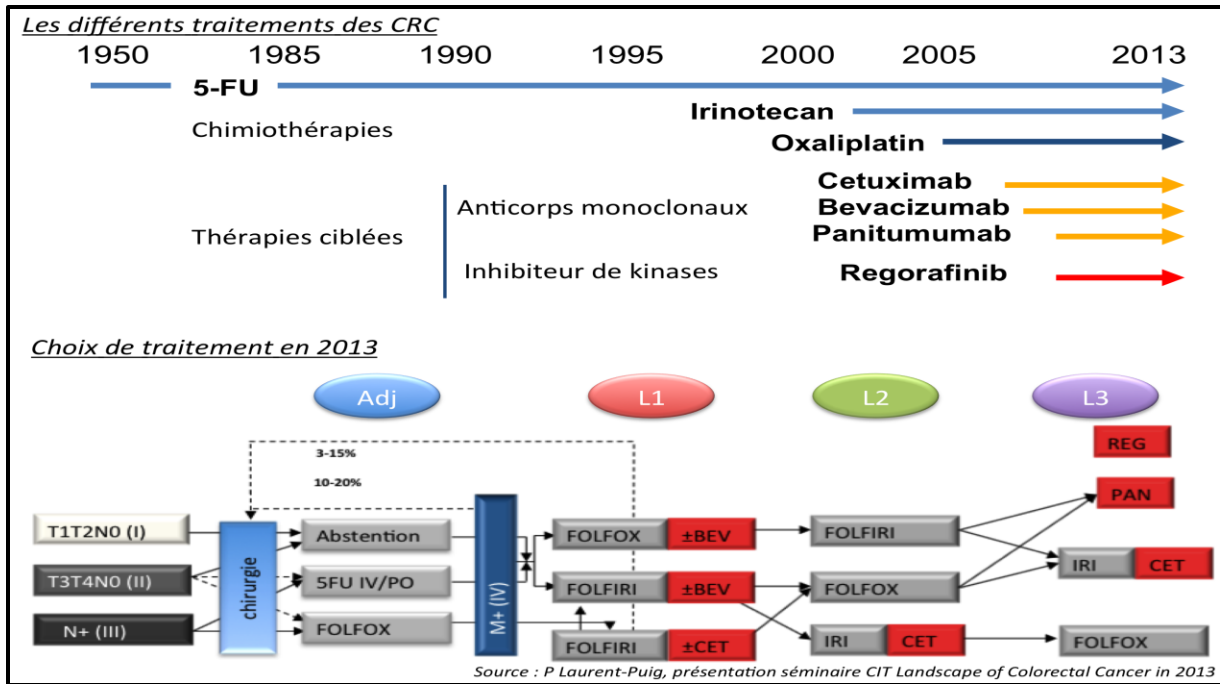
## **I.1.6. Thérapeutiques des CCR**

### **I.1.6.1. Chirurgie**

La chirurgie curative constitue l'essentiel du traitement. Il s'agit en général d'une résection avec une marge d'un minimum de 5 cm, avec anastomose (Raccord chirurgical pour rétablir la continuité entre les deux segments sains par une simple suture chirurgicale). La résection de la tumeur nécessite l'exérèse monobloc de la tumeur, ainsi que du côlon sus- et sous- jacent, assurant des marges verticales saines. C'est le seul traitement des patients en stade I (John et al., 2014). A noter que le lien entre les vaisseaux doit être rétabli, avant la mobilisation de la tumeur pour prévenir le risque d'embols néoplasiques vers le foie. La dissection devrait idéalement suivre les plans anatomo-embryologiques pour s'assurer que la tumeur et sa zone principale de propagation lymphatique sont enlevées (Kuipers et al., 2016).

### **I.1.6.2. Chimiothérapie**

La chimiothérapie consiste à administrer au malade un médicament cytotoxique destiné à tuer les cellules cancéreuses. Elle est généralement un traitement adjuvant effectué, en plus de l'opération chirurgicale pour augmenter les chances de succès. Parfois, le traitement est palliatif quand la chirurgie est impossible, ou permet de diminuer la taille de la tumeur, avant l'opération (Néo-adjuvant) (De Felice et al., 2014). Le 5-FU est le médicament de référence en cancérologie intestinale, il a été conçu pour piéger l'une des enzymes clés de la synthèse de l'ADN, qui est la thymidylate synthétase (Fig. 06). Aussi, il est utilisé, associé à l'oxaliplatine (FOLFOX), et parfois, avec l'avastin (FOLFOX-Avestin) (Srinivas et al, 2015). De sa part, l'oxaliplatine peut être associé au capecitabine (XELOX) (Gustavsson et al, 2015 ; Kawakami et al., 2015).



**Fig. 06. Chimiothérapie et thérapie ciblée des CCR.** Adj : traitement adjuvant ; L : ligne de traitement ; N<sup>+</sup> : tumeur avec un envahissement ganglionnaire ; M<sup>+</sup> : tumeur métastatique (Laurent-Puig et al., 2015).

### I.1.6.3. Radiothérapie

Au cours d’une radiothérapie, des doses élevées d’un type spécial d’énergie (Sous forme de radiation) sont dirigées vers l’endroit où le cancer se développe, afin de détruire les cellules en bloquant leur division. La radiothérapie détruit les cellules cancéreuses dont la croissance est incontrôlable, mais, elle peut également endommager les cellules saines environnantes (John et al., 2014). Elle permet un contrôle local, en diminuant la fréquence des récurrences locales, y compris en cas d’exérèse complète du méso-rectum, mais, elle n’influence pas la survie.

### I.1.6.4. Thérapie ciblée

La thérapie ciblée, dont fait partie la thérapie aux anticorps monoclonaux, est une autre méthode qui peut aider à traiter le CCR. Les médicaments utilisés dans ce cadre ont pour but de combattre et d’attaquer les cellules cancéreuses, sans nuire aux cellules normales. Ces cellules cancéreuses, peuvent être également combattues par la stimulation du système immunitaire dans le cadre d’une immunothérapie (Feng et al., 2014 ; Eng, 2010). L’apport des thérapies ciblées, avec l’arrivée en 2004 des anticorps monoclonaux antiVEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) (Bevacizumab) et anti-EGFR (Cetuximab) est non négligeable. Aujourd’hui, le Bevacizumab en combinaison avec une chimiothérapie, est indiqué en

traitement de première ligne du CCR métastatique. En cas de CCR métastatique sur-exprimant l'EGFR, et après échec d'une chimiothérapie comportant un inhibiteur de la topoisomérase I (Irinotecan), le Cetuximab est indiqué en deuxième ou troisième ligne de traitement. Encore, deux autres thérapies ciblées ont été approuvées : l'affibercept (Ciblant le VEGF) et le Sorafenib qui, en plus de cibler l'angiogenèse, est un inhibiteur de plusieurs kinases impliquées dans la prolifération cellulaire (Marzi et al., 2016).

Enfin, une meilleure connaissance des interactions complexes entre les cellules cancéreuses et le système immunitaire a conduit à de nouvelles approches d'immunothérapie. Le traitement avec des anticorps monoclonaux sélectifs anti-PD1, anti-PD-L1 et/ou anti-CTLA-4 a été une révolution dans le scénario thérapeutique de plusieurs types de cancer. Cependant, dans les CCR métastatiques avec un système Mismatch repair (MMR) déficient ou une instabilité micro-satellitaire élevée, il existe des preuves cliniques claires pour un rôle thérapeutique des inhibiteurs du point de contrôle immunitaire (Ciardiello et al., 2019).

## **I.2. Cancérogénèse colorectale**

### **I.2.1 Introduction**

La cancérogénèse est un processus composé de multiples étapes, nécessitant l'accumulation d'anomalies génétiques, héritées et acquises. Ces anomalies vont donner à la cellule des capacités nouvelles et un avantage de croissance, par rapport aux cellules adjacentes. Six caractéristiques vont être acquises : l'insensibilité aux signaux inhibiteurs de la croissance cellulaire, perte de l'apoptose, multiplication cellulaire infinie, acquisition de l'angiogenèse, acquisition de la possibilité d'envahir les tissus avoisinants et possibilité de métastaser à distance. Certains oncogènes ou gènes suppresseurs de tumeur, ont été identifiés comme favorisant le passage d'une cellule normale, en une cellule cancéreuse (Marmol et al., 2017). De nombreuses altérations génétiques ou épi-génétiques surviennent dans les tissus en voie de cancérisation, entraînant une forte instabilité génomique, ce qui contribue à l'accumulation de défauts moléculaires de 2 types : les modifications qui entraînent de nouvelles fonctions oncogéniques ou augmentent leurs effets et celles qui mènent à la perte de fonction des gènes suppresseurs de tumeurs (Fearon, 2011).

### **I.2.2. Mécanismes moléculaires**

Si les CCR sont très homogènes au niveau histologique (Plus de 90% d'adénocarcinomes), trois mécanismes différents ont été individualisés dans la cancérogénèse colorectale : l'instabilité chromosomique (CIN), MSI et CIMP. Ces mécanismes vont modifier le fonctionnement de certaines voies de signalisation cellulaire et entraîner la cellule vers un phénotype tumoral. Au moins deux de ces mécanismes sont étayés par l'existence de syndrome de prédispositions héréditaires majeures au CCR : la PAF et le LS (Fearon, 2011).

#### **I.2.2.1. Inactivation du gène APC et voies d'instabilité chromosomique**

L'instabilité chromosomique est impliquée dans environ 80% des cancers sporadiques (Laurent-Puig et al., 2010), elle se caractérise par des pertes alléliques sur les bras courts des chromosomes 17, 8 et sur les bras longs des chromosomes 18, 5 et 22. Ces anomalies sont, le plus souvent, associées à des mutations des gènes suppresseurs de tumeur APC et TP53 dans la PAF colique qui entraînent l'inactivation complète de ces gènes. On retrouve fréquemment une aneuploidie cellulaire. Il a été montré que des mutations sur le gène APC, aboutissant à la formation d'un codon stop, peuvent favoriser la CIN. En effet, une des fonctions de la protéine APC est de maintenir la polymérisation des microtubules du noyau cellulaire (Fodde et al.,

2001). Le gène APC est retrouvé muté dans 70 à 80% de toutes les tumeurs colorectales et est, aujourd'hui, considéré comme un événement précoce du processus de cancérogénèse (Heinen, 2010). La mutation initiatrice du gène APC contribue à la perte du contrôle de la croissance cellulaire (Jasperson et al., 2010) et peut avoir une origine héréditaire ou spontanée. Ce gène suppresseur de tumeur, joue un rôle clé dans la régulation du cycle de la division cellulaire et régule la voie de signalisation Wnt/ $\beta$ -caténine. En cas de perte de la fonction d'APC, la  $\beta$ -caténine s'accumule et active la transcription des gènes MYC et cycline D1, ce qui entraîne une prolifération accrue des cellules (Bhalla et al., 2018 ; Ogino et Goel, 2008) et dirige la transcription des gènes impliqués dans la tumorigénèse et l'invasion cellulaire.

Dans le cas de la PAF, maladie génétique autosomique dominante, la mutation du gène APC est retrouvée chez 100% des patients. L'emplacement de la mutation au sein du gène APC semble être corrélé avec la gravité de la maladie et la présence d'une manifestation extra-colique chez les patients PAF (Mármol et al., 2017 ; Al-Sohaily et al., 2012). Cette maladie héréditaire, qui représente 0,5 à 1% des CCR, se caractérise par un nombre très élevé d'adénomes (100 à 1000) dans le côlon et le rectum, qui apparaissent, généralement, à l'âge entre 20 et 30 ans. Le seul traitement consiste en une colectomie totale préventive. Il existe également une forme atténuée de la maladie (Environ 10% des cas), se caractérisant par l'apparition tardive du cancer, accompagnée d'un nombre de polypes inférieur à 100. C'est vraisemblablement, la position de la mutation du gène APC qui détermine la sévérité de la pathologie (Heinen, 2010). Le gène APC est localisé sur le bras long du chromosome 5 et classé comme suppresseur de tumeur. Ce gène est exprimé constitutivement dans l'épithélium colique normal, il code pour une protéine, localisée principalement dans le cytoplasme, et qui possède de multiples fonctions. Cette protéine de 300 kDa est composée de différents domaines. La partie N-terminale contient le domaine d'oligomérisation et des séquences répétées, permettant l'association de la protéine avec le réseau d'actine (Domaine d'Armadillo). La partie centrale de la protéine comporte les sites de fixation et de liaison à la  $\beta$ -caténine, ainsi que les sites de liaison à l'actine. La partie C-terminale contient un domaine de fixation aux microtubules ; ainsi que les sites de fixation aux protéines EB1 (End binding protein 1) et hDlg (Human homologue of *Drosophila* discs large), ayant des fonctions suppresseurs de tumeurs (Narayan et Roy, 2003).

### **I.2.2.2. Inactivation des gènes MMR**

Ce mécanisme est retrouvé dans environ 15% des CCR (Laurent-Puig et al., 2010) et se caractérise par une instabilité des locus micro-satellites, liée à un défaut de réparation des mésappariements de l'ADN, une tâche, normalement, dévolue au système MMR, composé des gènes hMLH1, hMLH3, hMSH2, hMHS6, hPMS1 et hPMS. Ces séquences micro-satellites, sont très fréquentes dans l'ensemble du génome et à risquent d'être mal répliquées par l'ADN polymérase, en particulier (Wang et al., 2018 ; Boland et Goel, 2010). Le système MMR peut être inactivé, en cas de mutation germinale associée à une mutation somatique LS, ou par méthylation du promoteur de hMLH1 qui inactive sa transcription (Forme sporadique). Contrairement aux tumeurs avec un phénotype CIN, les cellules MSI sont, le plus souvent, diploïdes, et on retrouve moins fréquemment des mutations APC ou TP53 (Gupta et al., 2018 ; Olschwang et al., 1997). L'inactivation du système MMR conduit à l'accumulation de mutations secondaires, qui vont inactiver de nombreux gènes, aboutissant à la transformation de la cellule.

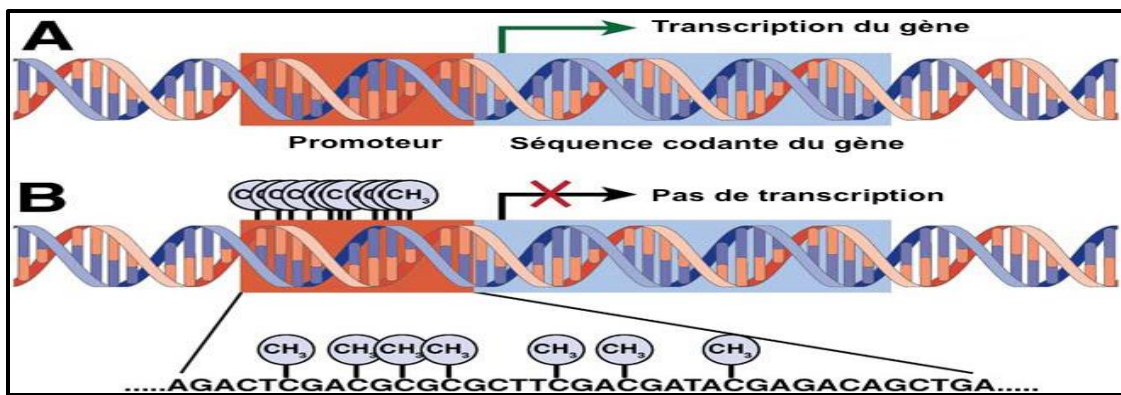
### **I.2.2.3. Inactivation par mutation-forme familiale**

La mutation des gènes MMR est, dans la grande majorité des cas, germinale. Cette mutation caractérise le LS. Cette pathologie est la forme génétique la plus fréquente de CCR (2 à 4%) (Pellat et al., 2018 ; Heinen, 2010 ; Hampel et al., 2008). Elle se caractérise par l'apparition de tumeurs dans le côlon proximal, mais aussi, dans d'autres organes (Intestin grêle, ovaire, estomac, endomètre, voies urinaires et biliaires). Le LS est un syndrome héréditaire autosomique dominant, causé par une mutation germinale dans l'un des gènes de réparation des mésappariements (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2) ou le gène EpCAM (Nojadeh et al., 2018). En raison de ce défaut génétique, les tumeurs LS sont caractérisées par une instabilité des microsatellites (Brosens et al., 2016). Les cancers du côlon surviennent dans le LS à un âge d'apparition plus jeune et ont une localisation plus proximale par rapport aux néoplasmes sporadiques. Sur le plan histologique, les cancers sont souvent mal différenciés, mucineux et ont un grand nombre de lymphocytes infiltrant les tumeurs (Jasperson et al., 2010).

### **I.2.2.4. Inactivation par hyperméthylation du promoteur-forme sporadique**

L'inactivation des gènes MMR peut également avoir pour cause des modifications épigénétiques. Ici, l'inactivation est due à l'hyperméthylation de leur promoteur au niveau de régions riches en îlots CpG (voie CIMP) (Wang et al., 2018). Ce mécanisme d'inactivation des gènes MMR est retrouvé, majoritairement, dans des formes sporadiques de CCR et présente des

particularités histo-pathologiques. En effet, les tumeurs se développant à partir de cet évènement initiateur ont pour origine des adénomes festonnés sessiles. Les tumeurs se développant via la voie des CIMP représentent 10 à 12% des cancers sporadiques, suivant la voie des MSI et auraient comme origine majoritaire l'inactivation du gène MLH1 (Issa et al., 2005). La non-fonctionnalité de ce gène favoriserait la formation du cancer, en augmentant la prolifération cellulaire, et en inhibant l'apoptose (Fearon, 2011). Des dinucléotides CpG regroupés en îlots, sont retrouvés dans les régions promotrices pour la moitié des gènes. Ces îlots CpG peuvent inactiver un gène, en empêchant sa transcription, si leur cytosine est méthylée (Fig. 07).



**Fig. 07. Mécanisme d'inactivation de la transcription par méthylation.** La méthylation de l'ADN au niveau du promoteur d'un gène provoque sa compaction et son inaccessibilité à la machinerie de transcription (Leggett et Whitehall, 2010).

#### I.2.2.5. Mutation activatrice de KRAS

Les protéines Ras sont de petites GTPases, impliquées dans de nombreuses voies de signalisation par les récepteurs de type tyrosine kinases (Karnoub et Weinberg, 2008). Les mutations de KRAS aboutissent à l'activation constitutive de ces voies de signalisation, favorisant la croissance, la survie, la progression tumorale, l'angiogenèse et la formation de métastases (Downward, 2003). Le gène KRAS est l'isoforme, le plus fréquemment muté, ce qui constitue 86% des mutations du gène RAS (Liu et al., 2019 ; Singh et al., 2015 ; Pylayeva-Gupta et al., 2012). La mutation KRAS est considérée comme un biomarqueur prédictif établi de la résistance thérapeutique à l'anti-EGFR chez les patients atteints du CCR métastatique, elle se retrouve dans environ 30% de tous les cancers humains et environ 35 à 45% des CCR (Su et al., 2019).

### I.2.3. Voies de signalisation cellulaire

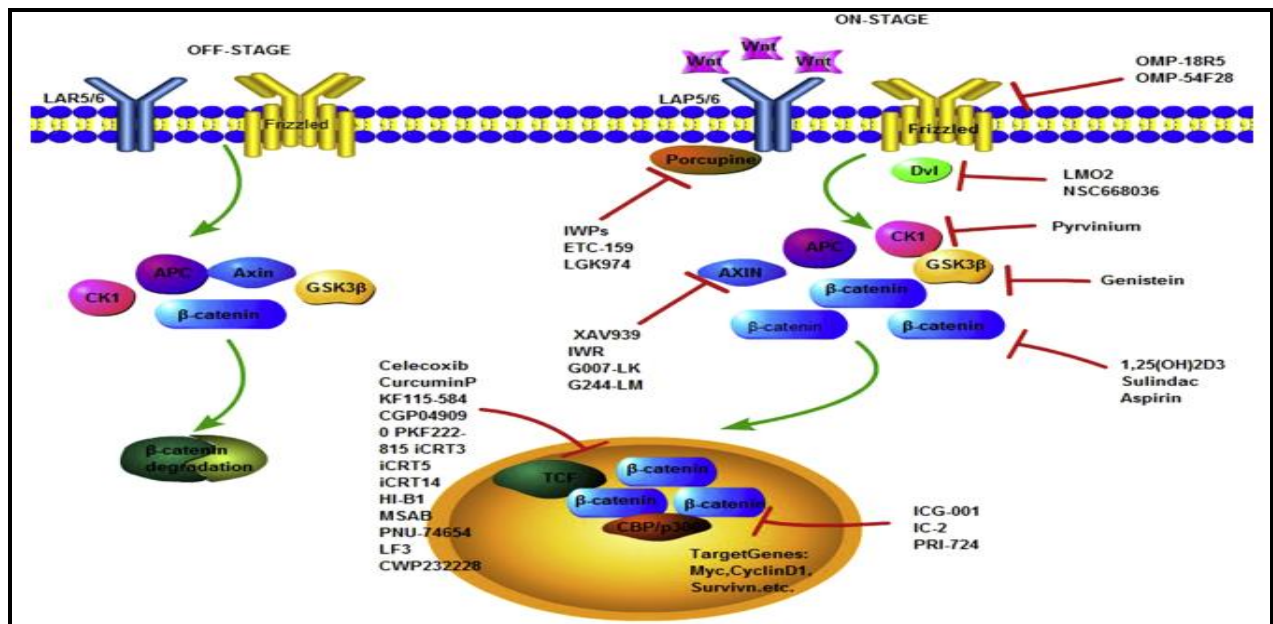
Ce sont bien les protéines codées par les gènes mutés dans les CCR qui agissent sur la mécanique cellulaire. En fonction du mécanisme de progression prépondérant au sein d'un CCR (CIN, MSI ou CIMP), une voie de signalisation est préférentiellement affectée. Les 4 voies de signalisation, habituellement, impliquées dans la cancérogénèse colorectale, sont la voie Wnt (APC/ $\beta$ -caténine), la voie TGF- $\beta$ , la voie RAS/MAPK et la voie p53 (Mármol et al., 2017).

#### I.2.3.1. Voie de signalisation Wnt

La  $\beta$ -caténine, médiateur clé de la signalisation Wnt, se trouve dans plusieurs localisations subcellulaires, y compris les jonctions adhérentes dans les quelles aide à stabiliser les contacts cellule/cellule ; le cytoplasme, où les niveaux de la  $\beta$ -caténine sont contrôlés par des processus régulant la stabilité des protéines ; et le noyau, où elle est impliquée dans la régulation de la transcription et les interactions de la chromatine (Cheng et al., 2019). Environ 1% des CCR présentent des mutations activantes dans la protéine  $\beta$ -caténine (Polakis et al., 1999), et des taux élevés de  $\beta$ -caténine dans le noyau sont associés à un mauvais pronostic chez les patients atteints de CCR (Baldus et al., 2004). En outre, la  $\beta$ -caténine nucléaire coopère avec le TCF/LEF pour activer l'expression des gènes cibles de la signalisation Wnt/ $\beta$ -caténine, tels que l'oncogène c-MYC et la cycline D1, qui sont susceptibles de jouer un rôle important dans le développement des CCR (Fig. 08) (Testu et McCormick, 1999 ; He et al., 1998).

Parmi les autres cibles de la signalisation de la  $\beta$ -caténine/TCF, la métalloprotéinase matricielle 7, qui est exprimée dans 90% des CCR. De plus, il a été confirmé que Msi1, un gène cible de Wnt, régule la traduction de l'APC dans les cellules du côlon humain (Cheng et al., 2019). La signalisation Wnt joue, également, un rôle important dans la promotion de la transition épithélio-mésenchymateuse, en induisant l'expression de facteurs de transcription (Yang et al., 2006). Presque toutes les mutations de la voie de signalisation Wnt/ $\beta$ -caténine dans le CCR, finissent par entraîner l'accumulation de la  $\beta$ -caténine. Par conséquent, les inhibiteurs des interactions  $\beta$ -caténine/TCF ou les antagonistes des co-activateurs de la transcription peuvent être une option potentielle pour le traitement des CCR. Des études ont montré que la restauration de la fonction de l'APC peut, à son tour, restaurer l'homéostasie des cryptes et des niveaux normaux de signalisation Wnt chez la souris, même en présence de mutations des gènes Tp53 et KRAS (Dow et al., 2015). La progression tumorale induite par la perte d'APC, pourrait être, efficacement, ralentie par l'élimination de l'activité de la  $\beta$ -caténine/TCF, ce qui suggère

que les inhibiteurs Wnt/ $\beta$ -caténine constituent un traitement ciblé contre les CCR (Cheng et al., 2019).

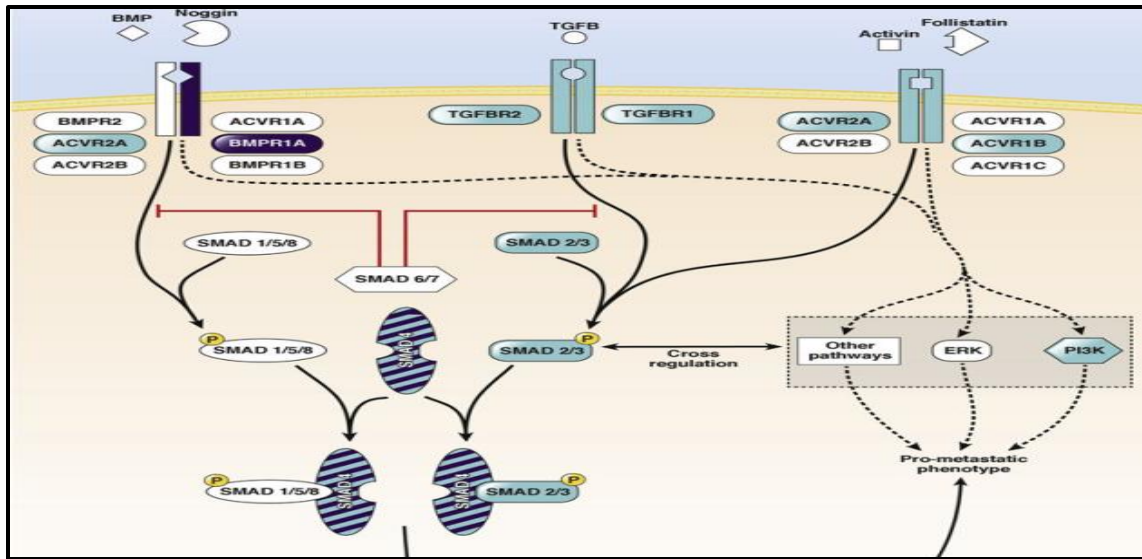


**Fig. 08. Illustration schématique de la voie de signalisation Wnt/ $\beta$ -caténine.** Gauche : voie inactive Wnt/ $\beta$ -caténine. En l'absence de ligands de Wnt, le «complexe de destruction» phosphoryle la pour l'ubiquitination et la dégradation protéolytique. Droite : voie active de la  $\beta$ -caténine et ses inhibiteurs. En présence des ligands de Wnt, la formation d'un complexe de destruction n'est pas accomplie, ce qui entraîne une translocation nucléaire de la  $\beta$ -caténine (Cheng et al., 2019).

### I.2.3.2. Voie de signalisation TGF $\beta$

Jusqu'à 80% des lignées cellulaires du CCR, selon leur sous-type génomique, présentent un défaut dans la voie de signalisation TGF- $\beta$  et échappent à un arrêt de croissance, induit par le TGF- $\beta$ . Les tumeurs peuvent échapper aux effets inhibiteurs de croissance de la signalisation TGF- $\beta$ , via de nombreux mécanismes, y compris des mutations de récepteurs, des protéines R-SMAD ou de SMAD4, la surexpression des protéines inhibitrices SMAD6 ou SMAD7, le blocage de la phosphorylation des protéines R-SMAD; ou une protéolyse accrue à médiation de l'ubiquitine (Jung et al., 2017 ; Kang et al., 2009). La liaison de ligand aux récepteurs TGF- $\beta$  active également plusieurs voies de signalisation non-SMAD, appelées signalisation non canonique. Ces voies impliquent l'activation de plusieurs cascades de kinases, notamment, les GTPases Rho, Rac et Cdc42 ; des voies de protéine kinase activées par un mitogène qui incluent MEK1/2 et ERK1/2, ainsi que des kinases TRAF4/6, TAK1, MKK3/6 et p38; et la voie PI3K-AKT-mTOR. L'activation de chacune de ces voies peut contribuer à la capacité du TGF- $\beta$ , de promouvoir la transition épithéliale-mésenchymateuse, coopérant avec probablement la

signalisation canonique médiée par SMAD. Cependant, la signalisation non canonique peut se produire en l'absence des protéines SMAD fonctionnelles (Fig. 09) (Jung et al., 2017).



**Fig. 09. Voies de signalisation de la famille TGF-β et les gènes mutés dans les CCR.** Divers ligands se lient aux récepteurs de surface cellulaire spécifiques pour affecter la signalisation SMAD et non-SMAD en aval. Les membres de la voie généralement mutés dans le CCR sont en noir, les membres affectés par d'autres cancers gastro-intestinaux sont en rouge, et les membres qui ont été trouvés altérés dans les deux sont rayés (Jung et al., 2017).

### 1.2.3.3. Voie de signalisation MAPK et PI3K

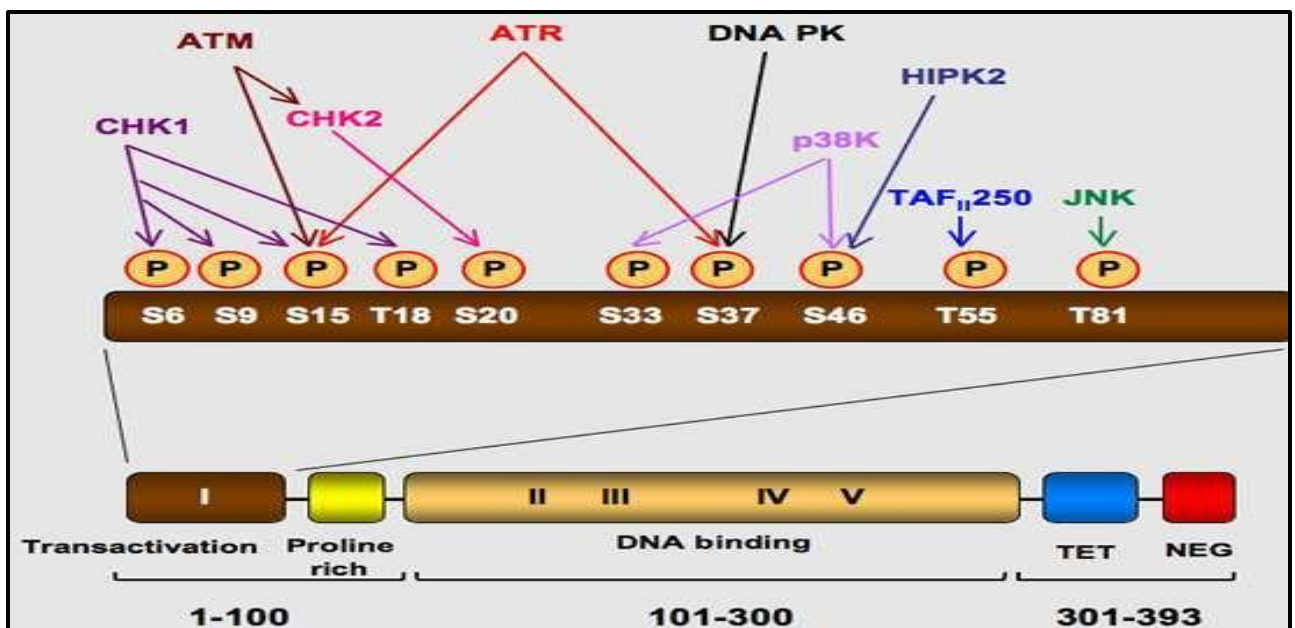
Les voies MAPK et PI3K sont toutes deux impliquées dans la prolifération cellulaire et la survie. Les modifications affectant ces voies confèrent, donc, des avantages prolifératifs aux cellules tumorales. Les mutations KRAS, BRAF et PIK3CA (PI3K) sont le type, le plus commun des CCR. Plus précisément, les mutations dans le codon 13 de l'exon 2 du gène KRAS sont associées au mauvais pronostic et faible survie, alors que, les mutations du codon 12 de l'exon 2 sont associées à des tumeurs plus avancées et des métastases (Li et al., 2015 ; Chen et al., 2014).

Les inhibiteurs de la voie PI3K se sont avérés plus efficaces pour le traitement des CCR métastatiques. En revanche, les mutations de KRAS et d'autres mutations, moins courantes, de BRAF sont associées à une résistance au traitement, de sorte qu'un échec en monothérapie conduit à un mauvais pronostic. De nouvelles combinaisons avec des inhibiteurs de la voie MAPK et PI3K sont nécessaires dans les tumeurs avec KRAS ou BRAF muté, qui sont exclusives. Néanmoins, les mutations de PIK3CA sont associées à un mauvais pronostic, lorsqu'elles sont accompagnées de mutations de KRAS. En outre, la perte de PTEN, qui régule

négativement la voie PI3K, dans les tumeurs primitives est, significativement, liée à un risque de décès accru et à une survie médiocre (Mármol et al., 2017).

### I.2.3.4. Voie p53

Le gène p53 est le gène suppresseur de tumeur, le plus communément, muté dans les cancers humains. On pense que les mutations p53 jouent un rôle essentiel dans la transition adénome/carcinome pendant le processus pathologique tumoral. La mutation p53 dans le CCR se produit dans 34% des tumeurs du côlon proximal et 45% des tumeurs colorectales distales. La majorité de ces mutations se produisent dans les exons 5 à 8 (Domaine de liaison à l'ADN) (Fig. 10), et principalement dans certains codons de points chauds. Les patients CCR, dont p53 est muté, sont plus résistants à la chimiothérapie, et ont un pronostic plus faible que ceux avec le p53 sauvage (Li et al., 2015).



**Fig. 10. Représentation des domaines de la protéine p53.** Les différents domaines fonctionnels de la protéine p53, ainsi que les sites de phosphorylation par les partenaires sont présentés (Vousden et Lu, 2002).

### **I.3. Métabolisme énergétique de la cellule cancéreuse**

#### **I.3.1. Introduction**

Une caractéristique commune à tous les cancers, a trait à leur métabolisme énergétique particulier. En effet, pour survivre en condition drastique (Absence d'oxygène), la cellule cancéreuse voit son métabolisme énergétique modifié par rapport à une cellule normale, avec une reprogrammation métabolique vers la glycolyse, d'où une accumulation de lactate dans le milieu extracellulaire associée à une acidification de ce dernier. Cette reprogrammation métabolique, appelée effet Warburg, constitue une des caractéristiques clés des cellules cancéreuses (Ward et Thompson, 2012 ; Hanahan et Weinberg, 2011). Dès 1997, le rôle d'IF1 dans la mise en place de l'effet Warburg a été suggéré. Les travaux de Capuano et ses collaborateurs ont, en effet, permis d'établir un lien entre la surexpression d'IF1 et la prépondérance d'un métabolisme glycolytique dans des mitochondries isolées à partir de biopsies de carcinome hépatocellulaire humain (Capuano et al., 1997). En 2010, Sanchez-Cenizo et collaborateurs démontraient l'implication d'IF1 dans une telle reprogrammation métabolique de différentes cellules cancéreuses. IF1 apparaît, donc, être une molécule clé au sein des mitochondries, permettant l'adaptation des cellules au stress, ainsi que la survie des cellules cancéreuses (Yadav et Chandra, 2014).

#### **I.3.2. Spécificités du métabolisme de la cellule tumorale**

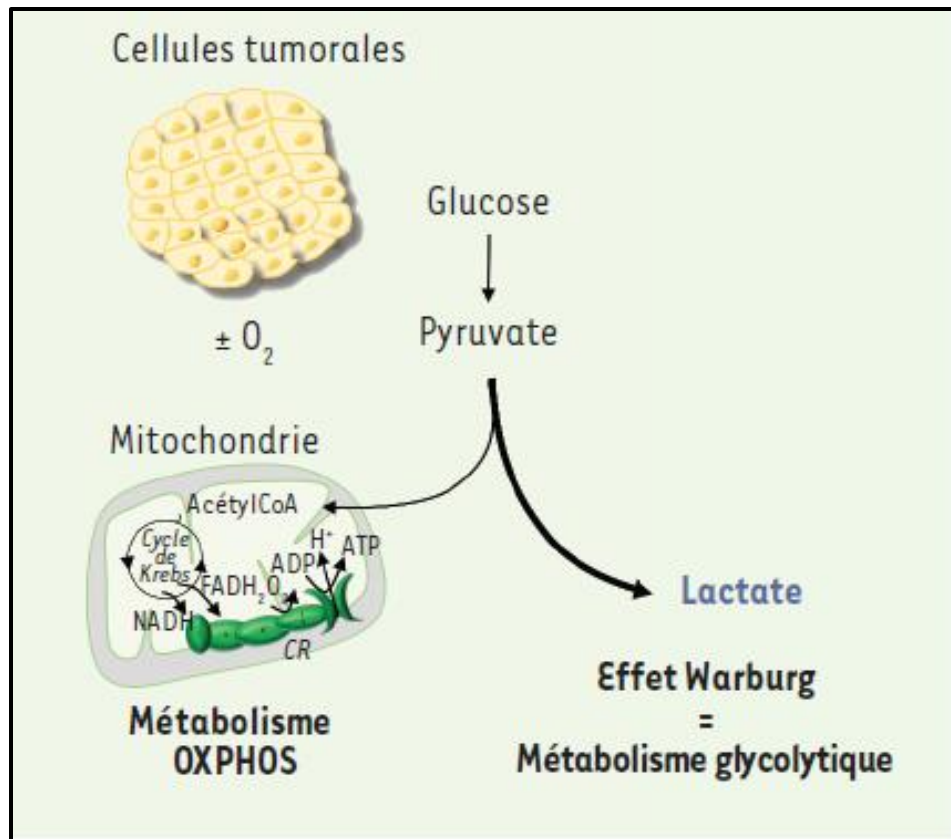
Le cancer est une maladie complexe, qui découle de la dérégulation simultanée de multiples voies de signalisation et métaboliques, entraînant une prolifération cellulaire incontrôlée (Seyfried et al., 2014 ; Vogelstein et Kinzler, 1993). Malgré la grande hétérogénéité des facteurs génétiques, épi-génétiques et les changements métaboliques, qui sont à l'origine des cancers, les cellules tumorales partagent une série de traits communs, appelés «signes distinctifs du cancer» (Hanahan et Weinberg, 2011). Parmi ceux-ci, la capacité d'évasion, l'apoptose et la résistance, à la fois intracellulaire et extracellulaire, aux signaux de la mort cellulaire. La dérégulation du métabolisme énergétique, également, appelée métabolisme de reprogrammation, est une biochimie fréquemment observée dans le phénotype de nombreuses tumeurs malignes solides, et qui a été reconnue comme l'un des signes distinctifs du cancer (Hanahan et Weinberg, 2011). Cette altération métabolique, est caractérisée par une utilisation rapide de glucose, une propriété fonctionnelle qui est, actuellement, exploitée dans le diagnostic clinique du cancer (Gambhir, 2002). Ce dernier a connu un succès thérapeutique par ciblage du métabolisme du glucose ou de la glycolyse. La prolifération accrue des cellules cancéreuses

nécessite une synthèse massive de macromolécules et d'énergie. Pour ce faire, ces cellules s'adaptent, en reprogrammant leur métabolisme (Romero-Garcia et al., 2011 ; Vander Heiden et al., 2009). Dans ce contexte, une stratégie thérapeutique prometteuse reposant sur l'utilisation d'agents et ciblant le métabolisme énergétique des cellules cancéreuses a été développée (Martinez-Outschoorn et al., 2017). La stimulation de la glycolyse dans les cellules cancéreuses repose, en partie, sur l'activation de la transcription de gènes codant des protéines impliquées dans la glycolyse et le transport de glucose (Moreno-Sanchez et al., 2007). La surexpression de plusieurs gènes codant des enzymes glycolytiques comme la GAPDH ou la pyruvate kinase a, ainsi, été identifiée dans pas moins de 20 types de cancer (Cerveau, prostate ou estomac, par exemple). L'expression du gène de lactate déshydrogénase A, qui catalyse la transformation du pyruvate en lactate, est aussi augmentée dans plus de 10 cancers d'origine variée (Utérus, foie ou prostate) (Altenberg et Greulich, 2004). Il en est de même pour les transporteurs de glucose, comme GLUT-1, qui sont surexprimés dans beaucoup de cancers (Sein et poumon) (Medina et Owen, 2002). En plus de ces surexpressions, une hausse de l'activité de plusieurs enzymes dont la lactate déshydrogénase et l'hexokinase a été rapportée dans les tissus cancéreux mammaires (Balinsky et al., 1984). L'activité des GLUT est, également, augmentée de 10 à 12 fois dans les cellules cancéreuses, par rapport aux cellules saines (Moreno-Sanchez et al., 2007).

### **I.3.2.1. Effet Warburg et son interprétation au fil des années**

Dans les années 1920, le biochimiste Otto Warburg (1883-1970) fut le premier à montrer qu'en présence d'oxygène, les cellules carcinomateuses n'oxydent pas le pyruvate issu de la glycolyse via les phosphorylations oxydatives mitochondriales (OXPHOS), mais, le convertissent majoritairement en lactate (Fig. 12) (Warburg, 1956). Ses recherches ultérieures l'ont convaincu que cette altération du métabolisme énergétique était au cœur des processus oncogéniques (Warburg, 1956), une hypothèse ignorée pendant plus d'une cinquantaine d'années par une grande partie de la communauté scientifique, tant et si bien que le métabolisme ne faisait pas partie des «Hallmarks of cancer» répertoriées par Hanahan et Weinberg (2000). La redécouverte des travaux pionniers d'Otto Warburg dans les années 1990, a ouvert un nouveau champ disciplinaire, extrêmement dynamique. Il vise à comprendre comment la reprogrammation métabolique, considérée aujourd'hui comme une propriété fondamentale des cellules malignes (et intégrée en 2011 dans la mise à jour des «Hallmarks of cancer») (Hanahan et Weinberg, 2011), constitue une étape incontournable du processus de transformation. Ceci a poussé les auteurs à la réouverture de leur manuel de biochimie et à sonder les voies

métaboliques du cancer qui constituent d'ailleurs une question très instructive d'histoire des sciences et de sociologie (Koppenol et al., 2011). L'activation de la glycolyse en condition aérobie a été baptisée «effet Warburg», et en même temps que ce processus était admis, il est devenu un paradoxe à résoudre : pourquoi les cellules malignes ayant, a priori, un besoin accru d'ATP pour proliférer, n'utilisent-elles pas la voie OXPHOS, dont le rendement énergétique est nettement supérieur (Fig. 11).



**Fig. 11. Effet Warburg.** En présence d'oxygène, les cellules tumorales convertissent le pyruvate issu de la glycolyse en lactate. Cette reprogrammation métabolique est une étape du processus de transformation tumorale dans de nombreux cancers (Vander Heiden et al., 2009). NAD : nicotinamide adénine dinucléotide ; FAD : flavine adénine dinucléotide.

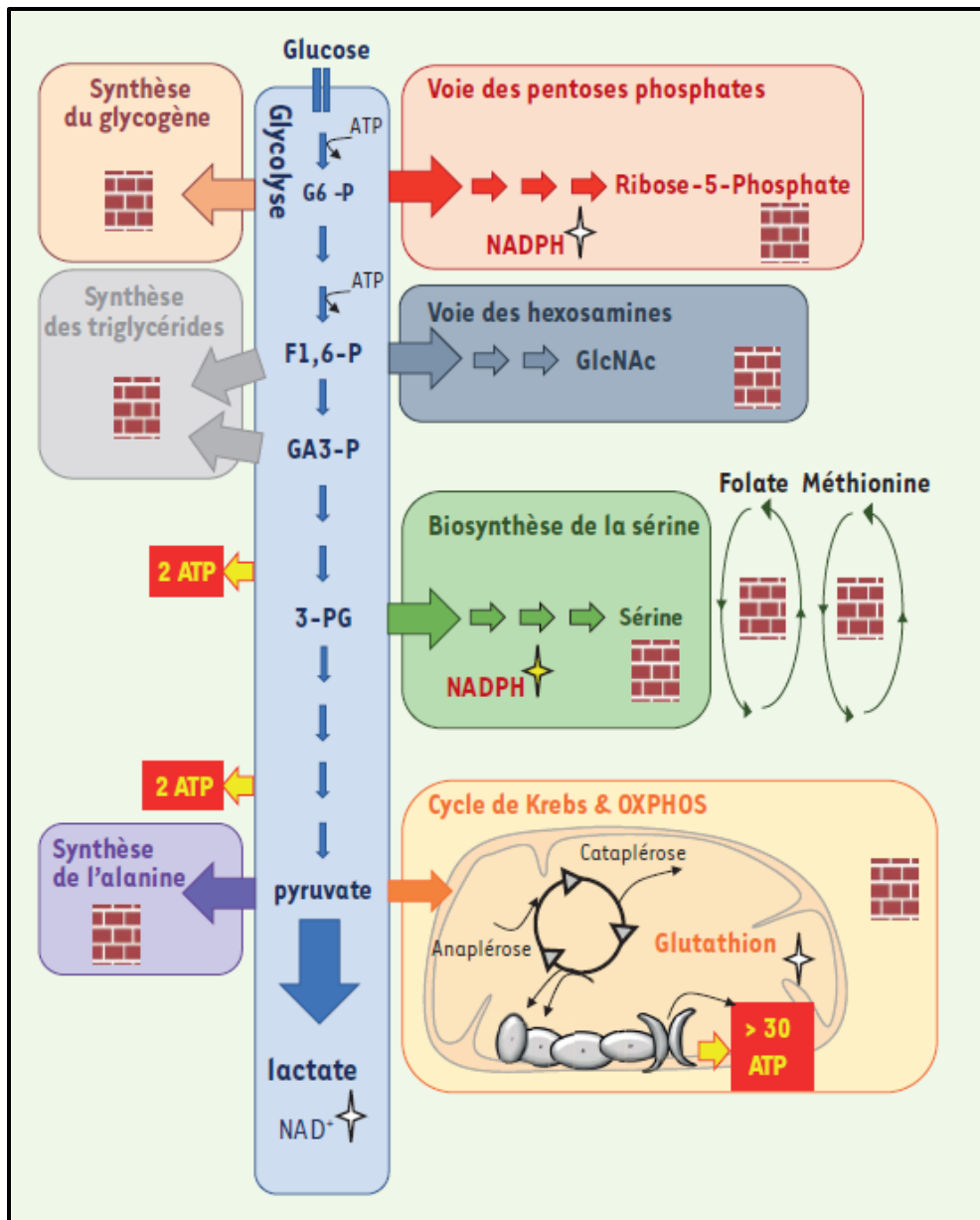
On sait qu'aujourd'hui, l'explication ne réside pas dans une altération de la fonction mitochondriale, comme le pensait Warburg. Les mitochondries respirent, en effet, dans la plupart des types de cellules cancéreuses, et elles fournissent les intermédiaires carbonés du cycle de Krebs nécessaires aux biosynthèses (Cataplérose) (Gentric et al., 2017 ; Razungles et al., 2013). Dès 1948, Albert Lehninger et Eugene Kennedy ont identifié que la mitochondrie était le siège de l'OXPHOS au sein des cellules eucaryotes (Lehninger et Kennedy, 1948). Elles utilisent l'oxygène dissous, entraînant la formation de dioxyde de carbone : c'est le phénomène de respiration cellulaire. Cette respiration est couplée à la synthèse d'ATP par l'intermédiaire

de l'ATPase. Hormis la respiration cellulaire, la production d'ATP et le renouvellement du potentiel réducteur, la mitochondrie exerce des fonctions majeures souvent en relation avec d'autres compartiments. En effet, les grandes voies métaboliques ne concernent pas toujours un compartiment subcellulaire unique, mais, permettent l'établissement de relations structurales et fonctionnelles étroites entre des compartiments distincts (Hönscher et Ungermann, 2014 ; Annunziata et d'Azzo, 2013 ; Hamasaki et al., 2013 ; Lamb et al., 2013).

### **I.3.2.2. Avantages de l'effet Warburg dans la cellule cancéreuse**

Avec seulement 2 molécules d'ATP synthétisées pour une molécule de glucose, la glycolyse est beaucoup moins rentable sur le plan énergétique que l'OXPPOS qui permet d'obtenir 38 molécules d'ATP (Moussard, 2006). Quels sont alors les avantages d'une activité glycolytique accrue pour les cellules cancéreuses ? Plusieurs hypothèses ont été émises pour répondre à cette question. Warburg a tout d'abord suggéré que la glycolyse aérobie (AEROGOLY) était due à un dysfonctionnement des mitochondries dans les cellules cancéreuses (Warburg, 1956). Cette hypothèse a été contestée par la suite, car la plupart des cellules cancéreuses sont capables d'effectuer la respiration mitochondriale. De plus, elles consomment généralement de l'oxygène à des taux similaires à ceux des tissus non transformés (Frezza et Gottlieb, 2009 ; Weinhouse, 1956).

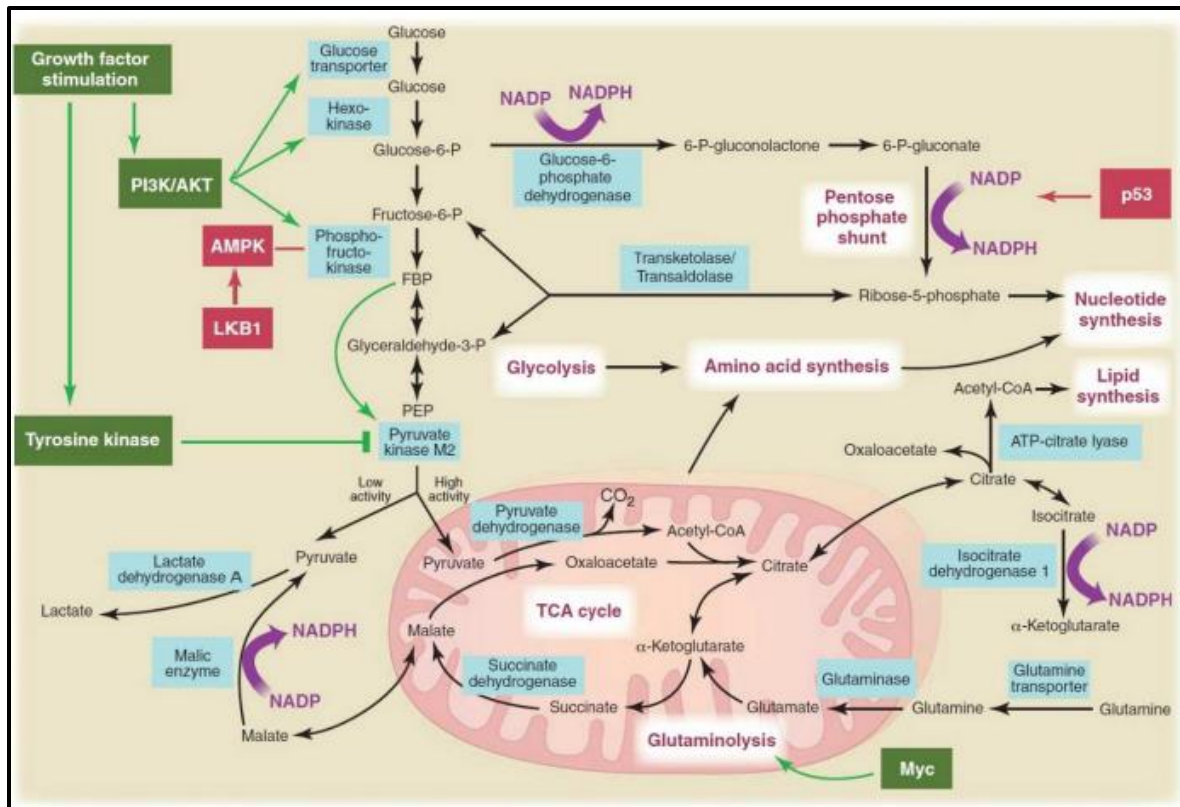
Une explication alternative est basée sur le concept que la glycolyse est plus rapide que l'OXPPOS pour synthétiser de l'ATP (Pfeiffer et al., 2001). L'utilisation de la glycolyse peut également être un mécanisme d'adaptation des cellules cancéreuses aux conditions hypoxiques rencontrées, lors du développement précoce des tumeurs (Gatenby et Gillies, 2004). En outre, de par sa capacité à être une source de précurseurs pour les processus de biosynthèse, la glycolyse offre un avantage biosynthétique aux cellules cancéreuses. En effet, puisque les intermédiaires de cette voie métabolique peuvent être utilisés comme substrats dans les voies de synthèse des constituants cellulaires (acides aminés, lipides et nucléotides), la forte activité glycolytique permet donc d'alimenter en substrats les voies anaboliques, et de produire ainsi de nombreuses macromolécules dont les cellules cancéreuses ont besoin pour proliférer (Fig. 12) (Vander Heiden et al., 2009).



**Fig. 12. Module glycolytique et sa connexion aux voies de biosynthèse.** Les réactions glycolytiques (du glucose au pyruvate), le cycle de Krebs et la respiration mitochondriale (OXPHOS) constituent les voies métaboliques essentielles pour la production de l'énergie cellulaire. La glycolyse est un module enzymatique connecté à plusieurs voies de biosynthèse (Schématisées par des briques). G6-P : glucose 6-phosphate ; F1,6-P : fructose 1,6-biphosphate ; GA3-P : glycéraldéhyde 3-phosphate ; Glc-NAc : N-acétylglucosamine (Cordier-Bussat et al., 2018).

De plus, l'orientation des intermédiaires de la glycolyse dans les voies anaboliques ne sert pas, seulement, à la synthèse des constituants cellulaires, mais, elle contribue également au maintien de l'homéostasie redox dans les cellules cancéreuses, grâce à la production de coenzyme NADPH qui, outre sa participation à la synthèse des acides gras, est nécessaire au fonctionnement du système antioxydant (Cairns et al. 2011 ; Vander Heiden et al. 2009). Ainsi, le glucose-6-phosphate, synthétisé lors de la première étape de la glycolyse, alimente la voie

des pentoses phosphate afin de produire du ribose-5-phosphate et du NADPH (Fig. 13). Par ailleurs, dans les cellules cancéreuses, l'isoforme du pyruvate kinase PKM2 (Pyruvate kinase isoenzyme type M2), qui catalyse la transformation du phosphoénolpyruvate en pyruvate, contribue à la régulation du flux de métabolites à travers la glycolyse. En effet, selon le niveau d'activité de cette isoenzyme, les intermédiaires de la glycolyse sont utilisés, soit pour la synthèse de macromolécules, soit pour la production d'énergie. Une faible activité de PKM2 entraîne, en fait, un ralentissement de la synthèse de pyruvate et provoque l'accumulation des intermédiaires de la glycolyse, favorisant ainsi leur redirection dans les voies de biosynthèse. Une forte activité de PKM2 contribue par contre à la synthèse de pyruvate et d'ATP, menant alors à la production d'énergie (Israelsen et Vander Heiden, 2015 ; Mazurek, 2011).



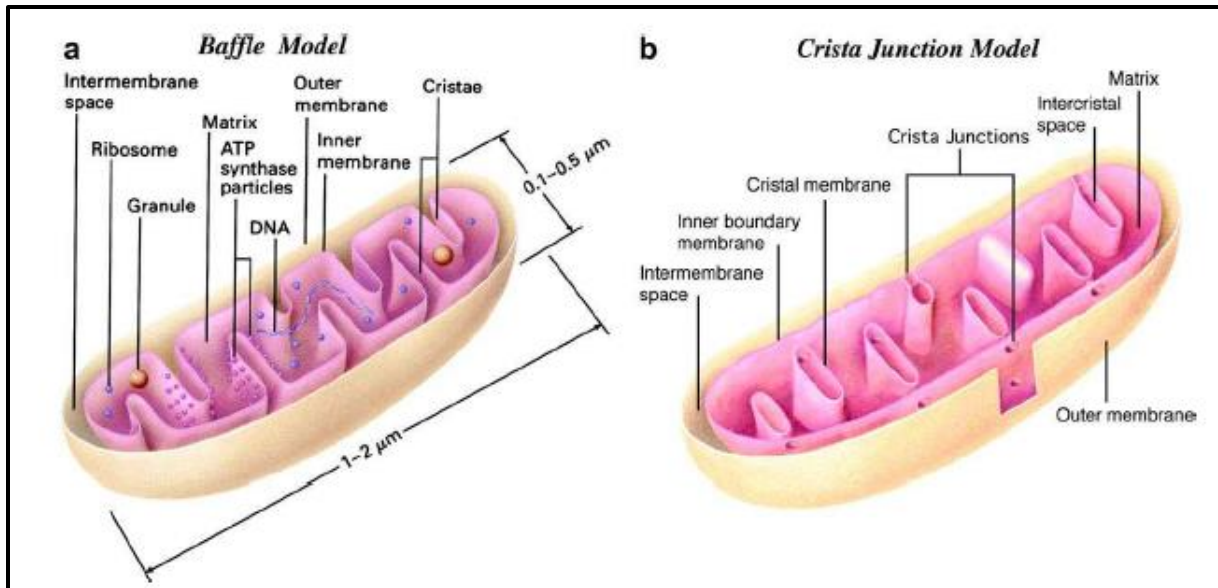
**Fig. 13. Glycolyse, métabolisme mitochondrial, biosynthèse et maintien de l'homéostasie redox dans les cellules cancéreuses.** Plusieurs oncogènes (verts) et gènes suppresseurs de tumeur (rouge), ainsi que des régulateurs habituels du métabolisme cellulaire sont indiqués. Acetyl-CoA, acétylcoenzyme A ; AMPK, AMP-dépendant protein kinase ; FBP, fructose 1,6-bisphosphate ; LKB1, liver kinase B1 ; NADP (Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate) ; PEP, phosphoénolpyruvate ; PI3K/Akt, phosphatidylinositol 3 kinase/protein kinase B (Vander Heiden et al., 2009).

### I.3.3. Mitochondries et cancer

#### I.3.3.1. Structure des mitochondries

Les mitochondries sont des organelles de la cellule eucaryote à double membrane hautement dynamiques, qui montre une grande variabilité dans le nombre, la structure et la fonction, dépendant du type cellulaire et du stade de développement considéré (Mootha et al., 2003 ; Izquierdo et al., 1995). Les mitochondries interagissent avec les éléments du cytosquelette, pour leur localisation subcellulaire et leur motilité (Anesti et Scorrano, 2006 ; Hollenbeck et Saxton, 2005), et avec le réticulum endoplasmique (Hayashi et al., 2009). Chez l'homme, seulement 13 protéines sont encodées par le génome mitochondrial. En outre, des analyses protéomiques ont permis d'évaluer son contenu à plus de 1000 protéines. La taille et la forme des mitochondries dépendent et varient en fonction de l'état métabolique et du type cellulaire. En moyenne, elles mesurent 0,5-1  $\mu\text{m}$  de diamètre sur 1-10  $\mu\text{m}$  de long. Elles possèdent une double membrane : une membrane externe lisse et une membrane interne qui présente de nombreuses invaginations (Crêtes mitochondriales) et abritent les complexes de la chaîne respiratoire (Cogliati et al., 2016). Ces deux membranes ont des propriétés et une composition très différentes. Elles délimitent deux compartiments distincts : l'espace intermembranaire de 6-8 nm d'épaisseur et localisé entre les deux membranes, et la matrice mitochondriale, délimitée par la membrane interne dans laquelle on trouve notamment les molécules d'ADNmt (Fig. 14).

On estime que chaque cellule contient entre 1000 à 3000 mitochondries. Cependant, La forme, le nombre et la distribution cellulaire des mitochondries au sein des cellules sont susceptibles de varier, en fonction du type cellulaire, du stade de développement, mais aussi, en fonction de l'activité de l'organe. Ainsi, ces paramètres vont être fortement dépendants du contexte physiologique dans lequel la mitochondrie évolue : processus de fusion/fission, motilité, adhérence et stress. L'environnement cellulaire va, ainsi, conditionner l'intégration structurale et fonctionnelle du réseau mitochondrial au sein des cellules (Lackner, 2013 ; Jakobs, 2006). Les mitochondries sont essentielles pour la fourniture de l'énergie métabolique par l'OXPHOS dans des cellules aérobies différenciées (Walker, 1994), pour l'exécution de la mort cellulaire (Sanchez-Arago et al., 2013 ; Wang, 2001) et pour l'oxydoréduction intracellulaire et la signalisation du calcium (Llorente-Folch et al., 2015 ; Sanchez-Arago et al., 2013).

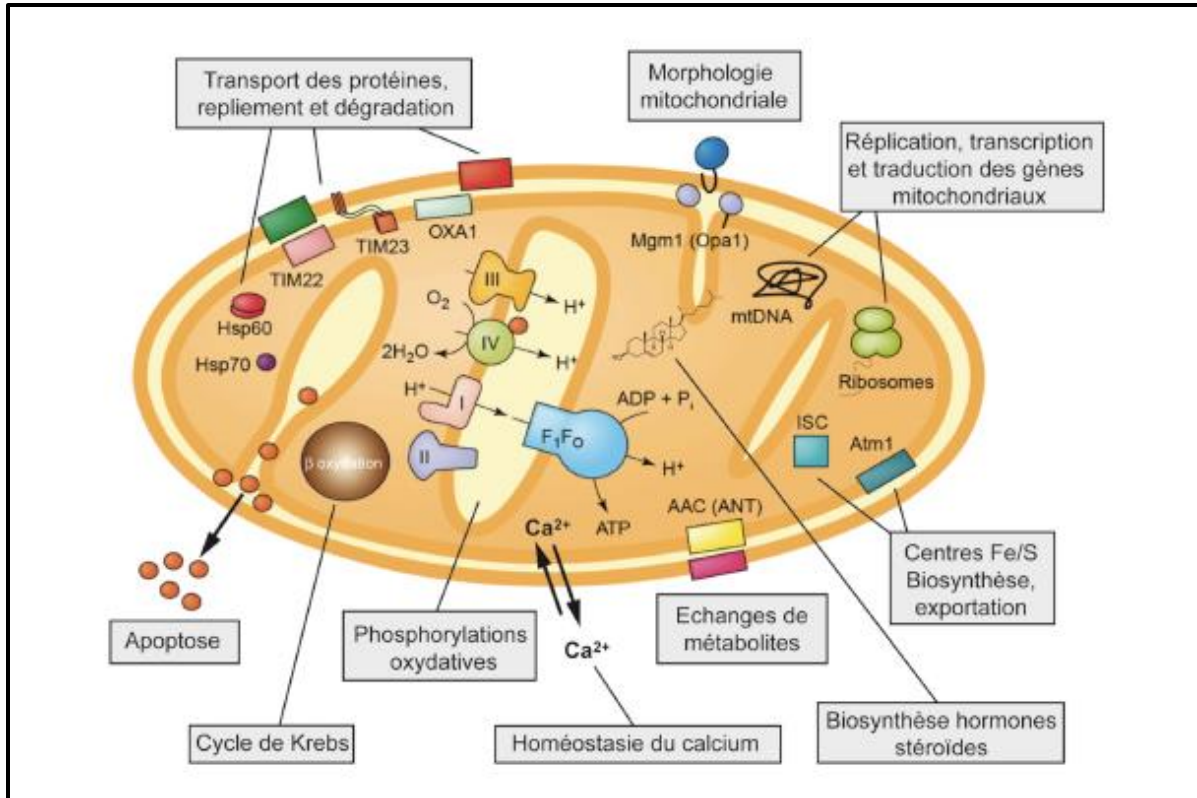


**Fig. 14. Représentation schématique de l'ultrastructure d'une mitochondrie.** (a) : Représentation d'une coupe transversale d'une mitochondrie (baffle model) représentant la membrane externe (ME), la membrane interne (MI) qui forme les crêtes mitochondriales. Entre les 2 membranes, l'espace intermembranaire (IMS). A l'intérieur de la MI se trouve la matrice contenant le génome mitochondrial (ADNmt) en plusieurs copies, des granules et les ribosomes (Mitoribosomes). (b) : Représentation schématique détaillée de la jonction des crêtes mitochondriales (Logan, 2006).

### I.3.3.2. Fonctions mitochondriales

La mitochondrie assure de nombreuses fonctions indispensables à la vie de la cellule. Une des principales fonctions de la mitochondrie est la synthèse d'ATP, via l'OXPPOS et la réoxydation du NADH, nécessaire au maintien du pouvoir oxydant de la cellule. La mitochondrie possède d'autres fonctions, comme la biogenèse des centres fer-soufre, qui sont ensuite utilisés dans toute la cellule. Les centres fer-soufre interviennent, entre autres, au sein des complexes mitochondriaux de la chaîne respiratoire dans les réactions d'oxydoréduction, liées au transport d'électrons. La mitochondrie intervient dans de nombreuses réactions métaboliques, incluant, la  $\beta$ -oxydation des acides gras, le cycle de Krebs, la biosynthèse de l'hème et le métabolisme de certains acides aminés et de lipides. De plus, la mitochondrie a un rôle clé dans l'apoptose. Durant l'apoptose, la perméabilisation de la membrane externe de la mitochondrie libère le cytochrome C et des facteurs pro-apoptotiques, qui engagent le programme de mort cellulaire (Jiang et Wang, 2004). Les mitochondries des mammifères sont aussi impliquées dans la biosynthèse des hormones stéroïdiennes et dans l'homéostasie du  $\text{Ca}^{2+}$ , où la mitochondrie participe (avec le réticulum endoplasmique) au stockage du calcium. La mitochondrie est, également, la cible du processus de mitophagie (Bhatia-Kissova et Camougrand, 2010). L'ensemble de ces réactions métaboliques est rendu possible grâce à de

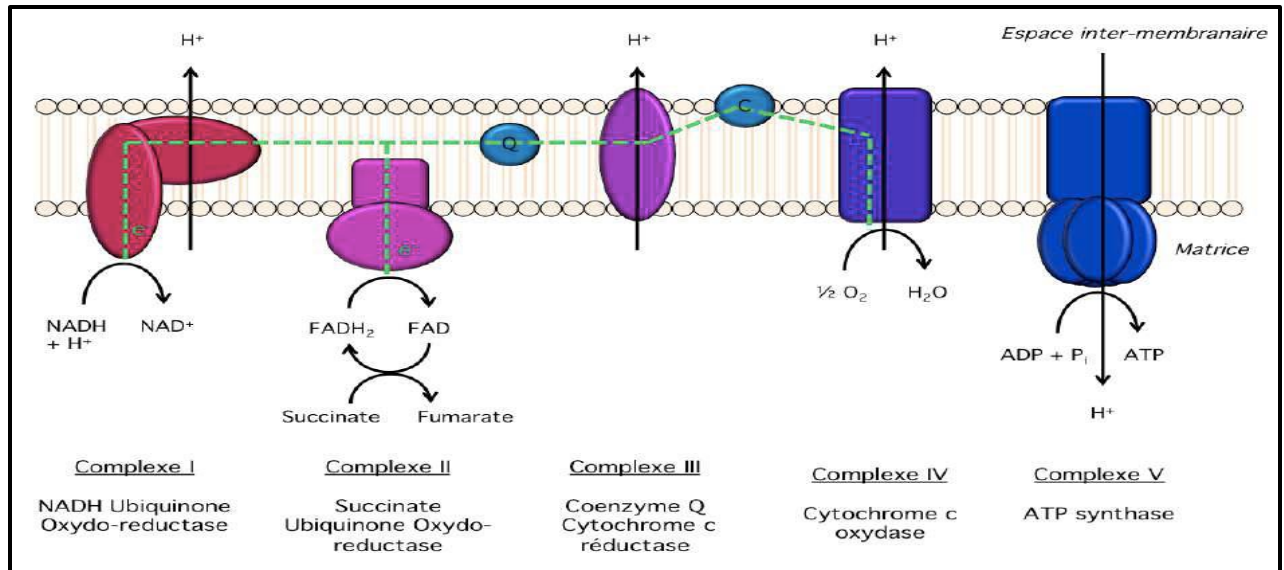
nombreux transporteurs dans les membranes de l'organite, assurant les échanges entre le cytosol et la mitochondrie (Fig. 15).



**Fig. 15. Principales fonctions mitochondriales.** Les différentes fonctions mitochondriales sont présentées. Les processus mitochondriaux comme le métabolisme des acides aminés, le métabolisme des lipides, et la synthèse de l'hème ne sont pas indiqués (Reichert et Neupert, 2004).

### I.3.3.3. Métabolisme mitochondrial de la cellule cancéreuse

La chaîne de transfert d'électrons, aussi, appelée chaîne respiratoire ou système OXPHOS, fournit l'énergie pour générer la PMF (Proton Motive Force), et donc la formation au sein de la matrice, d'ATP à partir d'ADP et d'un phosphate. L'ADP et le phosphate sont conduits à l'intérieur de la matrice, et l'ATP en dehors de l'espace inter-membranaire (Cytoplasme), par une partie de l'énergie de la PMF (Rich et Maréchal, 2010). L'OXPHOS est un processus qui couple la phosphorylation de l'ADP par l'ATPase et l'oxydation de substrats (NADH, FADH<sub>2</sub> et succinate), réalisée au niveau de la chaîne respiratoire. Le système OXPHOS est constitué de 5 complexes intégrés dans la membrane interne mitochondriale (Fig. 16).



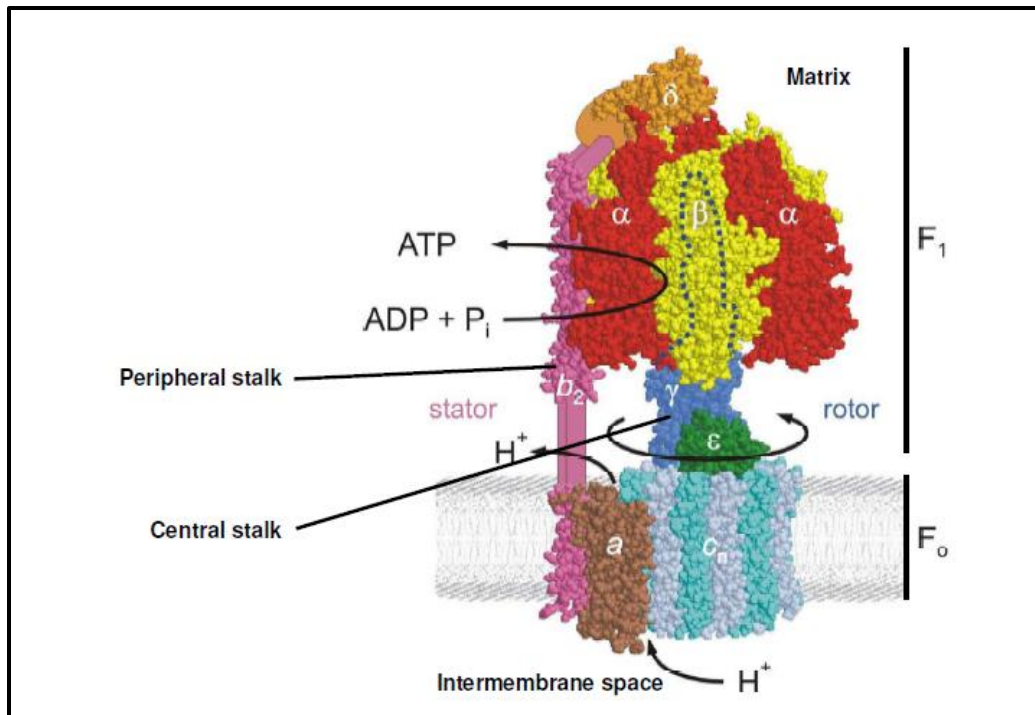
**Fig. 16. Structure de la chaîne respiratoire.** Les cinq complexes multi-protéiques situés dans la membrane interne sont représentés : le complexe I=NADH déshydrogénase (ou NADH coenzyme Q réductase), le complexe II=succinate déshydrogénase (ou succinate-co-enzyme Q réductase), le complexe III=Complexe b-c1 (ou cytochrome C réductase, le complexe IV=Cytochrome oxydase et le complexe V=ATP synthétase (Yu-Wai-Man et al., 2011).

Dans les années 1950, Warburg a suggéré que les mitochondries n'étaient pas fonctionnelles dans les cellules cancéreuses, justifiant, ainsi, une forte activité glycolytique des cellules (Warburg, 1956). Cependant, les cellules cancéreuses consomment, généralement, de l'oxygène à des taux similaires à ceux des tissus non transformés (Weinhouse, 1956). De même, les enzymes du cycle de Krebs, comme les isocitrate et malate déshydrogénases, sont présentes en quantités équivalentes et possèdent une activité comparable entre des tissus cancéreux et normaux (Wenner et al., 1952). La plupart des cellules cancéreuses se caractérisent, donc, par des mitochondries fonctionnelles. De plus, il semble que la majorité de l'ATP synthétisé dans les cellules tumorales provient de l'OXPPOS. En effet, Zu et Guppy ont compilé des données issues de 31 études qui ont analysé la production d'ATP mitochondriale (En mesurant la consommation d'oxygène) et glycolytique (En mesurant la production de lactate), et ainsi, constaté que dans les cellules tumorales, seulement, 17% de la production d'ATP est due à la glycolyse (Zu et Guppy, 2004). Fan et al. (2013) ont, également, obtenu le même résultat dans les cellules murines immortalisées de rein iBMK. La mitochondrie semble, donc, jouer un rôle essentiel dans la production d'énergie des cellules cancéreuses. Cet organe est, également, impliqué dans les processus de biosynthèse dans les cellules tumorales. En effet, le cycle de Krebs fournit de nombreux précurseurs pour la synthèse de macromolécules, comme les lipides ou les acides aminés (DeBerardinis et al., 2008).

### I.3.4. ATPase mitochondriale

#### I.3.4.1. Structure et assemblage

L'ATPase mitochondriale est un complexe protéique, construit par deux domaines principaux (Walker, 2013). Comme le montre la Figure 17, le domaine F<sub>1</sub>-ATPase est extrinsèque à la membrane mitochondriale intérieure et composé des sous-unités 3 $\alpha$ , 3 $\beta$  et 1 $\gamma$ . Le domaine F<sub>0</sub>-ATPase est intégré dans la membrane et composé par un anneau de 8-10 sous-unités c et une sous-unité 1a. Les deux domaines sont liés, ensemble, par un bras périphérique, composé par différentes sous-unités (1b/1F6/1d/1A6L/1OSCP), et le bras central qui, en plus de la sous-unité  $\gamma$  du domaine F<sub>1</sub>-ATPase, contient une sous-unité  $\delta$  et  $\epsilon$ .



**Fig. 17. Structure schématique de l'ATPase d'Escherichia coli.** Cette structure est particulièrement complexe, et peut être subdivisée en trois sous-complexes, fonctionnellement, distincts : domaine F<sub>1</sub> ; domaine F<sub>0</sub>, intrinsèque à la membrane interne ; et enfin deux antennes connectrices, centrale et périphérique, qui permettent de connecter les deux principaux domaines fonctionnels. Le domaine F<sub>1</sub> est situé du côté matriciel. Cette partie comprend les sous-unités catalytiques de l'enzyme, ainsi que le pied central de l'enzyme qui constitue une partie du rotor. Le domaine F<sub>1</sub> est composé des sous-unités  $\alpha$ 3,  $\beta$ 3,  $\gamma$ 1,  $\delta$ 1,  $\epsilon$ 1. Le domaine F<sub>0</sub> permet d'ancrer, solidement, le complexe dans la membrane interne mitochondriale (Weber et al., 2010).

Il y a plusieurs sous-unités supplémentaires, qui entrent en contact avec le domaine F<sub>0</sub> et couvrent son domaine par sa queue périphérique et centrale (1A6L/1e/1f/1g). Les sous-unités 3 $\alpha$  et 3 $\beta$  du domaine F<sub>1</sub> forment une structure sphérique alternative, enveloppant la

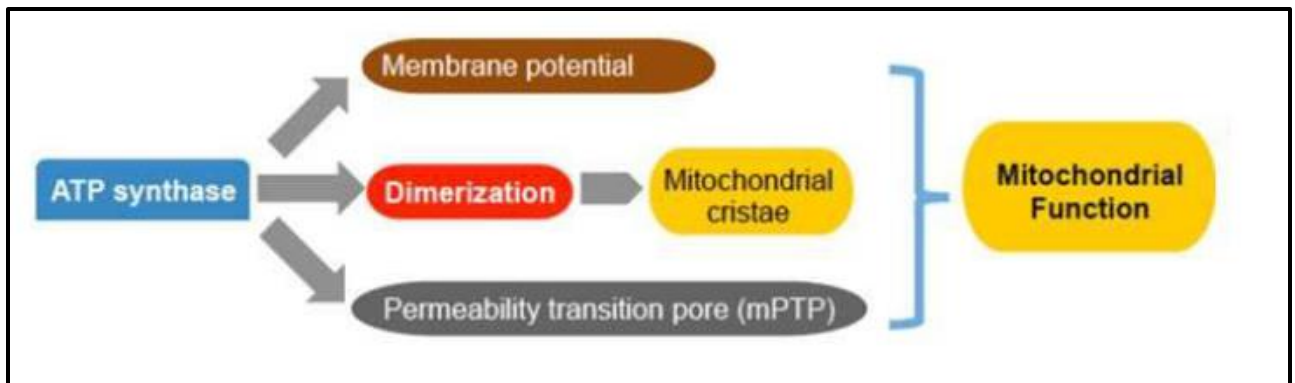
conformation étendue de l'hélice- $\alpha$  de la sous-unité  $\gamma$ , qui constitue la queue centrale de la structure. Le reste de la sous-unité  $\gamma$  est étroitement lié au domaine Fo-ATPase à travers les sous-unités  $\delta$  et  $\epsilon$ . Le domaine Fo-ATPase est une structure cylindrique et hydrophobe, constituée d'un anneau de sous-unités c qui, avec les sous-unités  $\gamma$ ,  $\delta$  et  $\epsilon$ , forment le rotor du moteur (Walker, 2013). Les parties mobiles du complexe protéique, comprenant la partie F1 et l'antenne centrale, constitue le rotor de l'enzyme, tandis que les parties immobiles, comprenant la partie F0 et l'antenne périphérique, se regroupent sous la dénomination de stator.

L'activité catalytique de l'ATP est basée sur l'assemblage asymétrique du domaine F1-ATPase, en raison de la disposition de la sous-unité  $\gamma$ , qui force chacune des trois sous-unités catalytiques  $\beta$  à adopter une conformation différente avec une liaison nucléotidique variable et des propriétés catalytiques (Walker, 2013). Une clé de la catalyse, est les changements conformationnels subis par les sous-unités  $\beta$  dus à la rotation de la sous-unité  $\gamma$ . Par une rotation de  $360^\circ$  de la sous-unité  $\gamma$ , l'ATPase synthétise trois molécules d'ATP. Puisque l'ATPase est un moteur rotatoire réversible (Saita et al., 2015), elle peut hydrolyser trois molécules d'ATP, en fonctionnement inversé. La synthèse de l'ATP nécessite un gradient électrochimique des protons comme force motrice, pour faire marcher la rotation du cylindre dans le domaine Fo, tandis que, en fonctionnement inversé, l'hydrolyse de l'ATP pompe  $H^+$  vers l'espace inter-membranaire (Ruhle et Leister, 2015 ; Walker, 2013 ; Wittig et al., 2010).

#### **I.3.4.2. Principales fonctions**

Parallèlement à la synthèse d'ATP, précédemment, abordée, l'ATPase exerce, également, d'autres fonctions essentielles dans le maintien de l'homéostasie mitochondriale (Fig.18). En premier lieu, cette enzyme joue un rôle essentiel dans le maintien du potentiel de membrane mitochondriale  $\Delta\Psi_m$ . Cette fonction repose sur la réversibilité de l'activité de ce complexe protéique rotatif. Ainsi, le sens de rotation du complexe permet, soit la synthèse, soit l'hydrolyse de l'ATP, afin de maintenir le gradient de protons (Appleby et al., 1999). Cette fonction, apparaît essentielle, puisqu'au-delà du maintien de l'intégrité mitochondriale, le  $\Delta\Psi_m$  régule la machinerie d'importation protéique mitochondriale (Baker et al., 2007). L'ATPase intervient, également, dans la régulation de la dynamique et de l'organisation du réseau mitochondrial, en modulant, notamment, la morphologie des crêtes. Cette fonction permettrait, notamment, d'adapter l'organite en fonction des conditions physiologiques et de la demande énergétique, en modulant l'organisation supramoléculaire de la chaîne respiratoire (Jimenez et

al., 2014 ; Davies et al., 2011 ; Giraud et al., 2002 ; Paumard et al., 2002). Enfin, la dimérisation de ce complexe serait, également, impliquée dans la formation et l'ouverture du port de transition de perméabilité (PTP), jouant notamment un rôle prépondérant dans le contrôle de la libération du cytochrome c au cours de l'apoptose (Bernardi et al., 2015 ; Long et al., 2015 ; Xiong et al., 2014).



**Fig. 18. Principales contributions de l'ATPase aux fonctions mitochondriales.** L'ATPase constitue le moteur de l'OXPPOS, elle assure les transferts successifs d'électrons dans la membrane interne mitochondriale, permettant ainsi, de céder une quantité d'énergie considérable par l'accumulation de protons à la phosphorylation d'une molécule d'ADP et se traduit par l'addition d'un gradient chimique transmembranaire ( $\Delta\text{pH}$ ) et d'un gradient électrique transmembranaire ( $\Delta$ ), appelé force protomotrice (pmf). Elle joue un rôle essentiel dans le maintien du potentiel de la membrane mitochondriale (Long et al., 2015).

### I.3.4.3. Régulation et expression

La régulation de l'ATPase s'exerce à la fois au niveau de l'expression et de l'activité. La régulation de l'expression protéique de l'ATPase des mammifères s'effectue aux niveau transcriptionnel (Dorn et al., 2015 ; Scarpulla, 2008) et post-transcriptionnel (Willers et al., 2012 ; Luis et al., 1993). Elle implique la manifestation concertée de deux systèmes génétiques, physiquement, séparés et différents (Scarpulla, 2008 ; Montoya et al., 1983 ; Montoya et al., 1982). Sa stabilité dans la membrane fait intervenir les protéines impliquées dans l'assemblage du complexe, mais, des modalités plus fines permettent de réguler son activité en «Temps réel», de façon dynamique. Ces modalités impliquent, notamment, le gradient de  $\text{Ca}_2^+$ , des modifications post-traductionnelles, ainsi qu'une interaction directe avec différents partenaires protéiques (Long et al., 2015). Les aminoacyl-ARNt synthétases libres se déplacent, respectivement, vers le noyau et les mitochondries, pour synchroniser la transcription nucléaire et la traduction mitochondriale des gènes de l'ATPase, permettant ainsi, le contrôle inter-génomique, nécessaire à la biogenèse de l'enzyme (Frechin et al., 2014). La régulation de l'activité de l'ATPase peut se faire en fonction des changements cellulaires, des demandes

énergétiques, principalement, exercés par l'activation/inhibition de la chaîne respiratoire, la disponibilité de différents métabolites, les modifications covalentes de l'enzyme et l'interaction de la protéine avec différentes protéines régulatrices (Chin et al., 2014 ; Das, 2003 ; Das et Harris, 1990).

L'ATPase est, également, impliquée dans la régulation de la mort cellulaire (Sanchez-Arago et al., 2013 ; Santamaria et al., 2005 ; Matsuyama et al., 1998), comme l'a été récemment démontré dans les neurones *in vivo* (Formentini et al., 2014). Spécifiquement, sa fonction de pompage des protons est nécessaire à la mort cellulaire déclenchée par Bax (Harris et Thompson, 2000 ; Matsuyama et al., 1998) et d'autres agents inducteurs de l'apoptose (Santamaria et al., 2005). La nature exacte des molécules de l'ATPase, impliquées dans le PTP est, actuellement, contestée. Ainsi, le rôle des dimères de l'ATPase (Von Stockum et al., 2015 ; Giorgio et al., 2013) et de l'anneau des sous-unités c, qui constituent le domaine FO (Alavian et al., 2014) est revendiqué dans cette considération. L'inhibition de l'ATPase est impliquée dans l'extension de la durée de vie (Chin et al., 2014 ; Sun et al., 2014), illustrant la pertinence du moteur d'OXPPOS dans le vieillissement et les maladies liées à l'âge.

De nombreux facteurs, qui étaient initialement caractérisés comme des régulateurs de la mort cellulaire, sont maintenant connus pour interagir physiquement, ou fonctionnellement, avec des enzymes du métabolisme mitochondrial. Ceci suggère l'existence de points de contrôle métabolique, qui détermineraient le devenir des cellules. Ainsi, l'altération des fonctions clés de la mitochondrie, pourrait déterminer si les cellules réagissent au stress de manière adaptative, en prônant la survie, ou au contraire de manière suicidaire, en favorisant l'exécution de la mort cellulaire (Green et al., 2014).

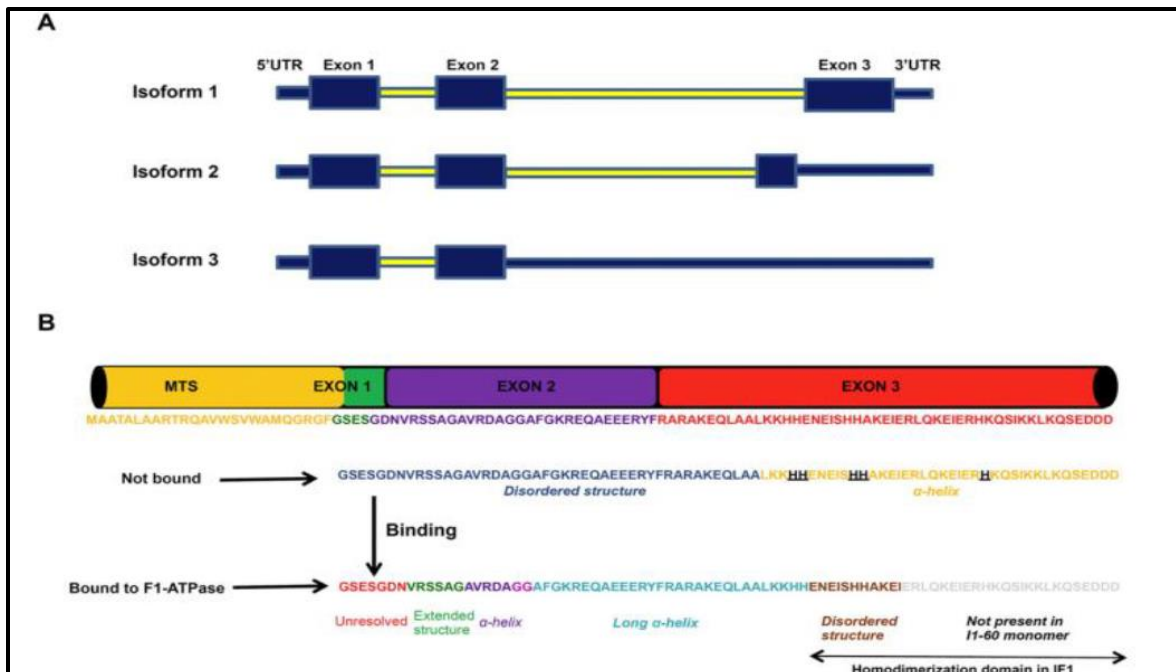
### **I.3.5. IF1, inhibiteur de l'ATPase**

#### **I.3.5.1. Structure et fonctions**

IF1 est codé par le gène ATP1F1 situé dans les chromosomes 1 et 4 du génome humain. L'épissage alternatif du transcrit primaire d'IF1 humain, peut générer trois ARNm différents, qui diffèrent dans la longueur et la séquence et peut, ainsi, générer trois différentes isoformes de la protéine (Fig. 19A). L'isoforme 1, correspond à la protéine IF1, la plus longue (12.24 kDa, pI 9.34), construite par trois exons contenant une petite 3'UTR. L'isoforme 2 (7.91 kDa, pI 7.96) contient, également, trois exons, mais, le dernier est différent, aboutissant à une protéine plus courte avec une séquence C-terminale différente. Enfin, l'isoforme 3 (6.59 kDa, pI 8.34)

correspond à IF1, le plus court, qui ne contient que les deux premiers exons avec l'addition d'une très longue 3'UTR (Sanchez-Cernizo et al., 2010).

IF1 a été décrit pour la première fois dans les muscles cardiaques du cœur du bovin (Pullman et Monroy, 1963). Plus tard, sa présence a été confirmée chez d'autres mammifères (Grover et Malm, 2008 ; Cintron et Pedersen, 1979), chez *Caenorhabditis elegans* (Ichikawa et al., 1999) et dans les mitochondries végétales (Norling et al., 1990). IF1 bovin en solution a une structure régie par une conformation N-terminale intrinsèquement désordonnée, sauf, pour une seule hélice- $\alpha$  dans sa région C-terminale (Gordon-Smith et al., 2001), qui correspond au domaine de dimérisation (Fig. 19B). Les interactions initiales de la protéine inhibitrice avec l'interface des sous-unités  $\alpha\beta$  vides, ce qui correspond à la conformation, la plus ouverte de l'ATPase, sont nécessaires pour la liaison spécifique et l'inhibition de la rotation de l'enzyme. Après hydrolyse de deux molécules d'ATP, deux rotations de 120 de la sous-unité  $\gamma$  et les sous-unités  $\alpha\beta$  adoptent une conformation fermée (Bason et al., 2014). Le réarrangement d'IF1 dans la structure de l'ATPase favorise son passage par des changements conformationnels profonds (Fig. 19B). Plus précisément, l'extrémité N-terminale de la protéine adopte une structure  $\alpha$ -hélicoïdale, tandis que l'extrémité C-terminale correspondant à une partie du domaine de dimérisation (Bason et al., 2014).



**Fig. 19. Isoformes et changements conformationnels d'IF1.** A : Schéma représentant les isoformes d'ARNm générées par le gène ATPIF1. Les régions non traduites 5' et 3' (UTR, rectangle fin bleu), les exons (Grand rectangle bleu) et les introns (Rectangle mince jaune) sont inclus pour chaque isoforme. B : Schéma d'IF1 bovine montrant quels acides aminés construisent la séquence de criblage mitochondriale et les trois exons d'IF1 (Gordon-Smith et al., 2001).

### I.3.5.2. Régulation de l'expression d'IF1

L'activité de l'ATPase est réversible. Ainsi, sous certaines conditions, l'activité de synthèse d'ATP va pouvoir être transitoirement substituée par une activité d'hydrolyse de l'ATP. Lorsque les conditions sont défavorables, manque ou absence d'oxygène, et que la force motrice est limitée, le changement d'activité de l'ATPase va, ainsi, permettre de sauvegarder le potentiel de la membrane mitochondriale  $\Delta\Psi_m$ , en extrudant les protons à l'extérieur de la matrice mitochondriale, et ce, afin de maintenir l'intégrité de l'organite. Cependant, même si ce mécanisme est protecteur vis-à-vis des mitochondries, il va s'opérer au détriment des réserves d'ATP. Dès lors, même si ce mécanisme s'avère très efficace du point de vue de la préservation du pool mitochondrial, il n'est pas viable sur le long terme ; en effet, il conduira inexorablement à la mort des cellules s'il est maintenu sur des périodes trop longues. Dans ces conditions, IF1 permet de lutter, efficacement, contre ce gaspillage énergétique, en bloquant l'activité d'hydrolase de l'ATPase. IF1 constitue donc un système de protection rapide et efficace, permettant une régulation très fine de l'activité d'hydrolase du complexe V (Di Pancrazio et al., 2004). Il serait, également, susceptible d'inhiber l'activité de synthèse de ce complexe (García-Bermúdez et al., 2015).

L'analyse des promoteurs et les données de ChIP-seq du gène *ATPIF1* révèlent son interaction avec des facteurs de transcription, tels que c-Myc, c-Fos et NF $\kappa$ B (Sanchez-Arago et al., 2013). Ces voies de signalisation sont activées par la surexpression d'IF1 dans les cellules cancéreuses du côlon ou dans le cerveau des souris transgéniques, surexprimant H49K dans les neurones (Formentini et al., 2014) ou dans les hépatocytes (Santacatterina et al., 2016), suggérant un mécanisme de signalisation de rétroaction dans l'expression régulée d'IF1. Des découvertes récentes ont confirmé que NF $\kappa$ B se lie au promoteur proximal d'IF1, pour déclencher la transcription (Song et al., 2014).

La plupart des preuves concernant le contrôle de l'expression d'IF1 se dirigent vers des mécanismes de régulation post-transcriptionnelle. A cet égard, il a été rapporté qu'une forte accumulation d'IF1 a été observée dans les carcinomes des patients atteints du cancer du côlon, du poumon, du sein et de l'ovaire (Sanchez-Arago et al., 2013 ; Sanchez-Cenizo et al., 2010) s'exerce aux niveaux post-transcriptionnels, car son accumulation se produit en l'absence des modifications pertinentes dans les niveaux de l'ARNm IF1 (Sanchez-Arago et al., 2013).

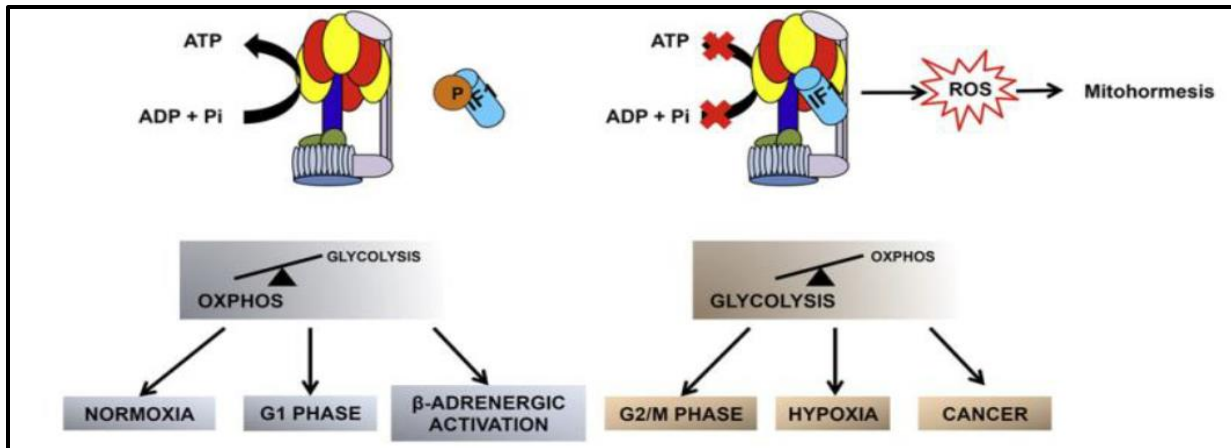
Le niveau d'expression d'IF1 au sein des tissus semble également avoir une incidence notable sur la structure des mitochondries et l'organisation du réseau mitochondrial. L'impact d'IF1 sur cet organite pourrait cependant être fortement dépendant du modèle. Ainsi, plusieurs

études ont mis en évidence un lien entre une augmentation du contenu mitochondrial en peptide inhibiteur et des modifications de l'ultrastructure du réseau mitochondrial. Les effets d'IF1 sur l'ultrastructure des mitochondries ont été rapportés au début des années 2000, en particulier grâce à sa capacité à générer des dimères de l'ATPase. Ces études structurales réalisées à partir de protéines purifiées issues de coeur de boeuf, ont permis de mettre à jour que les dimères de l'ATPase résultent d'une liaison entre les sous-unités F1, par le biais d'un dimère constitué de deux molécules d'IF1 du côté matriciel (Cabezon et al., 2003 ; Cabezon et al., 2000).

### I.3.5.3. Régulation de l'ATPase par IF1

Depuis longtemps, IF1 a été considéré comme un inhibiteur unidirectionnel de l'ATPase agissant seulement en inhibant l'activité hydrolase de l'enzyme. Cette fonction d'IF1 empêche le fonctionnement inversé de l'enzyme, lorsque les mitochondries sont désexcitées pour éviter la perte de l'ATP cellulaire (Suzuki et al., 2014 ; Walker, 2013 ; Campanella et al., 2008). Une fois lié, IF1 inhibe l'hydrolyse de l'ATP, en gênant la rotation du complexe (Suzuki et al., 2014 ; Walker, 2013). Il a été suggéré que le rétablissement de la force motrice du proton produisait des changements conformationnels opposés sur l'ATPase et sur IF1 pour favoriser la séparation de l'inhibiteur du complexe, permettant ainsi la synthèse de l'ATP (Walker, 2013 ; Gomez-Puyou et al., 1979 ; Harris et al., 1979). Des études utilisant des vésicules sous-mitochondriales indiquent que la présence d'un potentiel membranaire n'est pas suffisante pour favoriser la dissociation d'IF1 du complexe (Lippe et al., 1988). De plus, l'ATP et les ions  $Mg^{2+}$  sont, également, nécessaires pour l'inhibition correcte de l'ATPase par IF1 (Lippe et al., 1988 ; Klein et al., 1981).

L'inhibition de l'activité synthétique de l'ATPase par IF1 peut, également, être tracée par son effet sur le flux de la glycolyse, une voie alternative de la production d'énergie cellulaire (Sanchez-Arago et al., 2013 ; Sanchez-Arago et al., 2010). En effet, la glycolyse aérobie est régulée, positivement, lorsque l'OXPPOS est inhibée en interférant avec l'activité de l'ATPase par la présence d'oligomycine (Martinez-Reyes et al., 2012 ; Sanchez-Arago et al., 2010). Cette inhibition est obtenue par l'effondrement du gradient de protons (Sanchez-Arago et al., 2013) ou lorsque les cellules surexpriment IF1 (Song et al., 2014 ; Sanchez-Arago et al., 2013 ; Formentini et al., 2012 ; Sanchez-Cenizo et al., 2010 ; Shen et al., 2009) (Fig. 20).



**Fig. 20. Régulation de l'activité de l'ATPase par phosphorylation d'IF1.** IF1 phosphorylé (à gauche) n'est pas lié à l'ATPase, l'enzyme produit de l'ATP dans des situations d'OXPHOS actif. D'autre part, IF1 déphosphorylé (à droite) est lié au complexe, inhibe à la fois l'activité hydrolase et synthétique de l'ATPase induisant une reprogrammation métabolique en une glycolyse aérobie améliorée (Garcia-Bermudez et al., 2015).

Il a été démontré que IF1 est un inhibiteur bidirectionnel de l'ATPase, c'est-à-dire que lorsqu'il est lié à l'enzyme, il inhibe à la fois les activités synthèses et hydrolases, comme il a été déterminé dans les cellules en culture et *in vivo* dans le cœur de souris (Garcia-Bermudez et al., 2015). Alternativement, l'addition d'un groupement phosphate chargé négativement au domaine N-terminal d'IF1 pourrait représenter un encombrement stérique et/ou électrostatique pour l'interaction et la liaison d'IF1 avec l'interface  $\alpha E\beta E$  de l'ATPase (Bason et al., 2014).

La dégradation d'IF1 est liée à l'action protéolytique des sérine-protéases mitochondriales, puisque IF1 est accumulé dans les cellules cancéreuses du côlon (Sanchez-Arago et al., 2013). Son accumulation dans les carcinomes humains, est un moteur de l'AEROGOLY améliorée, observée dans les tumeurs (Sanchez-Arago et al., 2013 ; Sanchez-Cenizo et al., 2010).

### I.3.6. Glyceraldéhyde déshydrogénases

#### I.3.6.1 Structure et classification

Les GAPDH sont des enzymes ubiquitaires dans le monde vivant. Elles appartiennent à la famille des aldéhydes déshydrogénases (ALDH) à cofacteur NAD(P). Trois classes de GAPDH existent et se distinguent par leur fonction enzymatique, leur localisation cellulaire et leur spécificité de cofacteur : les GAPDH glycolytiques, cytoplasmiques et NAD-dépendantes,

sont impliquées dans la voie de la glycolyse et de la néoglucogenèse chez la plupart des bactéries et des eucaryotes (Harris et Waters, 1976). La GAPDH glycolytique catalyse, de manière réversible, la phosphorylation oxydative du D-glycéraldéhyde-3-phosphate (G3P) en 1,3-diphosphoglycérate (1,3-DPG), en réduisant une molécule de cofacteur et, en utilisant une molécule de phosphate inorganique. La deuxième classe concerne les GAPDH chloroplastiques qui sont, retrouvées spécifiquement dans les chloroplastes des organismes photosynthétiques. La troisième classe regroupe les GAPDH non phosphorylantes cytosoliques. Ces enzymes catalysent l'oxydation irréversible du G3P en 3-phosphoglycérate (3PG), en présence du cofacteur NADP et d'une molécule d'eau (Iglesias et Losada, 1988). Cette 3<sup>ème</sup> classe de GAPDH se distingue très, clairement, des deux précédentes, tant au niveau des séquences protéiques (Environ 18 % d'identité de séquence), qu'au niveau des structures tridimensionnelles, mais, elle est apparentée à certaines classes d'aldéhyde déshydrogénases (Cobessi et al., 2000 ; Michels et Hannaert, 1994). Au niveau structural, les GAPDH sont toutes des homotétramères, à l'exception de certaines GAPDH chloroplastiques, qui sont, elles, des hétérotétramères de type A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>, la sous-unité B présente, par rapport à la sous-unité A, une extension C-terminale qui possède une fonction régulatrice (Fermani et al., 2007 ; Brinkmann et al., 1989).

La GAPDH phosphorylante est une enzyme homotétramérique, dont les sous-unités ont une masse moléculaire variant de 34 à 38 kDa. Chacune des sous-unités fixe une molécule de cofacteur de manière coopérative. Cependant, cette coopérativité a été décrite comme positive ou négative, en fonction de l'organisme dont est issue l'enzyme (Corbier et al., 1990 ; Kirschner, 1971 ). Les quatre sous-unités du tétramère sont arrangées, selon, une symétrie 222 apparente et sont décrites dans un système de coordonnées orthogonales d'axes P, Q et R, initialement défini par Rossmann pour la lactate déshydrogénase (LDH) (Rossmann et al., 1973). La GAPDH est une enzyme sensible au redox et son activité est affectée par l'oxydation du résidu de cystéine, situé dans son site catalytique (Sirover, 2014 ; Hwang et al., 2009). L'oxydation de la GAPDH dépend également de la concentration intracellulaire, en espèces réactives d'oxygène (Reactive oxygen species) ou ROS.

### **I.3.6.2. Fonctions**

La GAPDH catalyse, en présence de phosphate inorganique, l'OXPHOS réversible du D-G3P en 1,3-DPG, en utilisant le nicotinamide adénine nucléotide (NAD<sup>+</sup>), en tant qu'accepteur d'électrons. La GAPDH joue un rôle essentiel au sein des voies métaboliques de la glycolyse ou de la néoglucogenèse. Au niveau physiologique, la GAPDH a été très étudiée,

en tant qu'enzyme métabolique impliquée dans la glycolyse. Un grand nombre de publications a suggéré, que cette enzyme possédait de multiples fonctions chez les mammifères (Sirover, 1999). Ces recherches ont mis en évidence, qu'en fonction de sa localisation cellulaire (Cytosolique, membranaire ou nucléaire), la GAPDH serait impliquée dans les mécanismes d'endocytose et de fusion membranaire, le transport par sécrétion vésiculaire, le contrôle de la traduction, le transport nucléaire des ARN de transfert, la réplication, la réparation de l'ADN et l'apoptose (Sirover, 2005).

En plus de son rôle canonique dans la glycolyse, plusieurs études ont montré que l'enzyme cytosolique a des fonctions pléiotropes indépendantes. Cette diversité fonctionnelle de la GAPDH est, principalement, due aux modifications post-traductionnelles des différents résidus d'acides aminés. Ces derniers sont responsables des interactions protéine-protéine, modifiant ainsi, sa localisation dans le cytosol, le noyau, les mitochondries ou au niveau du microenvironnement extracellulaire. Les fonctions non glycolytiques de la GAPDH ont été étudiées dans différentes situations physiologiques et pathologiques, telles que le cancer et les troubles neurodégénératifs. Elles sont multiples, on peut citer la régulation de la mort cellulaire, l'autophagie, la réparation de l'ADN et l'exportation de l'ARN. Dans l'étude des pathologies, la connaissance des mécanismes de l'apoptose associé à la GAPDH, devient fondamentale pour l'identification de nouvelles thérapies (Butera et al., 2019). L'expression de la GAPDH est régulée par des facteurs de transcription, fréquemment, altérés dans le cancer (Colell et al., 2009). La GAPDH est une enzyme multifonctionnelle impliquée dans l'endocytose, la fusion membranaire, la sécrétion de vésicule, la co-activation de la transcription, la régulation du cycle cellulaire, l'ARNt transport, la stabilisation de l'ARNm et la réparation de l'ADN et réplication (Sirover, 2011 ; Colell et al., 2009). Paradoxalement, pendant le stress cellulaire, la GAPDH joue aussi des rôles importants dans l'activation de l'apoptose par translocation nucléaire et par élimination autophagique des mitochondries endommagées (Colell et al., 2007).

**Partie II :**  
**MATERIEL ET METHODES**

## II.1. Etude épidémiologique, clinicopathologique et nutritionnelle

### II.1.1. Population et type d'étude

Premièrement, une étude épidémiologique traitant plusieurs facteurs a été menée chez une population atteinte de CCR dans la Wilaya de Jijel (Nord-Est algérien). Il s'agit d'une étude rétrospective et descriptive reposant sur une analyse des aspects épidémiologique, clinique et anatomopathologique de 62 cas de CCR, pris en charge au niveau du Service d'Oncologie de l'Hôpital Mohammed Seddik Benyahia (MSB). Cette étude a inclus tous les patients atteints d'un cancer primitif du côlon et/ou du rectum, d'âges compris entre 20 et 80 ans et résidant à Jijel. Les malades présentant un cancer secondaire du colon ou ayant un âge inférieur à 20 ans et ne résidant pas à Jijel ont été exclus. L'analyse des documents (registres et dossiers des malades) disponibles au niveau des archives de l'Hôpital, nous a permis de traiter l'ensemble des données épidémiologique, clinique, para-cliniques, histopathologique et thérapeutiques de chaque patient. Tous les cas de CCR résidant dans la Wilaya de Jijel étaient éligibles pour participer à l'étude. Pour chaque cas, le diagnostic préopératoire ou postopératoire, a été confirmé histologiquement et en référence au rapport pathologique. Pour recueillir les différentes données, nous avons élaboré une fiche de renseignement comportant les principaux paramètres à étudier (Annexe 1).

Deuxièmement, nous avons évalué l'effet de certains facteurs environnementaux, principalement l'alimentation sur l'incidence des CCR. Pour ce faire, nous avons choisi un modèle d'étude cas-témoins, selon lequel, les facteurs de risque ont été déterminés. L'ensemble des cas étudiés était des résidents à Jijel, pris en charge par le Service d'Oncologie de l'Hôpital MSB. Le diagnostic des CCR a été confirmé histologiquement, le groupe témoin a été choisi au hasard et les données cliniques ont été obtenues à partir des dossiers de patients atteints de CCR. Nous avons établi un questionnaire standardisé pour chaque sujet de la population étudiée, une entrevue de 30 min a été ainsi menée. Selon le modèle d'étude choisi, les facteurs de risque ont été déterminés en calculant une valeur algébrique : le rapport de cotes (RC) ou encore appelé odds ratio (OR) qui estime la force de l'association entre le facteur de risque et la maladie (Tableau 02).

Le risque relatif est le rapport entre l'incidence d'une maladie chez les sujets exposés à un facteur de risque (ou facteur protecteur) et l'incidence de cette même maladie chez les sujets qui ne sont pas exposés à ce facteur. Il a été estimé à partir des études de cohorte. Il est remarquable de noter que les études cas-témoins conduites sur des maladies dont le risque est «rare» (ce qui est le cas pour certaines localisations de cancers), en donnant une estimation

correcte, via RC. Contrairement au risque, le dénominateur d'une cote ne contient pas tous les sujets à risque, mais, seulement ceux qui sont non-exposés. Le RC permet de comparer 2 cotes dans toutes sortes de situations. Nous avons obtenu le RC, en divisant le ratio d'exposition du groupe malade par le ratio d'exposition du groupe contrôle. En utilisant la table suivante on obtiendrait :  $RC = a/c/b/d$  (a/c : Probabilité d'exposition chez les cas, b/d : probabilité d'exposition chez les témoins).

**Tableau 02. Rapport de cotes dans une étude cas-témoins.**

<i>Mention</i>	<b>Cas</b>	<b>Témoins</b>	<b>Total</b>
<i>Exposé</i>	a	b	a+b
<i>Non exposé</i>	c	d	c+d
<i>Total</i>	a+c	b+d	a+b+c+d

Un RC de 1,00 signifie qu'il n'y a pas d'association entre l'exposition et la maladie. Un RC supérieur à 1 signifie qu'il existe une association positive entre la maladie et le facteur et il s'appelle le facteur de risque. Un RC inférieur à 1 signifie qu'il existe une association négative entre l'événement et le facteur référé en tant que facteur de protection. Les résultats obtenus sont plus difficiles à expliquer, car il ne s'agit pas de comparer de 2 risques. Ainsi, un RC de 3 ne signifie pas nécessairement que le risque de la maladie est trois fois plus élevé, mais, le ratio exposé/non-exposé est 3 fois plus élevé chez les patients atteints de la maladie. Malgré cette complexité, les RC possèdent d'importants avantages expliquant leur grande popularité dans la littérature médicale. Ils peuvent être utilisés dans tous les types d'études (prospective, rétrospective, essai clinique, etc.), car ils sont statistiquement robustes. De plus, les calculs mathématiques complexes effectués par ordinateur rapportent habituellement des valeurs apparentées aux RC. C'est le cas particulier des régressions linéaires et des méta-analyses. Enfin, lorsque l'incidence de la maladie est rare, le RC et le risque relatif sont semblables. Ainsi, le choix de ce modèle est réconforté par certaines qualités de ce type d'études, car il est rentable par rapport à d'autres études analytiques telles que les études de cohorte. Il est plus efficace pour l'étude des maladies avec de longues périodes de latence et des maladies rares.

## II.1.2. Collecte des données

### II.1.2.1. Données épidémiologique, biologique et clinique

Notre étude épidémiologique, biologique et clinique a porté sur l'analyse de quatre volets : en premier lieu, le volet épidémiologique a consisté à la détermination de l'incidence des CCR comparativement avec l'ensemble des cancers, les cancers digestifs et les données épidémiologiques telles que le sexe, la tranche d'âge la plus touchée, la distribution géographique et les antécédents personnels et familiaux. En second lieu, le volet clinique et para-clinique a permis de préciser les circonstances de la découverte des CCR, l'évolution des symptômes révélateurs, les examens para-cliniques réalisés pour chaque patient, y compris l'examen endoscopique. Ainsi, l'examen complémentaire où les patients ont bénéficié des explorations fonctionnelles et radiologiques et des bilans d'extension. Ces derniers concernent certains paramètres hématologiques (Globules rouges et blancs), enzymologiques (PAL, transaminases), ainsi que les marqueurs tumoraux classiques (ACE, CA19-9).

Aussi, nous nous sommes intéressés à l'examen anatomopathologique qui permet de déterminer le type histologique, le degré de différenciation, l'architecture et la stadification des CCR. Cet examen doit être réalisé afin d'établir de façon définitive le diagnostic de cancer. On parle de preuve histologique. Dans le cas où un cancer est diagnostiqué, l'examen des cellules et des tissus prélevés a également pour objectif de préciser le type de cancer dont il s'agit, et aussi de déterminer juste dans quelles couches de la paroi du côlon ou du rectum les cellules cancéreuses se sont développées. C'est ce qu'on appelle l'extension en profondeur. Cela donne une première indication sur l'étendue de la maladie et contribue à définir le stade du cancer.

De plus, nous nous sommes intéressés à l'analyse moléculaire des mutations du gène KRAS. Ainsi, nous avons tenté de mettre en évidence la présence de corrélations potentielles entre les mutations de ce gène et d'autres paramètres tels que le sexe, le siège de la tumeur, le stade de différenciation et la thérapie ciblée combinée à la chimiothérapie. Le séquençage de l'ADN est nécessaire pour détecter les mutations des gènes codant pour les protéines de signalisation de la famille Ras (KRas et NRas) qui sont impliqués dans la cancérogénèse colorectale (Jing et al., 2014 ; Rey et al., 2009). Dans ce sens, les ADN génomiques de Neuf patients atteints de CCR ont été analysés. En bref, l'ADN génomique de ces patients a été extrait à partir des tissus pris sur des blocs de paraffine. Les séquences d'ADN génomique correspondant aux exons 2, 3 et 4 des gènes KRAS et NRAS et contenant les mutations potentielles ont été amplifiées par PCR, en utilisant des amorces appropriées qui

reconnaissent spécifiquement les mutations des codons 12 et 13. Les produits de PCR ont été analysés par électrophorèse et séquencés afin de détecter la présence des mutations du gène KRAS (De Macedo et al., 2015).

Enfin, les données des différentes thérapeutiques employées ont été analysées, elles concernaient la chirurgie (Curative ou palliative), la radiothérapie et la chimiothérapie (Seule ou combinée à la thérapie ciblée).

#### **II.1.2.2. Données sur le mode de vie**

Afin de recueillir des informations précises sur le mode de vie des sujets (Cas-témoins), un questionnaire standardisé a été soumis à chaque patient et les données sur la population étudiée ont été complétées et évaluées au moyen d'entrevues. Le contenu du questionnaire était centré sur les variables sociodémographiques, les mesures anthropométriques, les antécédents personnels et familiaux du patient, les apports en médicaments et les facteurs liés au mode de vie. Les données sociodémographiques comprenaient l'âge, le sexe, l'état matrimonial, le niveau d'éducation, le lieu de résidence et les revenus du ménage. Les mesures anthropométriques incluaient la taille et le poids. L'indice de masse corporelle (IMC) a été, ensuite, calculé. De plus, les facteurs liés au mode de vie, y compris le tabagisme, la consommation d'alcool et les activités physiques ont été notés. Un entretien direct avec les sujets a permis d'évaluer l'activité physique (Pratique de sport : type, intensité, fréquence par semaine, durée avec un minimum de 10 min). Les niveaux d'équivalent métabolique (MET) pour les activités de marche, d'intensité modérée et vigoureuse ont été pris à 3,3, 4,0 et 8,0. Les activités ont été mesurées séparément (Niveau MET×min d'activité/j×j par semaine) et exprimées en MET totale/semaine. Sur la base des scores totaux, les participants à l'étude ont été classés, en trois niveaux d'activité physique : faible (<600 MET min/semaine), modéré (600-3000 MET min/semaine) et élevé (>3000 MET min/semaine). Notre questionnaire multidimensionnel comprenait des informations sur l'histoire des CCR (Antécédents familiaux et personnels) et la prise de médicaments (Antécédents médicamenteux...ect).

#### **II.1.2.3. Données alimentaires**

Nous avons établi un questionnaire de fréquence qui consistait en une liste d'aliments avec les catégories de fréquence de consommation associées (Nombre de fois par jour, semaine, mois, etc.). Il est demandé au répondant de vérifier, pour chaque aliment dans la

liste, la fréquence la plus proche de sa consommation habituelle (Cade et al., 2002). Les questionnaires sur la fréquence alimentaire (FFQ) sont largement utilisés dans les études épidémiologiques pour évaluer l'apport alimentaire et explorer les associations entre le régime alimentaire et les maladies chroniques dans des populations spécifiques. Cet instrument est avantageux, car, il est relativement facile, peu coûteux à administrer et permet de mesurer les apports alimentaires sur une longue période (Cade et al., 2002). Il est essentiel qu'un FFQ soit culturellement approprié pour la population étudiée (Teufel, 1997). Nous avons utilisé un questionnaire de fréquence alimentaire semi-quantitatif pour évaluer l'apport alimentaire. Le FFQ est conçu pour évaluer les habitudes alimentaires au cours de la dernière année pour les témoins et pendant la période précédant le diagnostic pour les cas. Les options de réponse pour la plupart des aliments comportaient 7 niveaux : aucun ou peu, une fois/mois, 2-3 fois/mois, 1 à 3 fois/semaine, 3 à 6 fois/Semaine, une fois/j, 2-4 fois/j. Un ensemble de mesures du ménage (Par exemple, une tasse, une cuillère de table, une assiette, un verre, un bol) a été utilisé pour aider les répondants à estimer la taille des portions d'aliments.

Le FFQ consistait en 100 produits alimentaires répartis en cinq groupes et treize sous-groupes de produits alimentaires. Cette classification a été inspirée de celle proposée par Mekhancha (2007) et appliquée dans la première version du Tableau de composition alimentaire du Laboratoire de Recherche 'Alimentation, Nutrition et Santé de Constantine'. Parmi les treize sous-groupes alimentaires, nous avons axé notre questionnaire sur les produits céréaliers, les légumes et fruits, les viandes et produits dérivés, volaille et œufs, poissons et produits laitiers (Tableau 03). Pour donner une évaluation quantitative de la fréquence de consommation, nous avons attribué une valeur numérique à chaque fréquence, puis nous avons effectué la somme de ces valeurs pour chaque participant.

**Tableau 03. Groupes d'aliments étudiés.** Les produits alimentaires inclus dans notre enquête ont été en cinq groupes.

<b>Groupe alimentaire</b>	<b>Produits étudiés</b>
<i>Produits céréaliers</i>	Riz, frick, semoule, farine de blé, couscous, tiliti, vermicelles, chakhchoukha, pâtes, spaghettis, pain, pain, gheraif, kesra, brioche, biscuit, gâteaux à base de pâte feuilletée, mille feuilles
<i>Légumes et fruits</i>	Tomate, concombre, courgettes, poivron, salade verte, chou-fleur, persil, carotte, chou, oignon, ail, betterave crue, fenouil, concentré de tomate, orange, mandarine, pomme, poire, abricot, pruneau, melon, pastèque, raisins, néflier, banane, datte, olives vertes dénoyautées, olive noire
<i>Viandes et produits dérivés</i>	Viande de bœuf, viande d'agneau, viande transformée, foie, saucisses
<i>Volaille et œufs</i>	Volaille, œufs, poissons
<i>Poissons</i>	Sardine, thon à l'huile, merlan, crevettes
<i>Produits laitiers</i>	Lait, l'ben, fromage fondu, yaourt

#### II.1.4. Saisie des données et statistiques

Afin d'analyser les différentes données, nous avons suivi deux types de statistiques : les statistiques descriptives (Sous forme de tableaux, graphes et histogrammes) et les statistiques analytiques (Ecart type pour déterminer l'âge moyen, p-value pour déterminer si la différence est significative entre deux paramètres). La distribution de fréquences et les statistiques descriptives pour chaque variable ont été calculées. Une valeur p inférieure à 0.05 était considérée comme statistiquement significative. La saisie des données a été effectuée ultérieurement sur le logiciel Epi-info7. Ce logiciel est créé par le Centre de Surveillance des Maladies d'Atlanta aux États-Unis, en collaboration avec l'OMS.

Les résultats sont donnés sous forme de moyennes  $\pm$  écart-types. L'évaluation statistique a été effectuée, en comparant les moyennes des patients des groupes témoin, et en utilisant le test de Student. Sachant que la p-value était : non significative :  $p > 0.05$  (NS) ; Significative :  $P < 0.05$  (\*) ; hautement significative :  $P < 0.01$  (\*\*) ; très hautement significative :  $P < 0.001$  (\*\*\*) .

### II.1.5. Histologie et microscopie optique

Les prélèvements tissulaires ont été obtenus par les chirurgiens de l'Hôpital MSB soit par biopsie, soit par résection d'une pièce opératoire ou d'organe. La majorité des prélèvements a été directement fixée au niveau du bloc opératoire. D'abord l'étude Macroscopique a été réalisée. Les échantillons se préparaient dans l'hôte. La pièce opératoire a été examinée, mesurée, pesée, palpée puis disséquée. L'échantillon suspect a été mis directement dans une cassette préalablement étiquetée et immergée dans le Formol 10%, afin de conserver la morphologie cellulaire. Les tissus fixés ont été ensuite inclus dans la paraffine. Cette dernière n'est pas miscible à l'eau, la pièce anatomique doit être entièrement déshydratée, avant l'inclusion dans la paraffine. Cette étape a été réalisée dans un automate de déshydratation, contenant 12 cuves métalliques remplies d'alcool, de xylène et de paraffine. Les cassettes ont été placées dans un panier qui se déplaçait d'un bain à l'autre. L'étape de l'inclusion en paraffine consistait à donner un aspect solide au tissu à examiner, facilitant ainsi la réalisation des coupes, en donnant une forme à l'échantillon. Cette étape a été réalisée dans un appareil d'enrobage contenant la paraffine chaude à 60°C, ensuite, la coupe a été effectuée à l'aide d'un microtome semi-automatique. L'excès de paraffine doit être enlevé. Le ruban obtenu a été placé délicatement dans un bain marie chauffé à 45°C, afin de déplier les coupes qui ont été ensuite recueillies, sur des lames de verre. Les lames ont été, ensuite, séchées à l'étuve pendant 20 min pour faire dissoudre la paraffine et assurer une bonne adhésion des tissus à la lame avant coloration. Cette dernière a été réalisée dans un automate de coloration, en utilisant les colorants de routine : hématoxyline, éosine «HE». Le collement des lamelles a été effectué, en déposant une goutte de l'Eukitte dilué par le xylène. Cette étape permet de conserver les préparations pendant plusieurs dizaines, voir, plusieurs centaines d'année. Enfin, la lecture microscopique a été obtenue à l'aide d'un microscope optique, cette lecture nous a permis de rédiger un compte rendu descriptif précisant le stade et le grade de la maladie

## **II.2. Analyse du transcriptome**

### **II.2.1. Spécimens de tissus**

Des échantillons de tissus ont été prélevés chez 8 patients atteints de CCR, conformément aux normes et procédures du comité d'examen institutionnel. Les carcinomes colorectaux humains ont été classés selon l'OMS (Stade I : T1-2 N0 M0, Stade II : T3-4 N0 M0, Stade III : anyT N1-2 M0 C, Stade IV : anyT anyN M1). Les échantillons de tissus ont été rapidement congelés dans l'azote liquide, puis stockés à -80°C jusqu'à la préparation de l'ARN total et des protéines. Les échantillons d'immunohistochimie ont été immédiatement fixés dans le fluide de Bouin à 4°C, déshydratés et inclus dans la cytoparaffine.

### **II.2.2. Culture cellulaire**

Les lignées cellulaires dérivées d'adénocarcinomes du côlon (cellules LS174T, PF11, TC7, SW480 et HT29) ont été cultivées comme décrit dans le protocole développé par Chantret et al. (1988). En bref, les cellules ont été cultivées en routine à 37 °C dans une atmosphère à 5% de CO<sub>2</sub>/air dans du milieu de Eagle modifié de Dulbecco (DMEM) contenant 10% (V/V) de FCS (GIBCO BRL, Gaithersburg, MD), 4 mM de L-glutamine, 50 unités/ml de pénicilline et 50 µg/ml de streptomycine. Lorsque les cellules ont atteint 80 à 90% de confluence, elles ont été dissociées avec 0,05% de trypsine et 0,02% d'EDTA dans la solution saline de Puck et ont été replacées dans des boîtes de Pétri de 100 mm.

### **II.2.3. Préparation et analyse de l'ADN**

Toutes les manipulations se rapportant à l'extraction, la purification et la quantification de l'ADN, ainsi que la restriction, la ligature et le transfert de l'ADN recombinant ont été effectuées à l'aide de protocoles standard (Sambrook et al., 1989)

### **II.2.4. Extraction des ARN totaux**

La préparation des ARN totaux a été réalisée selon le protocole de Chomczynski et Sacchi (1987). En bref, 100 mg de tissu (Cancéreux ou normal) ou 10<sup>6</sup> de cellules ont été homogénéisés dans 1 ml de tampon de lyse : isothiocyanate de guanidine 4 M, citrate de sodium 25 mM pH 7, sarkosyl 0.5% (le lysat passé plusieurs fois dans une seringue). L'homogénat a

été additionné de 100 µl de citrate de sodium 2M pH4, suivi par 1 ml de phénol saturé avec de l'eau et 200 µl de chloroforme alcool isoamylique (49/1). Le mélange a été agité, refroidi sur glace (15 min) et centrifugé avec un appareil sigma de paillasse (20 min à 8000 rpm à 4°C). La phase aqueuse a été récupérée et précipitée par 1ml d'isopropanol 100%. Elle a été placée à -20°C pendant 1 heure et centrifugée (20 min à 13000 rpm à 4°C). Le culot obtenu a été solubilisé dans 300 µl de tampon de lyse, précipité par 1 vol d'isopropanol et solubilisé dans 100 µl de SDS 0.5%. La concentration de la préparation de l'ARN a été mesurée, en calculant l'absorption optique à 260 nm.

### II.2.5. Etablissement du transcriptome d'une tumeur colique

La construction d'une banque d'ADNc comprend de nombreuses étapes incluant l'isolement d'ARNm, la synthèse du premier brin de l'ADNc et sa conversion en ADNc double brin, l'addition des adaptateurs de clonage dans un vecteur approprié, puis le clonage proprement dit. La production d'une banque d'ADNc représentative et de qualité commence par l'isolement d'ARNm intact. En utilisant des procédures qui permettent l'inhibition effective des ribonucléases et l'élimination de l'ADN génomique pendant la préparation de l'ARN. Les ARNm représentent généralement moins de 5 % des ARN totaux de la cellule, il est très utile d'enrichir la population d'ARNm par chromatographie d'affinité sur colonne d'oligo(dt)-cellulose (Jacobson, 1987). L'intégrité des ARNm est évaluée par électrophorèse sur gel d'agarose, par Northern blot, ou par traduction *in vitro*.

Il existe de nombreuses options pour construire une banque d'ADNc (Kimmel et Berger, 1987). L'ARNm peut être amorcé par différents types de primers (amorces oligo(dt), amorces aléatoires, ou amorces munies d'adaptateurs), en utilisant diverses transcriptases inverses. Les inserts d'ADNc sont souvent ligés au vecteur de manière orientée (Bhagwat et Keister, 1992) afin d'optimiser l'utilisation de la banque selon sera destinée au séquençage d'ADN, à la synthèse de sondes ribonucléiques ou à la population de protéines. Le choix du vecteur est également important. La production de protéines en vue d'un criblage par anticorps nécessite l'utilisation de bactériophages λgt11 ou λzap. Par contre, si les ADNc sont destinés au séquençage ou à la synthèse de sondes, le choix de phagemides (pBluscript, pT7T3D ou λzap) est recommandé. On peut se procurer dans le commerce des Kits de synthèse de banques d'ADNc dans la recherche de gènes différentiellement exprimés qui dépend de la qualité (taille de l'insert, absence de recombinaison) et de la quantité de ses clones qui conditionne la représentativité (Hagen et al., 1988).

Ainsi, et afin d'obtenir un catalogue représentatif du transcriptome d'une tumeur colique, une banque d'ADNc provenant d'un adénocarcinome du côlon humain a été construite dans le vecteur pT7T3D et *E. Coli NM522* (Frigerio et al., 1995). En bref, 2166 clones choisis au hasard ont été partiellement séquencés et analysés par une recherche dans une base de données (Rechreche et al., 1997 ; Frigerio et al., 1995). Au départ, un séquençage partiel de quelques centaines de nucléotides a été réalisé, mais dès qu'un clone se révélait suffisamment intéressant, sa séquence devrait alors être complétée. L'information portée par la séquence d'ADN est utilisée pour chercher des homologues de séquences dans les banques de données GenBank (Burk et al., 1991). Ces comparaisons de séquences sont effectuées par les serveurs BLAST de GenBank ou FASTA de l'EMBL. D'autre part, les séquences nucléotidiques peuvent être traduites en séquence protéiques et comparées.

## II.2.6. Criblage différentiel sur filtres HD

### II.2.6.1. Principe

Le criblage différentiel sur filtres HD (Sargent, 1987) est une technique qui dérive du criblage par hybridation des banques bactériennes ou phagiques. Cette technique permet d'identifier et d'isoler des gènes dont les niveaux d'expression varient entre deux situations expérimentales. Le principe de la technique du criblage différentiel implique la préparation de sondes complexes d'ADNc, à partir de l'une des populations d'ARNm à comparer, et l'hybridation avec ces sondes de filtres contenant une collection de clones. On peut cribler des clones d'ADN provenant d'une banque d'expression, d'une banque génomique (Percival-Smith et Segall, 1984) ou de produits de PCR (Smith et Gridley, 1992). Les sondes peuvent être préparées de différentes manières ; par transcription inverse d'ARNm, utilisation de banques d'ADNc existantes (Parfett et al., 1989), ou amplification par PCR (Kendall et al., 1996).

Le criblage différentiel de banques d'ADNc est une technique très utilisée relativement simple, mais qui présente toutefois, deux inconvénients majeurs. Premièrement, un taux élevé de faux positifs quand les clones d'ADNc sont déposés sur les filtres avec une densité trop élevée, plus de 90% des clones peuvent être des faux positifs (Clancy et al., 1983). Par conséquent, l'isolement de clones véritablement positifs requiert plusieurs cycles de criblage (Cochran et al., 1983). En général, le criblage initial est suivi d'un criblage dans lequel

l'hybridation se fait en utilisant des filtres contenant des clones bien séparés, ou des Southern blots contenant des vecteurs recombinants (Mannings et al., 1990) ou des produits de PCR (Luo et al., 1994) ; le criblage est répété si nécessaire. Deuxièmement, la sensibilité de la méthode est faible. En effet, seuls les gènes fortement exprimés, c'est-à-dire dont les ARNm représentent au moins 1% de la totalité des transcrits de la cellule sont détectables par cette technique (Shigemoto et al., 1987). Toutefois, il existe des variantes du criblage différentiel dont la sensibilité est dix fois plus grande (Parfett et al., 1989). Par exemple, le criblage différentiel utilisé pour isoler des ARNm spécifiques du cycle cellulaire (Lu et al., 1990), des gènes induits par le stress dans les macrophages péritonéaux de souris (Khandjian et al., 1992).

Quand il s'agit de comparer l'expression d'une population de gènes dans deux conditions différentes, on peut procéder de deux manières : soit en utilisant le même filtre hybridé successivement avec les deux sondes, soit en utilisant deux filtres "jumeaux" hybridés en parallèle. Le criblage différentiel permet une comparaison dite "gène par gène" de populations d'ARNm contenues dans deux échantillons différents (exemple : cancer et tissu sain). Cela se fait par hybridation d'une banque d'ADNc construite à partir de l'un des échantillons, avec des sondes complexes spécifiques des deux populations d'ARNm. Construction de la banque d'ADNc.

#### II.2.6.2. Mise en oeuvre

Les ADNc différenciellement exprimés ont été sélectionnés par criblage de filtres de colonies HD (Rechreche et al., 1997 ; Frigerio et al., 1995). En bref, 2166 colonies des clones d'ADNc ont été déposées par système robotisé sur des filtres Hybond (Amersham) dans un réseau régulier. L'ADN des clones transférés sur les membranes est dénaturé et fixé de façon covalente. L'étape suivante du criblage consiste à l'hybridation des clones portés par les membranes avec des sondes. Des sondes complexes ont ensuite été préparées en une étape consistant à une transcription inverse et un marquage simultanés, en utilisant 1 mg d'ARNm provenant d'adénocarcinomes colorectaux ou de la muqueuse normale adjacente et d'une amorce oligo(dT) (Wahl et Berger, 1987 ; Ausubel et al., 1988). Dans un premier temps, les filtres ont été hybridés, en présence des sondes complexes dérivées de l'ARN polyA<sup>+</sup> du carcinome colorectal ou de la muqueuse adjacente normale. Les signaux d'hybridation des tissus cancéreux et normaux ont été quantifiés, analysés et comparés. Contrairement aux Northern et Southern blots, dans le criblage différentiel les sondes sont préparées dans des conditions

limitantes pour permettre une bonne appréciation des différences d'expression des deux populations d'ARNm. Les gènes dont l'expression est inchangée dans les deux populations d'ARNm (Gènes codant pour des protéines de ménage), sont utilisés comme sonde de contrôle pour normaliser les signaux d'hybridation. Après lavage adéquat des filtres afin d'éliminer les hybridations croisées et les artefacts, des expositions auto-radiographiques peuvent être obtenues. Enfin, pour éviter le problème des «faux positifs», et confirmer ainsi l'altération de l'expression des gènes sélectionnés, il est indispensable de procéder à un deuxième cycle de criblage (Luo et al., 1994). Dans ce contexte, nous avons présélectionnés deux clones 3B5 et 9B8 codant deux ARNm potentiellement surexprimés.

### II.2.7. Analyse par Northern blot

Le Northern blot est la meilleure technique pour démontrer la validité de l'expression différentielle d'un gène. C'est une technique spécifique préférable au dot blot, car elle permet de connaître la taille de l'ARNm et permet donc d'identifier ses différentes iso-formes. Ainsi, les clones d'ADNc 3B5 et 9B8 (représentant les transcrits IF1 et GAPDH, respectivement) ont été utilisés comme sondes pour analyser leur expression par le Northern blot. Le marquage des sondes a été obtenu de l'amplification des ADNc par PCR. Les blots sont hybridés avec un excès de sonde marquée au  $^{32}\text{P}$  afin de saturer les sites de complémentarité à l'ARN.

Des quantités égales (20  $\mu\text{g}$  par piste) d'ARN dénaturé ont été fractionnées dans des gels d'agarose-formaldéhyde à 1%. L'ARN a été ensuite transféré sur des filtres en nylon (Genescreen, Dupont, Boston, MA) (Sambrook et al., 1989). L'intégrité des ARN a été évaluée à la fois par le bromure d'éthidium et le bleu de méthylène (Sambrook et al., 1989). Les filtres ont été préhybridés pendant 4 h à 42 °C dans un tampon contenant 50% de formamide désionisé, SSPE 5X (SSPE 1X : NaCl 180 mM, EDTA 1 mM,  $\text{NaH}_2\text{P}_04$  10 mM, pH 7,5), 0,1% de sérumalbumine bovine, 0,1% de Ficoll, 0,1% de polyvinylpyrrolidone, 0,8% de SDS, 8% de sulfate de dextrane et 200  $\mu\text{g}/\text{ml}$  d'ADN de sperme de hareng dénaturé. L'hybridation a été réalisée dans le même tampon en présence des inserts d'ADNc 3B5 ou 9B8 marqués au  $^{32}\text{P}$  en tant que sondes. Ces ADNc étaient des produits de PCR générés par amplification de l'ADNc cloné dans les vecteurs pT7T3D-3B5 et pT7T3D-9B8, en utilisant deux amorces spécifiques des séquences de phagemide. Des précautions doivent être exercées lors du choix de la sonde «contrôle», certains gènes de ménage n'étant pas exprimés de manière égale entre les différents

individus, tissus ou situations. Par conséquent, la qualité des signaux d'hybridation a été contrôlée, en utilisant un clone codant pour les ARNr 28S et/ou 18S.

Les filtres ont été séchés et exposés à Hyperfilm® (Amersham, Royaume-Uni). Les filtres ont été ensuite lavés quatre fois à température ambiante dans 2X SSPE, 0,1% SDS, deux fois pendant 15 min à 65 °C dans SSPE 0,1X, 0,1% SDS et une fois pendant 30 min dans 0,1X SSPE. Les signaux d'hybridation ont été quantifiés, en analysant les images des autoradiogrammes obtenus par le logiciel Image J.

### II.2.8. Analyse par RT-PCR

Lorsque la séquence nucléotidique d'un gène est disponible, les taux d'expression de l'ARNm correspondant peuvent être mesurés par RT-PCR (Gaudette et Crain, 1991) qui consiste en la transcription inverse par un amorçage de type oligo (dT), suivie d'une amplification des ADNc obtenus par PCR, en utilisant des amorces spécifiques (Don et al., 1991). Le premier brin de l'ADNc a été obtenu par transcription inverse de 2 µg d'ARN total provenant de tissu colorectal avec un oligo(dT)(12-18) comme amorce à l'aide du kit du système de pré-amplification SuperScript et selon les instructions du fabricant (GIBCO BRL). L'amplification PCR a été réalisée dans le tampon PCR (KCl 50 mM, Tris 10 mM, pH 8,3, MgCl<sub>2</sub> 2 mM, 0,01% de gélatine) contenant 125 pM de dNTP, 25 pmoles de chaque amorce et 2,5 unités de Taq polymérase dans un volume final de 50 µl. Les conditions de la réaction étaient 30 cycles de dénuement à 94°C pendant 30 secondes, un recuit pendant 2 minutes à 55°C et une extension pendant 2 minutes à 72°C. Nous avons utilisé des jeux d'amorces discriminants spécifiques à la région codante de l'ARNm afin de prévenir la réactivité croisée. Ainsi, pour amplifier l'ADNc IF1, nous avons employé l'amorce sens : 5'-GGGCCTTCGGAAAGAGAG-3' et l'amorce anti-sens était : 5'-TTCAAA GCTGCCAGTTGTTC 3'. Les produits d'amplification ont été soumis à une électrophorèse sur un gel d'agarose à 2% et visualisés avec du bromure d'éthidium.

### II.2.9. Clonage et séquençage de l'ADNc d'IF1

En utilisant le criblage différentiel sur filtres HD, nous avons pu sélectionner un clone surexprimé (pT7T3D-3B5) dans les CCR par rapport aux tissus normaux correspondants. Au cours de l'analyse de la base de données des séquences partielles de la banque d'ADNc du cancer du côlon, l'extrémité 3' de l'ADNc 3B5 (environ 200 pb) était significativement similaire au gène de l'inhibiteur de l'ATPase. Nous avons estimé la taille de l'insert 3B5 à 550 pb, après amplification par PCR, suivie par électrophorèse sur gel d'agarose 2%. Le produit de PCR ayant la taille attendue a été limité avec l'endonucléase EcoRI, électroélué, extrait au phéno/chloroforme et précipité à l'éthanol. Il a ensuite été ligaturé au vecteur pBluescript KS coupé par EcoRI, et transféré à *E. coli* compétent JM109. Les clones recombinants ont été sélectionnés, ensuite, l'ADN simple brin a été préparé et séquencé dans les deux orientations. La séquence nucléotidique a été déterminée par la méthode de terminaison de chaîne didésoxy-nucléotidique en utilisant la Sequenase version 2.0 (Biochemical Corp, United States), les amorces T3/T7 et le dATP marqué au <sup>35</sup>S.

L'analyse par ordinateur a révélé que l'ADNc 3B5 recouvrait les deux tiers de l'ARNm IF1 humain, en partant de son extrémité 3'. Ainsi, pour compléter la région codante en 5' de l'ARNm IF1, nous avons utilisé l'insert 3B5 en tant que sonde marquée au <sup>32</sup>P pour cribler la banque d'ADNc  $\lambda$ gt11 de côlon humain. Ainsi, nous avons pu identifier plusieurs clones positifs et deux d'entre eux ont été isolés et les colonies bactériennes correspondantes repiquées et cultivées afin d'obtenir des mini-préparations d'ADNc de 5 ml. Ensuite, nous avons extrait et purifié l'ADNc, en utilisant des colonnes d'affinité appropriés. L'ADNc isolé a été séquencé par la méthode de Sanger afin d'obtenir la séquence complète de l'ARNm IF1.

**Partie III :**  
**RESUTATS ET DISCUSSION**

### III.1. Etat des lieux épidémiologique et clinique des CCR

#### III.1.1. Avant-propos

Le cancer est une maladie décrite depuis l'antiquité qui fut longtemps incurable et le mot garde encore de nos jours une charge symbolique puissante, évoquant des conséquences particulièrement sombres. Il n'existe pas un cancer, mais, une multitude de cancers pouvant se développer à partir de presque tous les tissus, chacun, possède ses propres caractéristiques. Il s'agit d'une prolifération incontrôlée de cellules normales se développant au sein de l'organisme. Cette transformation est la résultante d'une succession d'altérations génétiques qui vont progressivement déréguler les systèmes complexes, assurant l'homéostasie cellulaire. De ce fait, un cancer est considéré comme une pathologie multigénique (Puyo et al., 2012). Il représente un phénomène, tout à fait, particulier dans le domaine de la santé. Le nombre de patients atteints de cancer continue d'augmenter de manière constante. Dans le monde, on a dénombré 14,1 millions de nouveaux cas durant l'année 2012 et 8,2 millions de décès déclarés. 70% de ces cas sont signalés dans les pays en développement. L'OMS prévoit que ces chiffres pourraient doubler d'ici 2030. La mortalité baisse de plus en plus, les progrès scientifiques et technologiques ont permis une meilleure prise en charge des patients, cependant, on constate qu'aucun pays au monde n'a encore réussi à infléchir de manière significative la courbe de progression de cette maladie.

Le CCR est une maladie grave, fréquente et parmi les cancers les plus souvent diagnostiqués dans les pays riches (Stintzing et al., 2014). Il constitue le 3<sup>ème</sup> cancer le plus fréquent chez l'homme et le second chez la femme dans le monde en 2008. En termes de mortalité, il représente la 4<sup>ème</sup> cause de décès par cancer (Ferlay et al., 2010). Cependant, près de 60% des cas sont détectés dans les pays développés. Ainsi, en Europe, le CCR est le cancer le plus fréquent et la 2<sup>ème</sup> cause de mortalité par cancer (Parkin et al., 2010). Une méta-analyse incluant 59 études a estimé que le risque relatif de développer un CCR en cas d'antécédent familial au premier degré est de 2,24. Ce risque passait à 3,97 si deux antécédents familiaux au premier degré existaient (Butterworth et al., 2006). Seulement, 5% de ces cas correspondent à une forme familiale cliniquement identifiée et associée à une mutation. Pour le reste, aucune explication génétique n'a pu être trouvée. C'est pourtant, la recherche et l'identification de gènes ou groupes de gènes responsables qui pourraient améliorer la surveillance, la prévention et permettre un meilleur diagnostic et une prise en charge optimale.

Les CCR représentent un problème majeur de santé publique dans les pays développés en raison de leur fréquence et leur gravité. Près d'un 1.2 million de cas de cette pathologie sont diagnostiqués, et près d'un demi-million de personnes en meurent chaque année (Bogaert et Prenen, 2014). En Algérie, les registres du cancer reconnus par les instances internationales, confirment cette tendance : actuellement on comptabilise environ 45 000 nouveaux cas et 24 000 décès par an. Ce chiffre s'explique par le caractère particulièrement accéléré de la transition démographique et épidémiologique dans notre pays et d'un développement socio-économique très rapide traduisant une profonde mutation des modes de vie de nos concitoyens. Au-delà de ces chiffres, le cancer représente surtout une charge particulièrement lourde parce qu'il entraîne plus de souffrances et de drames que n'importe quelle autre maladie sur le plan personnel et familial ; il est responsable aussi du plus grand nombre d'années de vies perdues. Enfin, sa charge financière particulièrement élevée et en constante augmentation, risque de déséquilibrer toute l'architecture financière du système de santé. L'incidence du CCR en Algérie même si elle demeure faible par rapport aux pays occidentaux, a connu une ascension fulgurante ces dernières années. La première partie des résultats concerne l'Epidémiologie, la Biologie pathologique et la clinique des CCR dans la Willaya de Jijel pendant la période 2012-14. Il s'agit d'une étude observationnelle d'épidémiologie descriptive, transversale, rétrospective et multicentrique dans laquelle plusieurs facteurs ont été analysés.

### III.1.2. Profils épidémiologiques

Le cancer constitue la maladie incontestablement la plus redoutée et elle est assimilée à un véritable fléau moderne. Sa réputation de gravité et d'évolution rapide, voire fatale, déclenche à son annonce, un sentiment de panique chez le malade et un bouleversement de la vie familiale. Lors de la conférence de l'OMS de 1978 à Alma Ata, seul le délégué de l'Inde qui faisait partie des pays en développement avait soulevé le problème des MNT dont le cancer et a exprimé sa crainte de voir leur progression rapide dans ces pays à l'instar de ce qui se passait déjà dans les pays industrialisés. Cette prémonition s'est effectivement réalisée. En effet, en 1970, seulement, 15% des cancers ont été enregistrés dans les pays en développement, alors que les estimations en 2012 prévoient une augmentation substantielle de 5 millions de nouveaux cas par an d'ici 2025. Cette augmentation s'explique par la croissance démographique et le vieillissement de la population mondiale. En 2012, 56,8% des cas et 64,9% des décès ont été enregistrés dans les régions les moins développées et une tendance haussière très importante serait de mise, d'ici 2025.

En Algérie, dans le cadre de la planification sanitaire du pays en 1975, le cancer avait été identifié comme le 17<sup>ème</sup> problème de santé publique. C'est seulement au cours des années 2000 que les spécialistes ont pris conscience de l'ampleur du problème. A titre d'indication, lors des conférences régionales préparatoires des Assises Nationales de la Santé qui ont eu lieu en 1998, une seule région sur les cinq régions sanitaires du pays, la région Est, mentionnait le cancer comme un problème de santé majeur. Or, il est important de signaler que ces dernières années, le taux d'incidence et de mortalité du cancer ont connu dans notre pays, une progression particulièrement rapide, voire inquiétante. Depuis plusieurs années, des programmes et réalisations engageant d'énormes moyens humains et matériels. Ces efforts ont certes, généré des résultats substantiels, mais apparemment insuffisants en terme d'efficacité des parcours de soins. Le constat établi a été que l'approche médicale restait centrée sur le curatif et qu'il n'existait pas de réflexion stratégique sur l'analyse factuelle concernant le patient et son environnement ainsi que sur la prévention. De plus, les grandes mutations et innovations scientifiques, technologiques et économiques sont actuellement tellement rapides et profondes qu'elles nécessitent une vigilance soutenue pour qu'à l'avenir, et en cas de besoin, l'Algérie puisse s'adapter rapidement.

Selon l'enquête nationale réalisée par l'institut national de santé publique en 2013, les formes de cancer les plus fréquentes chez l'homme sont ceux du poumon, du côlon-rectum, de la vessie, de la prostate et de l'estomac. Ils constituent 52,5% de tous les cancers masculins. Le cancer du poumon, à lui seul, représente environ 15% des cancers masculins. Ceci confirme et consolide les tendances depuis 2001 avec la prédominance, chez l'homme, des cancers liés au tabagisme (poumon, vessie), du cancer de la prostate qui connaît une augmentation rapide depuis le début des années 2000 et des cancers digestifs, notamment les CCR. L'élévation de l'incidence du CCR se confirme, aujourd'hui, il est le 3<sup>ème</sup> cancer chez l'homme. Les formes de cancer les plus fréquentes chez la femme sont celles du sein, du CCR, de la thyroïde, du col de l'utérus, et de l'ovaire. Ils constituent 68,2% de tous les cancers féminins. Les cancers du sein (40,45%) et du col de l'utérus (12,5%) qui totalisent, à eux deux, 52,95% de tous les cancers féminins.

C'est dans ce contexte que nous avons tenté de faire l'état des lieux des CCR dans la Wilaya de Jijel. Les profils épidémiologiques des patients atteints de CCR résidants dans la Wilaya de Jijel ont été ainsi déterminés, ce qui pourrait participer au développement de stratégies pour améliorer leur prise en charge. Nous avons entrepris ce travail dans lequel, une étude rétrospective et descriptive sur 62 cas de CCR a été menée. Dans un premier temps, nous

avons cherché à déterminer l'incidence des CCR dans la wilaya de Jijel. Ainsi, nous avons colligé un total de 474 cas de cancers recensés au niveau du service d'oncologie de l'Hôpital MSB de Jijel, où les femmes représentaient 330 cas alors que 144 cas étaient des hommes. Dans notre série, nous avons observé que les CCR se plaçaient en 2<sup>ème</sup> position de l'ensemble des cancers étudiés (13%), précédés par les cancers du sein (41%) et suivis par les cancers de l'appareil respiratoire (6%) (Fig. 21).

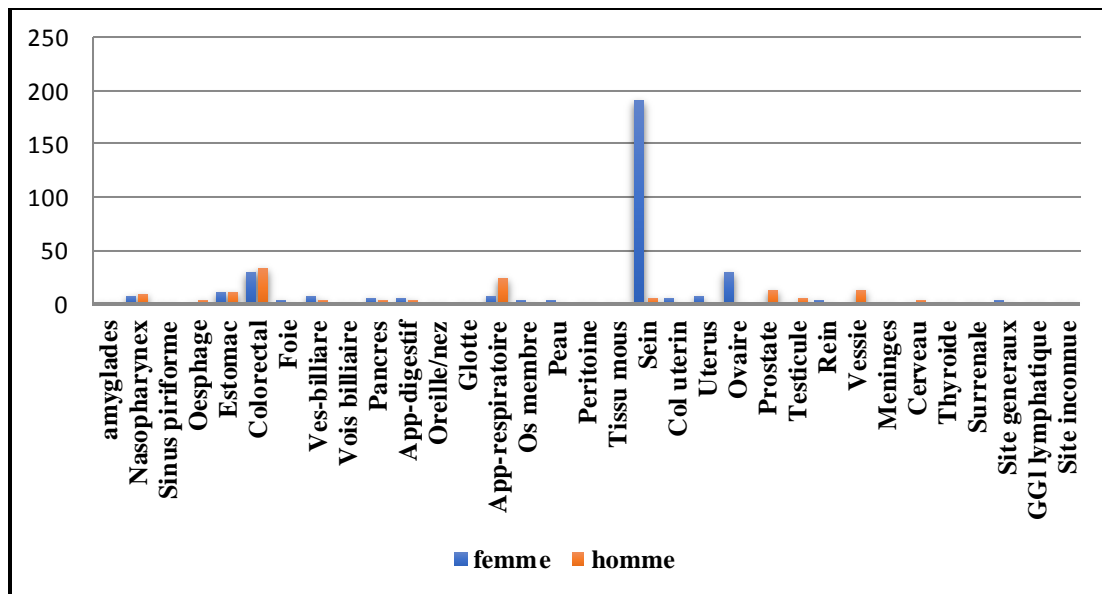


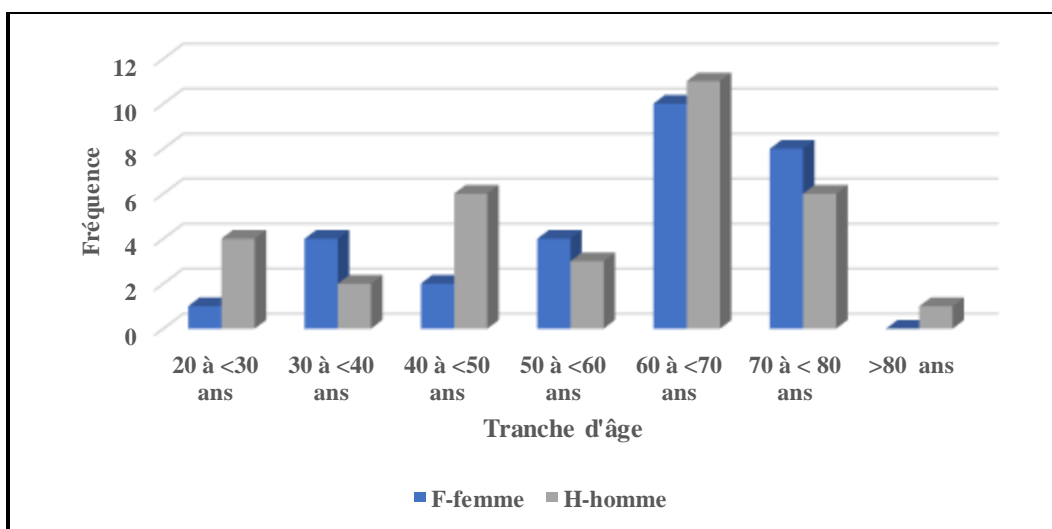
Fig. 21. Incidence des différents types de cancers en fonction du sexe. L'étude a concerné 62 cas de CCR diagnostiqués à l'Hôpital MSB au cours de la période 2012-14.

Ces résultats diffèrent de ceux rapportés par de nombreux travaux qui ont démontré que les CCR étaient les 3<sup>ème</sup> cancers les plus fréquemment diagnostiqués chez les hommes, après les cancers du poumon et de la prostate, et les 2<sup>ème</sup> chez les femmes après le cancer du sein (Zhang et al., 2015 ; Khurshid et al., 2014 ; INCa., 2012 ; Wang et al., 2012). Nous avons constaté que l'incidence des CCR représentait 52% des cancers digestifs, suivie par le cancer gastrique (16%). Ce Résultat est tout à fait concordant avec des études rapportées par El Housse et al. (2015), selon lesquelles les CCR occupaient la 1<sup>ère</sup> place des cancers digestifs.

Le risque des CCR augmente sensiblement à partir de 50 ans (Manceau et al., 2014), le CCR est beaucoup plus fréquent et l'incidence augmente exponentiellement avec l'âge (Binefa et al., 2014). Nos résultats ont montré que l'âge moyen pour tous les cancers était de 54 ans, cet âge était bas comparé à l'âge médian des cancers dans les pays développés (62 ans). L'ascension

de la courbe d'incidence s'amorçait tôt (avant 40 ans), puis évoluait de manière exponentielle (Levin et al., 2008). Dès l'âge de 60 ans, l'incidence enregistrée en Algérie s'aligne sur ceux enregistrés dans les pays développés, particulièrement ceux d'Europe du Sud. Ceci se varie autant pour les hommes que pour les femmes. Selon le 'Plan National Cancer 2015-2019', l'incidence brute des cancers en Algérie est en augmentation constante, depuis 10 ans, avec près de 128 nouveaux cas pour 100.000 hommes et 132 pour 100.000 femmes.

Dans un deuxième temps, nous avons évalué la répartition des CCR en fonction du sexe et de la tranche d'âge. Nous avons constaté que les sujets masculins et féminins représentaient 53% et 47% des cas, respectivement (Fig. 22). Ces résultats étaient similaires aux données obtenues par une étude épidémiologique menée sur les CCR à l'Ouest algérien, selon laquelle, une prédominance masculine a été constatée (54% chez les hommes et 46% chez les femmes) (Meddah et al., 2009). Le pic de fréquence des CCR pour les deux sexes se situait entre 60-70 ans, alors que la moyenne d'âge a été évaluée à 56,20 ans pour les deux sexes, et la relation âge/sexe n'était pas significative ( $p=0,45$ ). Ces résultats sont soutenus par le travail de Sentissi et al. (2010) sur une population marocaine qui rapportait un âge moyen de 54 ans pour les deux sexes. Cependant, cet âge moyen est inférieur d'une dizaine d'années par rapport à celui des populations vieillissantes des pays développés. Les patients âgés de plus de 50 ont représenté 69% de l'ensemble des patients atteints de CCR, contre 31% des patients de moins de 50 ans. De tels résultats sont similaires aux données publiées en 2012 par l'Institut National de Cancer de France et qui renforcent l'idée selon laquelle l'âge supérieur à 50 ans constitue un facteur de risque majeur de développer un CCR.



**Fig. 22. Répartition des CCR en fonction du sexe et des tranches d'âge.** L'étude a concerné 62 cas de CCR diagnostiqués à l'Hôpital MSB au cours de la période 2012-14.

Dans un troisième temps, nous avons examiné la répartition des CCR en fonction d'antécédents personnels et familiaux. Le Tableau 04 présente les principaux antécédents et états précancéreux qui prédisposaient au développement des CCR. Concernant les antécédents personnels et hormis la présence de 08 cas présentant des polypes adénomateux, nous avons observé la présence de 4 cas présentant des maladies inflammatoires, 01 cas de cancer non digestif ; les autres sujets ne présentaient pas d'états précancéreux. S'agissant des principaux antécédents familiaux prédisposant aux CCR, nous avons noté la présence de 11 cas de cancer digestif, 4 cas de cancer non digestif et aucun cas LS n'a été rencontré. De plus, 98% des cas étaient de formes sporadiques, ces résultats sont en accord avec les données rapportées par Bogaert et Prenenn (2014) qui stipulent que les CCR sont à 95% de forme sporadique et à 5% de forme familiale. Les facteurs environnementaux sont associés aux cancers sporadiques et responsables d'environ 83% des CCR (Witold et al., 2018). De nombreuses études ont fourni des preuves crédibles sur le fait que les patients atteints de diabète sucré ont un risque significativement plus élevé de développer un CCR. La metformine a été recommandée comme la première ligne de la thérapie orale pour le diabète de type 2. Certains chercheurs ont indiqué qu'elle pouvait réduire les adénomes colorectaux et le risque du cancer, d'autres ont rapporté une absence de corrélation entre la metformine et le CCR (Witold et al., 2018 ; Jung et al., 2017 ; Liu et al., 2017).

**Tableau 04. Répartition des CCR en fonction des antécédents personnels et familiaux.** L'étude a concerné 62 cas de CCR diagnostiqués à l'Hôpital MSB au cours de la période 2012-14.

<i>Antécédents</i>	<i>Nombre de cas</i>	<i>Pourcentage (%)</i>
<b><i>Personnels</i></b>		
Polypes adénomateux	08	12,90
Maladie inflammatoire	04	06,45
Cancer non digestif	01	01,61
Diabète	10	16,13
Cholécystectomie	03	04,84
Acromégalie	00	00,00
Autre	24	38,71
<b><i>Familiaux</i></b>		
Cancer digestif	11	17,74
Cancer non digestif	04	06,45
PAF	01	01,61
LS	00	00,00
Autre	08	12,90



### III.1.3. Profils cliniques

10 à 20 % des cas de CCR ont été diagnostiqués par la découverte de métastases à distance, en particulier au niveau du foie. Cependant, la majorité des cas a été révélée par des symptômes liés à la présence d'une tumeur du côlon ou du rectum (Troubles du transit, saignements digestifs, douleurs abdominales...) (Adelstein et al., 2011). Suite à l'apparition de ces symptômes, plusieurs examens ont été combinés pour établir le diagnostic précis. L'examen clinique comporte des palpations abdominales à la recherche d'une masse tumorale, des touchers pelviens qui sont, dans la plupart des cas, négatifs pour le cancer du côlon. L'examen clinique doit rechercher des signes d'extension de la tumeur et comporte la palpation du foie et des aires ganglionnaires périphériques, notamment. Tout d'abord, nous avons analysé la répartition des CCR en fonction de sept signes cliniques révélateurs (Douleurs abdominales, état général, rectorragie, syndromes rectaux, troubles du transit, anorexie et syndromes sub-occlusifs). Les douleurs abdominales sont les symptômes révélateurs les plus fréquents qui poussent généralement le malade à venir consulter le médecin. Nos résultats ont montré que 77,42% des patients ont présenté des douleurs abdominales. L'état général a été altéré chez 25,81% des patients, nous avons remarqué, aussi, une perte de poids et d'appétit, un abaissement de la tension artérielle, ainsi que d'autres signes. Le syndrome rectal a été observé chez 19,35% des cas. L'hémorragie digestive sous forme de rectorragie, un signe révélateur alarmant, a permis de révéler la présence de CCR dans 41,94% des cas. Nous avons observé le syndrome sub-occlusif chez 1,61% des cas et le trouble du transit chez 19,35% (Tableau 05). Ces résultats sont concordants avec les travaux réalisés par Konaté et al. (2012), cependant, ils contrastent avec ceux obtenus par Sentissi et al. (2010) qui ont démontré que la rectorragie était le signe révélateur le plus fréquent (57%). Néanmoins, il est très utile de constater que l'ensemble de ces paramètres cliniques témoignaient de la présence d'un état avancé de la maladie chez tous les cas.

Contrairement aux pays occidentaux dans lesquels la proportion des CCR diagnostiqués à la phase asymptomatique est estimée à 27%, c'est-à-dire à un stade précoce où le pronostic est meilleur, nous avons observé que le diagnostic des CCR dans notre Willaya était à un stade avancé, ceci est dû à l'absence de programme de dépistage précoce (Enquêtes endoscopiques et/ou génétiques) dans les familles des patients qui présentent un risque très élevé de développer des CCR. D'une façon générale, nous avons constaté une absence totale d'une politique nationale de dépistage de masse des cancers dont les CCR, ce qui explique l'augmentation constante des taux de morbidité et de mortalité de ces pathologies. Nous avons remarqué la

présence d'autres signes cliniques physiques révélateurs de mauvais pronostic tels que l'épanchement du liquide séreux dans la cavité péritonéale (l'ascite), et la présence de masse palpable, d'adénopathies et d'hépatomégalies (Tableau 05).

**Tableau 05. Répartition des CCR en fonction des signes cliniques.** L'étude a concerné 62 cas de CCR diagnostiqués à l'Hôpital MSB au cours de la période 2012-14.

<i>Paramètre</i>	<i>Nombre de cas</i>	<i>Pourcentage (%)</i>
<b><i>Signes révélateurs</i></b>		
Douleurs abdominales	48	77,42
Rectorragie	26	41,94
Altération de l'état général	16	25,81
Syndrome rectal	12	19,35
Troubles du transit	12	19,35
Syndrome sub-occlusif	01	01,61
Autre	11	17,74
<b><i>Signes cliniques</i></b>		
Masse palpable	22	35,48
Ascite	17	27,41
Adénopathie	12	19,35
Hépatomégalie	11	17,74
Anorexie	01	01,61

### III.1.4. Examens para-cliniques

Le décès par CCR est, essentiellement, lié à l'absence de dépistage. L'amélioration des procédures de diagnostic a contribué à réduire le nombre de cas des CCR (Su, 2019). Parmi les méthodes actuelles de dépistage des CCR : la coloscopie qui permet la résection et la biopsie des lésions, elle possède la plus haute sensibilité pour les polypes cancéreux et précancéreux (Jacques et al., 2019). La sigmoïdoscopie permet l'examen endoscopique, tout en examinant le rectum, le sigmoïde distal du colon descendant, cet examen peut facilement être appliqué en clinique afin d'identifier les tumeurs rectales (Lord et Hall, 2019 ; Smith et al., 2015).

L'examen endoscopique a été pratiqué sur la totalité des patients et la coloscopie était la plus utilisée (79,03%). Elle a été suivie par la recto-sigmoïdoscopie (43,55%). Ces résultats sont compatibles avec ceux rapportés par Sentissi et al. (2010), en effet, tous les patients ont été soumis à la coloscopie. Cette dernière est un examen capable d'explorer la totalité de la partie colorectale et de fournir des biopsies, alors que la recto- sigmoïdoscopie et la rectoscopie sont spécifiques de la région recto-sigmoïdienne, seulement. En outre, des examens complémentaires (Scanner et un TDM thoraco-abdomino-pelvien,...) ont été réalisés sur

l'ensemble des patients afin de rechercher des signes pulmonaires et hépato-abdomino-pelviens, Le nombre des lésions peut aider à déterminer la forme des CCR, on parle de polype sporadique (1 à quelques éléments) ou de polypose (10 à 100 éléments ou plus). La plupart des polyposes sont héréditaires et associés à un risque élevé de cancer (Benamouzig et al., 2005). Nous avons noté la présence de six cas (9,68%) ayant des lésions multiples réparties entre la partie colique (2 cas), la partie recto sigmoïdienne (1 cas) et le rectum (3 cas) et trois autres cas (4,84%) présentant une lésion unique localisée dans la jonction recto-sigmoïdienne (Tableau 06).

**Tableau 06. Répartition des CCR en fonction des données para-cliniques.** L'étude a concerné 62 cas de CCR diagnostiqués à l'Hôpital MSB de Jijel au cours de la période 2012-14. TDM-TAP : TDM thoraco-abdomino pelvien.

<i>Paramètre</i>	<i>Nombre de cas</i>	<i>Pourcentage (%)</i>
<b><i>Examens endoscopiques</i></b>		
Coloscopie	49	79,03
Recto-sigmoïdoscopie	27	43,55
Rectoscopie	15	24,19
Fibroscopie	04	06,45
<b><i>Examens complémentaires</i></b>		
Scanner abdomino-pelvien	62	100,0
TDM-TAP	62	100,0
Scanner thoracique	61	98,39
IRM	09	14,52
<b><i>Nombre de lésions</i></b>		
Néant	48	77,42
Multiple	06	09,67
Unique	03	04,83
Indéterminé	05	08,06

Les examens endoscopiques permettent de déterminer les sièges colorectaux de la tumeur, en effet, nous avons constaté que la jonction recto-sigmoïdienne était le siège le plus touché (40,32%), suivie par la localisation colique (35,48%) et le rectum (24,19%), ces résultats sont concordantes avec les travaux de Darré et al. (2014). Aussi, nous avons remarqué que ces chiffres sont compatibles avec ceux correspondants aux types d'examens endoscopiques. En effet, nous avons trouvé que le nombre des patients ayant un CCR était égale au nombre des patients qui ont subi une rectoscopie avec une différence statistique significative ( $p=0,05$ ). Un résultat similaire a également été obtenu lors de l'emploi de la recto-sigmoïdoscopie pour détecter le cancer recto-sigmoïdien où la différence statistique était hautement significative ( $p=0,0005$ ). Ces résultats confirment la spécificité de ces deux examens à la région recto-

sigmoïdienne. Par ailleurs, le nombre des coloscopies réalisées était largement supérieur au nombre des cancers de côlon, étant donné que la coloscopie n'est pas spécifique de la région colique. Elle est capable d'explorer la totalité colorectale et de fournir des biopsies, ce qui permet son utilisation comme l'examen endoscopique de référence pour le pronostic et le diagnostic des CCR. Cependant, elle est inappropriée pour la détection des adénomes de moins de 1 cm et qui nécessite d'autres examens tels que la chromo-endoscopie, une nouvelle technique endoscopique faisant appel à des colorants de contraste (Gabbani et al., 2015). Comme le montre le Tableau 07, nous avons remarqué aussi que les hommes étaient les plus touchés par le cancer du côlon (63,63%) et du rectum (73,33%), alors que les femmes étaient les plus touchées par le cancer recto-sigmoïdien (68%). La différence des sièges de la localisation entre les femmes et les hommes était significative ( $p=0,003$ ).

**Tableau 07. Répartition des CCR en fonction du siège de la tumeur.** L'étude a concerné 62 cas de CCR (les deux sexes confondus) diagnostiqués à l'Hôpital MSB de Jijel au cours de la période 2012-14.

<i>Localisation</i>	<i>Nombre de Femmes</i>	<i>Nombre d'Hommes</i>	<i>Total</i>
Recto-sigmoïdienne	17	08	25
Côlon	08	14	22
Rectum	04	11	15
<b>Total</b>	<b>29</b>	<b>33</b>	<b>62</b>

### III.1.5. Anatomopathologie et histologie

Cet examen permet de contribuer, également, à la prise en charge des patients, en évaluant le pronostic et en définissant des critères importants pour la prescription d'un éventuel traitement complémentaire postopératoire, et préciser le type histologique de la tumeur avec son grade de différenciation, et les éléments permettant de donner le pTN de la tumeur (CoPath, 2013). La répartition des CCR en fonction d'examens anatomopathologiques, est une étape importante dans le protocole d'évaluation de l'extension de la maladie. Ainsi, les examens anatomopathologiques ont été obtenus en analysant les biopsies des tissus tumoraux réséquées lors de l'endoscopie. Les données de ces examens permettent de confirmer le diagnostic des CCR et de révéler les caractéristiques spécifiques des tumeurs (Marzouk et Schofield, 2011). L'examen endoscopique a permis de déterminer l'aspect macroscopique des CCR (Tableau 08). Ainsi, l'aspect majoritaire était l'aspect infiltrant (49 cas soit 79,03%) suivi par l'aspect bourgeonnant (46 cas soit 74,19%), puis ulcérant (44 cas soit 70,97%), ces résultats contrastent

avec les conclusions de Konaté et al. (2012) qui ont démontré que la forme dominante était la forme ulcéro-bourgeonnant (50%).

Les adénocarcinomes ont représenté la variété histologique prédominante (98% des cas), ce qui est compatible avec les données rapportées par Konaté et al. (2012). Presque la quasi-totalité des adénocarcinomes était de type lieberkühnien et la proportion restante (2%) représentait des tumeurs de type sarcomes. Selon le degré de différenciation, 64,52% des patients (40 cas) présentaient des adénocarcinomes bien différenciés, 8,06% des cas étaient moyennement ou peu différenciés, 6,45% des cas étaient indifférenciés et 20,97% des cas étaient indéterminés (Tableau 08), ces proportions sont proches des valeurs rapportées par Darré et al. (2014). L'examen de l'architecture des adénocarcinomes a révélé que 11,29% des cas étaient de forme tubuleux-papillaire comme le montre le tableau 08.

**Tableau 08. Répartition des CCR en fonction des données anatomopathologiques.** L'étude a concerné 62 cas de CCR diagnostiqués à l'Hôpital MSB de Jijel au cours de la période 2012-14.

<i>Caractéristique</i>	<i>Nombre de cas</i>	<i>Pourcentage (%)</i>
<b><i>Aspects macroscopique</i></b>		
Infiltrant	49	79,03
Bourgeonnant	46	74,19
Ulcérant	44	70,97
Sténosant	19	30,65
Végétant	03	04,84
<b><i>Architecture histologique</i></b>		
Indéterminé	44	70,97
Tubuleux papillaire	07	11,29
Tubuleux	04	06,45
Tubuleux vilieux	04	06,45
Vilieux	03	04,84
<b><i>Degré de Différenciation</i></b>		
Différencié	40	64,52
Moyennement différencié	05	08,06
Indifférencié	04	06,45
Indéterminé	13	20,97

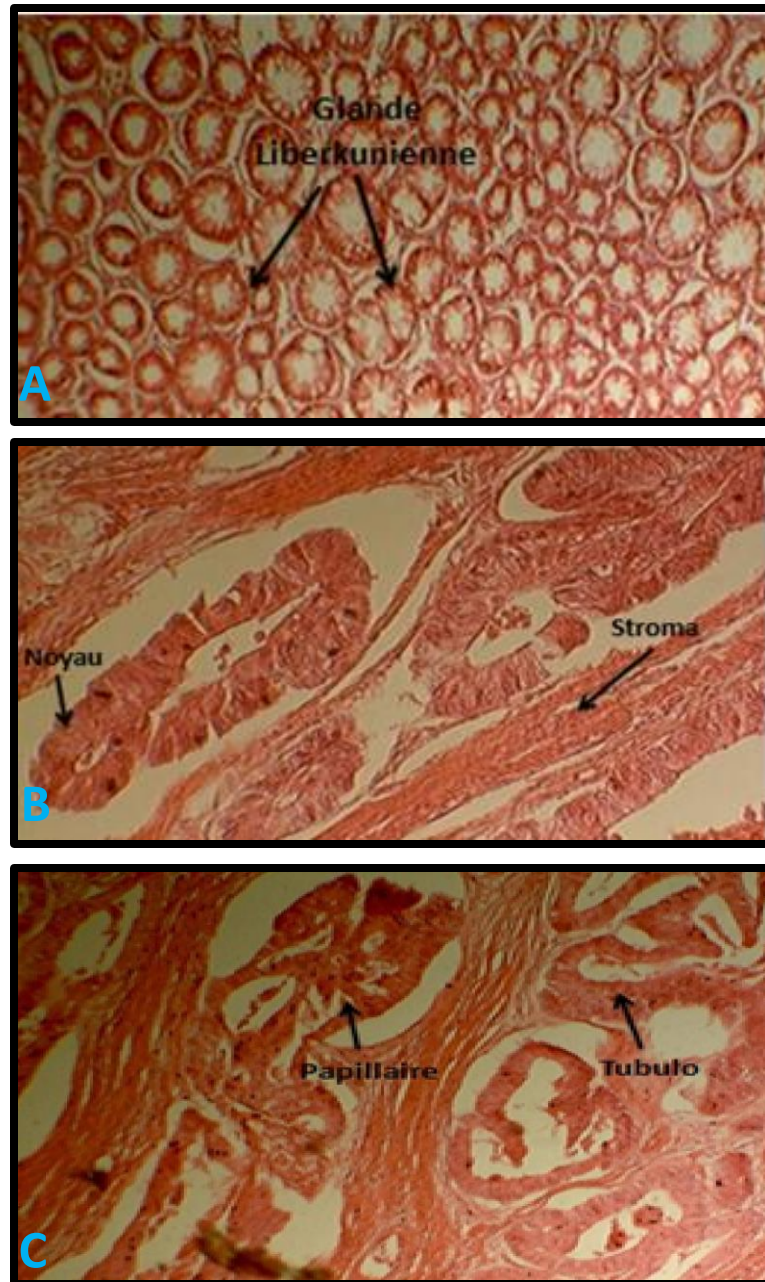
Selon la classification TNM des CCR, quatre stades ont été individualisés I, II, III et IV (Fred, 2009). L'évaluation du grade histo-pronostique TNM a permis de noter que la population étudiée (62 cas) présentait une prédominance du stade IIA (15 cas soit de 24,19%) (Tableau 09). Selon Sobin et al. (1988), au cours de ce stade, les cellules tumorales commencent à envahir la troisième couche du tissu atteint, à savoir la musculuse, sans présenter une métastase ni ganglionnaire ni à distance. Le stade IIIB partage aussi la même fréquence que celle de stade

IIA, ce qui signifie, que les ganglions lymphatiques sont atteints par ces cellules envahissant la sous séreuse. Les patients atteints de stade I, où la tumeur était localisée dans le tissu intramuqueux, ont totalisé une fréquence de 6,45%, tandis que ceux du stade IV présentaient 3,23% des cas. Ce dernier est le plus critique, il définit les CCR qui se sont étendus aux organes voisins et qui ont pu métastaser. Aussi, nous avons remarqué que la fréquence de 6,45% des patients atteints d'un état précoce des CCR était très faible par rapport à l'ensemble des cas de stades avancés (72,58%). Il est utile de rappeler que 20,97% des cas étaient indéterminés, ceci peut être expliqué par l'absence d'une politique nationale de dépistage précoce. Cependant, nous avons noté une compatibilité entre nos résultats et ceux rapportés par une étude de cohorte européenne menée par Romaguera et al. (2015).

**Tableau 09. Répartition des CCR en fonction de la classification TNM.** L'étude a concerné 62 cas de CCR diagnostiqués à l'Hôpital MSB de Jijel au cours de la période 2012-14.

<i>Classe</i>	<i>Nombre de cas</i>	<i>Pourcentage (%)</i>
Stade I	04	06,45
Stade IIA	15	24,19
Stade IIB	01	01,61
Stade IIIA	06	09,68
Stade IIIB	15	24,19
Stade IIIC	06	09,68
Stade IV	02	03,23
Indéterminé	13	20,97
<b>Total</b>	<b>62</b>	<b>100,0</b>

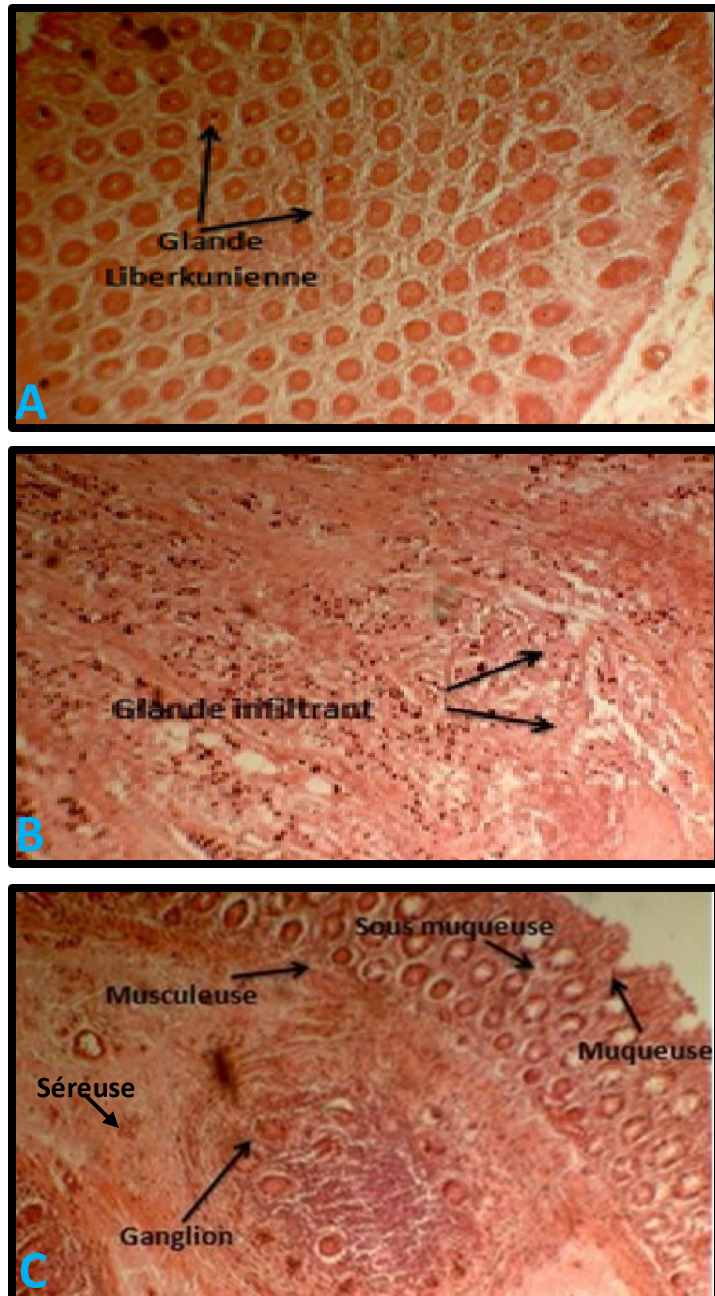
Les caractéristiques histologiques des tissus appropriés chez les patients atteints de CCR sont un moyen incontournable pour évaluer l'état d'avancement de la maladie. Afin de les caractériser, nous avons mené une étude comparative des aspects histopathologiques chez deux patients. Le 1<sup>er</sup> patient était de sexe masculin, âgé de 63 ans, atteint d'un CCR sporadique stade IIIA et présentait une métastase ganglionnaire (Fig. 24).



**Fig. 24. Analyse par microscopie optique d'un CCR, présentant une forme normale du gène KRAS.** Les tissus cancéreux et normaux d'un patient atteint d'un CCR dont le gène KRAS est non muté est analysé par microscopie optique. Grossissement (4X10). **A** : tissu sain ; **B+C** : adénocarcinome lieberkühnien différencié, d'architecture tubulo-papillaire avec noyau de taille augmenté, le stroma fibre-vasculaire et grêle par nécrose.

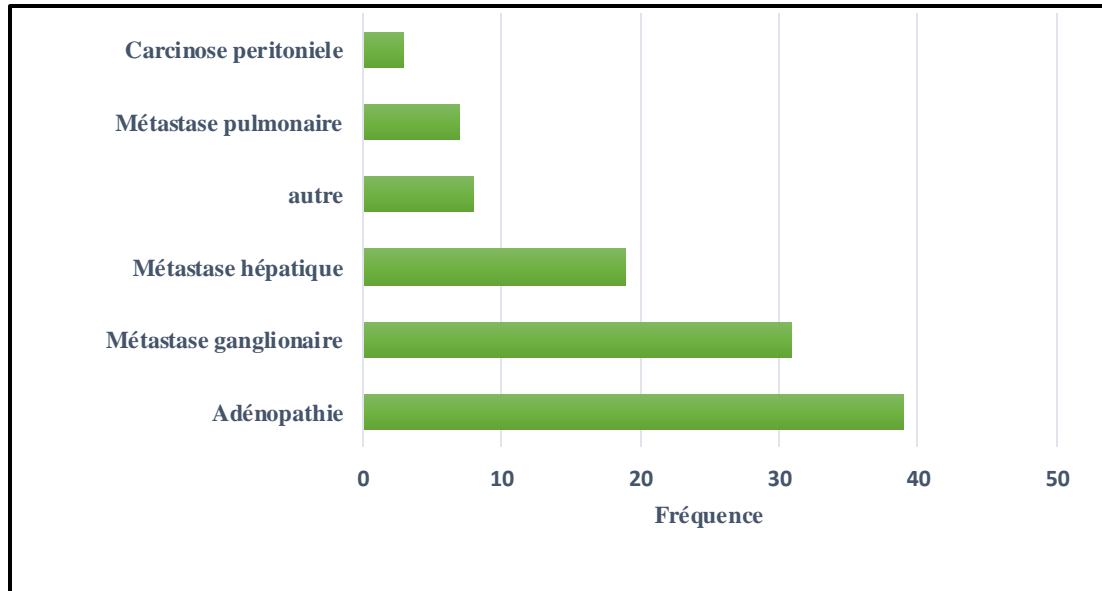
Le 2<sup>ème</sup> patient était de sexe féminin, âgé de 63 ans, atteint d'un CCR stade IIIC, présentant une mutation du gène KRAS et sans antécédent familial. La Figure 25 montre que le 2<sup>ème</sup> patient était atteint d'un adénocarcinome lieberkühnien bien différencié, les glandes

étaient de taille variable et tapissées par un épithélium pluristratifié sous forme tubulo-papillaire. Les noyaux étaient monstrueux, vésiculeux, de taille augmentée, caractérisés par la présence d'une chromatine hétérogène et d'un stroma fibro-vasculaire grêle et marqué des zones de nécrose.



**Fig. 25.** Analyse par microscopie optique d'un CCR présentant une forme mutée du gène *KRAS*. Les tissus cancéreux et normaux d'un patient atteint d'un CCR dont le gène *KRAS* est non muté est analysé par microscopie optique. Grossissement (4X10). **A** : tissu sain ; **C et D** : adénocarcinome lieberkühnien moyennement différencié, caractérisé par des glandes de taille variable et la présence d'adénopathies infiltrant de la sous muqueuse.

Enfin, le bilan d'extension permet de détecter les différentes localisations secondaires. Ainsi, nous avons observé la présence d'adénopathies (62,90%) et de métastases ganglionnaires (50%) et hépatiques (30,65%) (Fig. 26). Ceci contraste avec les résultats d'une étude française réalisée par Manfredi et al. (2006) qui ont suggéré une proportion de 14,5%, seulement.



**Fig. 26. Répartition des CCR en fonction des extensions métastatiques.** L'étude a concerné 62 cas de CCR diagnostiqués à l'Hôpital MSB de Jijel au cours de la période 2012-14

### III.1.6. Bilans biologique et moléculaire

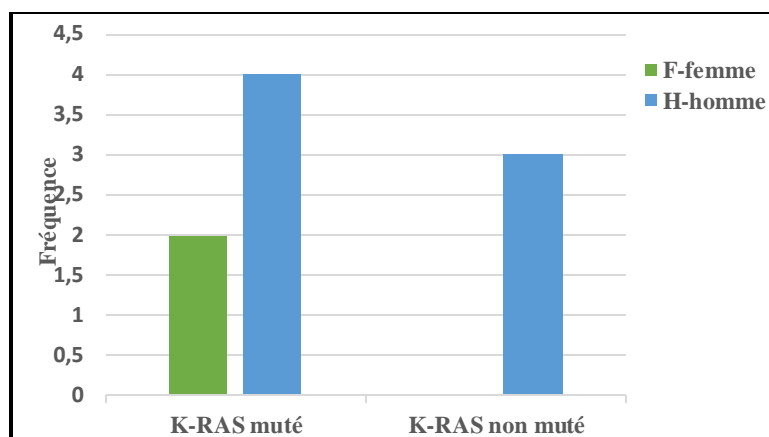
L'examen biologique consiste principalement à la mesure des marqueurs tumoraux sanguins. Les marqueurs caractéristiques du CCR sont les antigènes ACE et CA 19-9. Cependant, ils ne sont pas très appropriés en raison de leur faible sensibilité et de l'absence de spécificité, en particulier lorsque le CCR n'est pas métastasé (Song et Li, 2016). Nous avons évalué les taux des marqueurs tumoraux et hépatiques ainsi que les taux des globules blancs et rouges. Nous avons observé des taux élevés de l'ACE chez 45,16% des cas et des valeurs importantes du CA19-9 chez 25,81% des cas. L'augmentation des taux de ces deux marqueurs est un indicateur de l'état d'avancement des CCR (Strambu et al., 2014). La moitié des cas présentaient des métastases hépatiques et ganglionnaires, caractérisées par une prédominance colique de la localisation primaire, ce qui est tout à fait en accord avec les travaux de Vukobrat et al. (2013). La corrélation entre la métastase hépatique et les enzymes du bilan hépatique a été démontrée par l'existence d'une relation hautement significative ( $p=0,0001$ ) entre les

patients ayant un taux élevé de PAL (29,03%) et la métastase hépatique (30,64%). Ces résultats sont compatibles avec l'étude menée par Saif et al. (2005). Par contre, la relation avec les transaminases (ASAT et ALAT) n'a pas été significative (p=0,25). S'agissant du bilan hématologique, nous avons noté la présence d'un taux faible des globules rouges chez 46,77% des cas qui pourrait être due à la présence d'hémorragies coliques ou rectales (p=0,4) (Tableau 10).

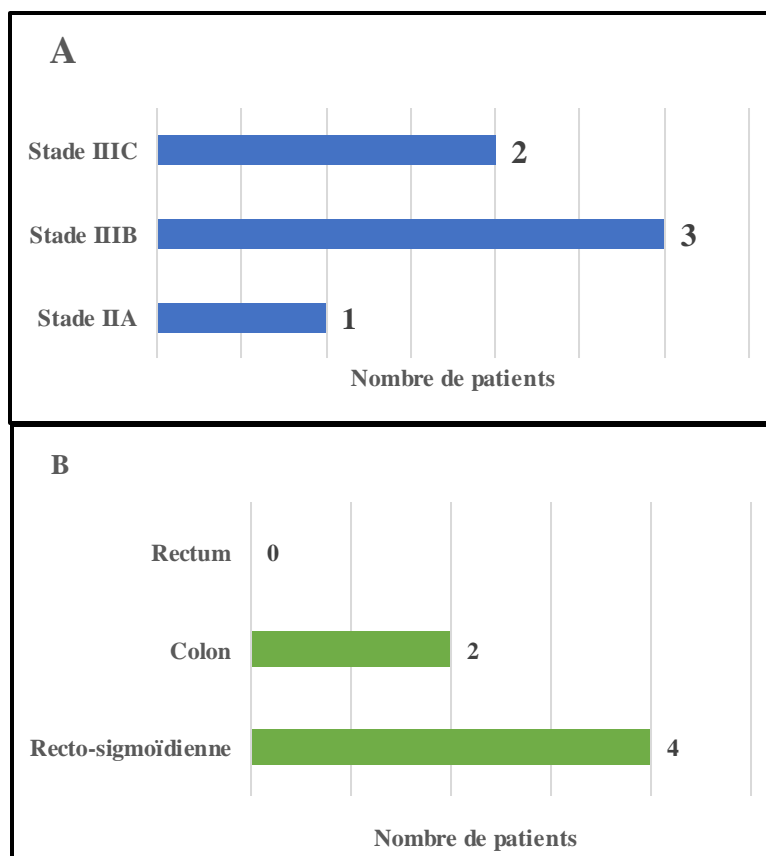
**Tableau 10. Répartition des CCR en fonction des bilans biologiques.** L'étude a concerné 62 cas de CCR diagnostiqués à l'Hôpital MSB de Jijel au cours de la période 2012-14. Taux élevé : ▲ ; taux faible : ▼.

<i>Paramètre</i>	<i>Nombre de cas</i>	<i>Pourcentage (%)</i>
<b>Marqueurs tumoraux (▲)</b>		
ACE	28	45,16
CA19-9	16	25,81
<b>Bilans hépatiques (▲)</b>		
ASAT	09	14,52
ALAT	08	12,90
PAL	18	29,03
<b>Bilans hématologiques (▼)</b>		
Globules rouges	29	46,77
Globules blanc	03	04,84

Enfin, l'analyse moléculaire de 9 cas a révélé que 6 cas présentaient des mutations du gène KRAS réparties entre l'exon 2 (5 cas) et l'exon 4 (1 cas), ces résultats sont conformes aux travaux rapportés (Knickelbein et Zhang, 2015 ; Bando et al., 2013). Les trois cas restants étaient des hommes qui ont présenté un gène KRAS non muté (Fig. 27). Ces données ont permis de confirmer l'existence d'une relation entre la mutation de l'exon 2 du gène KRAS et le sexe comme il a été précédemment démontré par Li et al. (2015) chez les patients ayant un KRAS muté, la tumeur était localisée dans la jonction recto-sigmoïdienne chez quatre patients (Fig. 28A). Les CCR étaient dans des stades tardifs, selon la classification TNM ; nous avons noté un seul cas avec le stade IIA, trois cas avec le stade IIIB et deux cas avec le stade IIIC (Fig. 28B). Nous avons observé également que plus de la moitié des patients ayant un KRAS muté (4 cas/6) présentaient une métastase ganglionnaire et des adénopathies, alors que deux cas avaient une métastase hépatique. Une autre étude a montré que la mutation du codon 12, et non pas le codon 13, de l'exon 2 du gène KRAS est associée à la métastase ganglionnaire et aux stades avancés des CCR (Li et al., 2015 ; Jing et al., 2014) et ceci est compatible avec nos résultats.



**Fig. 27. Répartition des CCR en fonction de la présence des mutations du gène KRAS.** L'étude a concerné 09 cas de CCR diagnostiqués à l'Hôpital MSB de Jijel au cours de la période 2012-14. La présence ou l'absence de la mutation du gène KRAS chez les deux sexes est mentionnée.



**Fig. 28. Répartition des CCR en fonction de la localisation et le stade de la maladie.** L'étude a concerné 62 cas de CCR diagnostiqués à l'Hôpital MSB de Jijel au cours de la période 2012-14. **A** : patients présentant une mutation du gène KRAS en fonction du stade de la tumeur. **B** : patients présentant une mutation du gène KRAS en fonction du siège de la tumeur.

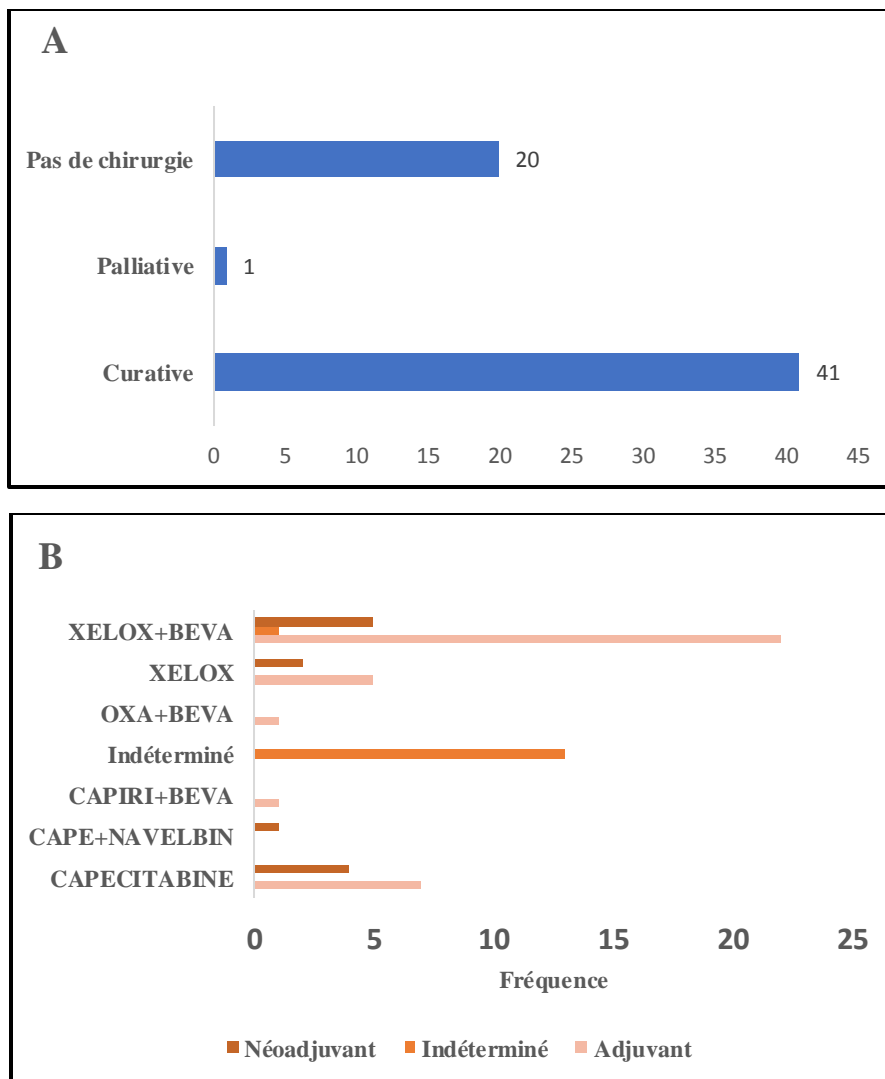
### III.1.7. Profils thérapeutiques

La chirurgie représente le principal traitement des CCR. L'intervention consiste en l'exérèse du segment colique portant la tumeur, mais peut également concerner les ganglions locaux potentiellement atteints par des micro-métastases (Daly-Schweitzer, 2011). S'il s'agit d'un CCR, le chirurgien réalise l'ablation du rectum en préservant si possible le sphincter. L'ablation du mésorectum, zone grasseuse située autour du rectum qui contient les vaisseaux sanguins et lymphatiques et les nerfs du rectum, diminue le risque de rechute. Dans certains cas une colostomie peut être nécessaire (Lecomte et Caulet, 2013). La morbidité de radiothérapie et l'absence de comparaison aux chimiothérapies actuelles, laissent peu de place à la radiothérapie dans le traitement adjuvant des cancers coliques. Pour le CCR, le but de la radiothérapie adjuvante est de réduire le risque de récurrence locale. La radiothérapie peut être délivrée en préopératoire ou en postopératoire (Pourel et al., 2014). La chimiothérapie correspond à un traitement médicamenteux agissant de manière non spécifique sur les mécanismes de la division cellulaire, la survie cellulaire, l'angiogenèse et l'invasion. Elle peut avoir lieu avant la chirurgie ce qui aura pour effet de réduire la masse tumorale (Thérapie néo-adjuvante). Administrée après intervention chirurgicale, la thérapie adjuvante est employée pour traiter les cancers les plus avancés (Daly-Schweitzer, 2011).

Le choix d'administration de la chimiothérapie adjuvante dépend évidemment de la tolérance présumée de celle-ci. Elle est envisagée en fonction de l'âge et les antécédents personnels du patient (notamment cardiologiques). Cependant, l'âge seul ne doit pas être un facteur limitant (Lecomte et Caulet, 2013). Enfin, plusieurs études sont en cours sur l'intérêt de la chimiothérapie neo-adjuvante pour les tumeurs coliques, localement avancées. Les résultats préliminaires montrent qu'elle permet à un plus grand nombre de patients de bénéficier de la chimiothérapie avec une meilleure tolérance. Depuis les années 90, la chimiothérapie cytotoxique adjuvante pendant 6 Mois est formellement indiquée, après une exérèse jugée complète des cancers du côlon au stade III (Moertel et al., 1990). Aujourd'hui, une association de 5-FU, de l'oxaliplatine et de l'acide folinique (Type FOLFOX4) est commandée (FOxTROT, 2012 ; André et al., 2006).

En revanche, l'utilisation d'une chimiothérapie adjuvante ne fait pas l'objet d'un consensus pour les stades II de la classification TNM (Varghese, 2015). Elle pourra, alors, se discuter pour les tumeurs au statut MSS, en présence des facteurs de mauvais pronostic (TNCD, 2016). Le bon pronostic des patients opérés d'un cancer du côlon de stade II avec un phénotype moléculaire MSI est un argument pour ne pas proposer une chimiothérapie adjuvante. Par

ailleurs, les thérapies ciblées de type antiVEGF et antiEGFR n'ont pas d'indication en situation adjuvante des tumeurs non métastatiques (TNCD, 2016). Nous avons cherché à établir des corrélations potentielles entre la répartition des CCR avec les différents traitements thérapeutiques utilisés en profit des patients. Nous avons constaté que 66,12% des patients ont bénéficié d'une chirurgie curative (Fig. 29A). Le seul patient qui a bénéficié d'une chirurgie palliative avait un antécédent familial de type PAF, il a subi une résection totale du côlon pour éviter le développement du cancer. Enfin, Sept patients ont fait l'objet d'une radiothérapie comme moyen de guérison.



**Fig. 29. Répartition des CCR en fonction des thérapies employées.** L'étude a concerné 62 cas de CCR diagnostiqués à l'Hôpital MSB de Jijel pendant la période 2012-14. **A** : Répartition des CCR selon le type de chirurgie. **B** : Répartition des CCR selon les agents chimiothérapeutiques employés.

S'agissant de la chimiothérapie, les patients ont été soumis à la chimiothérapie adjuvante (58,06%) et néo-adjuvante (19,35%). Le protocole le plus appliqué était XELOX+BEVA (Fig. 29B), c'est une association entre la chimiothérapie classique à base d'Oxaliplatine associée au Capecitabine (XELOX) (Kawakami et al., 2015) et la thérapie ciblée (Bevacizumab). L'addition des antimétabolites en fortes concentrations (5-fluorouracil, leucovorin, irinotecan et oxaliplatine) a permis de diminuer la dissémination des cellules tumorales par voie portale et péritonéale, et de diminuer les récurrences (Srinivas et al., 2015 ; Eric et al., 2006).

Par ailleurs, le protocole XELOX+BEVA était également le plus appliqué chez les patients ayant le gène KRAS muté. L'efficacité du traitement par Cétuximab et Panitumab varie, selon, la présence ou l'absence des mutations du gène KRAS. Plusieurs études ont montré que ces médicaments n'agissaient qu'en absence des mutations de ce gène (Chang et al., 2014 ; Heinemann et al., 2009). Ainsi, l'utilisation intense de Bevacizumab chez ces patients présentant le gène KRAS muté a été employée. La chimiothérapie combinée au Bevacizumab est plus efficace par rapport à la chimiothérapie seule, ce médicament de la thérapie ciblée, anti-VEGF est utilisé pour le traitement des CCR métastatiques. C'est un anticorps monoclonal qui cible le facteur de croissance endothélial vasculaire, l'une des principales protéines impliquées dans l'angiogenèse colorectale (Pino et Chung, 2011). Lors de sa liaison à ce facteur, il inhibe l'association avec son récepteur membranaire, donc il est responsable de l'inhibition de toutes les voies de signalisation intracellulaire impliquée dans la croissance et l'angiogenèse colorectale. Il améliore également l'action des agents chimiothérapeutiques, en favorisant l'acheminement de ces médicaments directement vers la tumeur. Il est généralement administré en association avec d'autres médicaments, (5-FU, Oxaliplatine, Irinotécan et Capécitabine) (Heinemann et al., 2009).

Les deux autres médicaments sont des anticorps monoclonaux chimériques : Cetuximab (IgG1) et Panitumab (IgG2), ils appartiennent à la thérapie ciblée anti-EGFR (Feng et al., 2014). Ces anticorps possèdent la capacité d'agir, en ciblant les récepteurs du facteur de croissance épidermique, exprimés dans 80% des CCR et impliqués dans le processus d'angiogenèse colorectale (Chiadini et al., 2015). Ces médicaments se lient sur le domaine extracellulaire de ces facteurs et bloquent leur hétérodimérisation, ce qui inhibe la signalisation cellulaire et provoque l'apoptose (Malik et al., 2015 ; Heinemann, 2009).

Dans les pays développés, les patients bénéficiaient d'une nouvelle approche thérapeutique, consistant à stimuler le système immunitaire pour combattre les cellules tumorales (immunothérapie). Il existe deux types d'immunothérapie, la première est

l'immunothérapie active spécifique qui utilise comme cible les antigènes associés à la tumeur, elle consiste à injecter au patient des cellules tumorales irradiées associées à un agent d'amplification de la réponse immunitaire spécifique (BCG : bacille de Calmette et Guérin). La deuxième est l'immunothérapie passive non spécifique qui consiste à stimuler la défense immunitaire non spécifique par perfusion d'anticorps monoclonal 17-1A (Panorex), dirigés contre la glycoprotéine de surface épithéliale (CO 17-1A) exprimée dans 80% des adénocarcinomes et des cancers sporadiques.

### III.1.8. Conclusion

Notre étude rétrospective et descriptive a reposé sur une analyse des aspects épidémiologique, clinique, par-aclinique et biologique de 62 patients atteints de CCR et qui permettrait désormais de fournir des données fiables et pertinentes sur cette maladie dans la Wilaya de Jijel. En dépit du fait que le nombre de patients étudiés était relativement limité, nos résultats ont été souvent compatibles avec les données disponibles.

Nous avons démontré que les CCR occupaient la 2<sup>ème</sup> place par rapport à l'ensemble des cancers et la 1<sup>ère</sup> place parmi les cancers digestifs avec une prédominance de la localisation colique. La tranche d'âges la plus touchée était 60-70 ans, avec une prédominance masculine et un âge moyen précoce comparativement aux pays occidentaux dont les populations sont vieillissantes. Ces résultats sont aussi concordants avec d'autres études algériennes et maghrébines auxquelles nous avons pu accéder.

De plus, nous avons constaté que le plus grand nombre des patients résidaient au Chef-lieu de la Wilaya, suivi de la région de Taher. Cette observation différentielle s'expliquerait par la sédentarité des populations concernées, l'enclavement de ces deux localités de la wilaya, ainsi, que par la singularité du mode de vie et des habitudes alimentaires adoptés par les habitants de ces deux localités. La grande majorité des CCR étaient diagnostiqués à des stades avancés, stade II et III, voir métastatique.

Par ailleurs, nous avons observé que la forme histologique majeure était l'adénocarcinome liberkihnien bien différencié et d'architecture tubuleux-papillaire. Sur le plan clinique, les patients n'ont bénéficié d'une coloscopie qu'après l'apparition des signes révélateurs de la présence de la tumeur, ce qui confirme l'absence d'un programme de dépistage précoce. Le traitement de référence des CCR a été la chirurgie, elle permet d'éliminer la tumeur, seulement, si cette pathologie est dépistée à des stades suffisamment précoces où la tumeur est

accessible à l'exérèse. Si la tumeur est non opérable, en cas des métastases, la chimiothérapie peut prendre place pour améliorer le traitement. Le 5-FU a été le médicament dominant dans l'arsenal de la chimiothérapie, il était employé, seul, ou combiné à d'autres drogues. Malheureusement, cette approche thérapeutique n'est pas sélective et inefficace. Ce qui nécessite le recours à l'immunothérapie qui utilisent des anticorps monoclonaux tels que le Bevacizumab.

## III.2. Enquête nutritionnelle sur les CCR

### III.2.1. Avant-propos

L'Algérie a connu, à partir des années 90, une transition démographique profonde et rapide qui a entraîné une modification structurelle du profil épidémiologique de sa population. La mortalité générale est divisée par 4 en espace de 50 ans et la mortalité infanto-juvénile a subi une baisse importante corrélée à une augmentation progressive de l'espérance de vie (25 ans en 50 ans). Ceci est responsable du vieillissement progressif de la population avec une part de plus en plus importante des personnes âgées de plus de 60 ans. Par ailleurs, la modification profonde du mode de vie collectif et individuel (Tabagisme, stress, sédentarité, urbanisation..) et le déséquilibre du régime alimentaire sont à l'origine de l'émergence des MNT dont le cancer fait partie. Ces pathologies constituent, aujourd'hui, plus de 80% des causes de maladies, et ont en commun un certain nombre de facteurs de risque, d'où la nécessité d'une politique commune de prévention. L'augmentation de l'incidence de cette maladie qui est passée de 80 nouveaux cas pour 100.000 habitants en 1990, à plus de 130 nouveaux cas pour 100.000 habitants en 2010.

Il est important de savoir que les facteurs environnementaux plus particulièrement l'alimentation, peuvent interagir avec le processus cancérogène et en modifier l'évolution. Il en est de même pour les récurrences des cancers traités. Il existe actuellement des arguments rapportés par les études épidémiologiques et expérimentales qui soulignent l'importance de l'aspect nutritionnel dans la prise en charge globale des patients. On peut présager la possibilité d'une thérapeutique nutritionnelle adjuvante pour améliorer la survie des malades, car en général, le suivi des conseils et l'adhésion aux traitements sont meilleurs dans cette population que chez les sujets indemnes de cancer. Des études récentes ont rapporté l'influence de l'alimentation, notamment, les apports en lipides, sur le pronostic des cancers. Le rôle joué par les facteurs nutritionnels comme facteurs de protection ou de risque des pathologies les plus répandues est de mieux en mieux compris, qu'il s'agisse des cancers ou autres pathologies. Même si la nutrition n'est pas le seul déterminant de ces pathologies, c'est un facteur sur lequel, il est possible d'intervenir, collectivement et individuellement. La dénutrition est une problématique fréquemment rencontrée en cancérologie. Les conséquences sur la survie, la toxicité des chimiothérapies et la qualité de vie, nécessitent des traitements adaptés (Khan et al., 2016). Le cancer est une maladie chronique multifactorielle. De nombreux facteurs génétiques, hormonaux et environnementaux (Tabac, rayonnement solaire, expositions professionnelles...) peuvent concourir au développement du cancer et agir à différentes phases

de la cancérogenèse. Parmi les facteurs environnementaux, l'alimentation joue un rôle essentiel et fait partie des facteurs sur lesquels, il est possible d'agir pour accroître la prévention primaire. C'est dans ce contexte que nos travaux ont été entrepris, cette deuxième partie de ma thèse a concerné les profils nutritionnels des CCR. Les différents indicateurs du mode de vie de nos patients ont été rapportés afin de mieux comprendre la progression des CCR, nous avons cherché à explorer les associations possibles entre le mode de vie et les CCR.

### III.2.2. Evaluation du mode de vie et risques de CCR

La transformation maligne des cellules de l'épithélium colorectal peut résulter d'une exposition prolongée aux carcinogènes, ainsi l'exposition environnementale associée à une prédisposition génétique peut être à l'origine de la genèse d'adénomes et donc de carcinomes. L'alimentation est un facteur important directement lié au CCR. Plusieurs études ont disséqué l'impact d'une alimentation saine et équilibrée sur la santé. Trois facteurs nutritionnels sont impliqués de façon convaincante dans la survenue de CCR (ANSES, 2011) : la consommation d'alcool, l'obésité, et la consommation de viandes et de charcuteries. En revanche, l'activité physique et la consommation de fruits et légumes sembleraient jouer un rôle protecteur. Le vieillissement de la population, le dépistage et les modifications du mode de vie (Sédentarité) ont favorisé l'augmentation de l'incidence à partir des années 80. L'incidence des CCR augmente, plus rapidement, chez les hommes que chez les femmes, après l'âge de 50 ans (INCa, 2012). Les produits de dégradation du tabac constituent un facteur de risque dans la survenue du cancer du côlon et des corrélations pertinentes entre le tabagisme et les CCR chez l'homme ont été mises en évidence (Liang et al., 2009 ; Botteri al., 2008).

Des preuves convaincantes existent concernant la diminution du risque des CCR par la pratique d'une activité physique. Plusieurs études ont rapporté l'effet protecteur de l'activité physique et la réduction (40 à 50 %) du risque de CCR (Simons et al., 2013 ; Boyle, 2012). L'activité physique totale et récréative réduit le risque du cancer du côlon, alors qu'aucun avantage n'est retrouvé pour le cancer du rectum. L'exercice volontaire peut modifier la composition du microbiote intestinal et augmenter la production d'acides gras à chaîne courte (Song et Chan, 2019 ; Queipo-Ortuño et al., 2013 ; Matsumoto et al., 2008). Cet effet bénéfique semble être lié à l'accélération du transit intestinal qui réduit l'exposition de la muqueuse digestive aux cancérogènes d'origine alimentaire. De plus, l'activité physique contribue de manière probable à diminuer le risque de prise de surpoids et de l'obésité qui sont des facteurs de risque de CCR.

Les données épidémiologiques sur le rôle de l'obésité comme facteur de risque de CCR sont concordantes. D'après une méta-analyse et des études de cohortes, l'augmentation de risque de CCR est estimée à 41% pour les individus présentant un IMC  $>30$  kg/m<sup>2</sup>, par rapport aux individus ayant un IMC  $<23$  kg/m<sup>2</sup>. Cette association est également liée à la localisation du cancer, elle est plus importante pour le cancer du côlon que pour le CCR (Ning et al., 2010 ; Harris et al., 2009). La sédentarité constitue aussi un facteur de risque du CCR. La relation entre surpoids, obésité et risque de cancer est jugée convaincante pour le CCR (AICR/WCRF, 2011). Des études sur des immigrants Japonais aux États-Unis, des immigrants Juifs Asiatiques en Israël et des immigrants d'Europe orientale en Australie ont mis en évidence l'effet possible des facteurs de mode de vie sur l'incidence du CCR. En effet, ces immigrants acquéraient les mêmes taux de CCR que leur pays d'adoption (Taylor et al., 2014).

Dans le but d'évaluer l'effet de certains facteurs du mode de vie et de la fréquence de consommation alimentaire sur l'incidence du CCR et leur implication dans certaines caractéristiques pathologiques, nous avons mené une étude cas-témoin. Parmi 108 patients, 34 ont été interrogés (34 cas contre 34 témoins), le reste était inapte ou non disponible à répondre à nos questions. Les 34 témoins sont des personnes saines appartenant à la population générale de la wilaya de Jijel.

Au cours de notre enquête, nous avons rencontré de nombreux obstacles notamment la difficulté de contacter directement les patients et les témoins. Le Tableau 11 résume les principales caractéristiques de la population étudiée. Aucune différence significative n'a été enregistrée entre les deux groupes (Cas et témoins), en termes de sexe ( $p=0,2261$ ), d'âge ( $p=0,1730$ ), d'activité physique ( $p=0,8177$ ), de profession ( $p=0,7298$ ) et de l'état matrimonial ( $p=0,6014$ ). Les antécédents familiaux avec un RC=5,2500 et une valeur  $p=0,0034$  ont été associés à l'incidence du CCR. Il a été rapporté que jusqu'à 20% des personnes qui développaient un CCR avaient d'autres membres de la famille, touchés par cette maladie. Les raisons de l'augmentation du risque ne sont pas claires, mais, elles sont probablement dues à des gènes hérités, des facteurs environnementaux partagés ou une combinaison des deux (Haggard et Boushey, 2009). Ainsi, la population ayant des antécédents familiaux du CCR doit être incluse dans les programmes de dépistage. Le faible niveau d'instruction et le faible revenu du ménage apparaissaient aussi comme des facteurs de risque dans la population étudiée. Ces deux variables sont peu associées, car des niveaux d'éducation élevés permettent souvent d'atteindre des professions plus lucratives. Le revenu du ménage inférieur à 18 000 00 Da était significativement lié à la maladie (RC=7,8386 ;  $p=0,0374$ ), après ajustement en fonction de

l'âge, l'activité physique et le tabagisme. A vrai dire, un niveau d'éducation élevé était lié à une réduction du nombre de cas de CCR (RC=0,0578 ; p=0,0075).

**Tableau 11. Description de la population étudiée.** L'étude a concerné 34 cas de CCR diagnostiqués à l'Hôpital MSB de Jijel et 34 témoins au cours de l'année 2016.

<i>Critères</i>	<i>Cas</i>	<i>Témoins</i>	<i>p-value</i>
<b><i>Sexe</i></b>	34	34	
Male	19	20	0,2261
Femelle	15	14	
<b><i>Age groupe (ans)</i></b>			
<40	6	7	0,1730
40-60	13	13	
≥60	15	14	
<b><i>Tabagisme</i></b>			
Non-fumeur	20	26	0,0174
Ancien fumeur	11	7	
Fumeur	3	1	
<b><i>Activité physique</i></b>			
Faible	4	4	0,8177
Moyenne	12	13	
élevée	18	17	
<b><i>Niveau d'instruction</i></b>			
Analphabète	8	4	0,0075
primaire	11	4	
Secondaire	2	9	
Supérieur	2	11	
<b><i>Antécédents familiaux</i></b>			
Oui	19	6	0,0034
Non	15	28	
<b><i>Revenu mensuel</i></b>			
<18 000,00 DA)	19	9	0,0374
18 000,00-50 000,00 Da	12	15	
50 000,00-100 000,00 Da	2	8	
≥100 000 Da	1	2	
<b><i>Activité professionnelle</i></b>			
Active ou employé	12	14	0,7298
Sans	12	9	
Retraité	10	11	
<b><i>Situation matrimoniale</i></b>			
Marié	30	29	0,6014
Célibataire	4	4	
Veuf ou divorcé	0	1	

Les familles à faible revenu du ménage sont souvent exposées à des facteurs de risque environnementaux tels que la mauvaise qualité d'eau et des aliments, la pollution, et le faible accès aux soins médicaux. De même, les niveaux d'éducation élevés offrent à la population l'occasion de se renseigner sur les maladies, leur étiologie, les facteurs de risque associés et leurs symptômes, contribuent, ainsi, à réduire de manière incidente cette charge de santé publique. De plus, les personnes bien éduquées sont plus susceptibles d'accepter de procéder

au diagnostic, et éventuellement, au traitement, de nombreuses maladies restent encore un sujet tabou pour les sujets peu instruits.

Le tabagisme est également un facteur de risque de développer des CCR, car un effet protecteur a été obtenu, en comparant les non-fumeurs aux anciens fumeurs ( $RC=0,0751$  ;  $p=0,0174$ ), après ajustement en fonction du niveau d'instruction, du revenu du ménage et de l'histoire familiale. Il est bien connu que le tabagisme est associé au risque plus élevé de formation d'adénomes coliques et à l'augmentation de l'incidence des CCR (Bishehsari et al., 2014). La fumée de tabac comprend de nombreuses substances pro-cancérogènes telles que les amines aromatiques, les nitrosamines, les amines hétérocycliques et les hydrocarbures aromatiques polycycliques. Ces substances sont métabolisées par le biais des cytochromes P450, pour des métabolites intermédiaires capables de former des adduits d'ADN et des mutations génétiques supplémentaires (Durko et Malecka-Panas, 2014). Le tabagisme tend à diminuer dans les pays développés, en raison des restrictions imposées aux producteurs et aux fumeurs, mais, il continue d'augmenter dans notre pays, principalement, chez les adolescents et les femmes. Ainsi, il représenterait une énorme charge dans la politique de santé publique au cours des prochaines décennies, si des mesures palpables rapides ne sont pas mise en œuvre. Les personnes peu éduquées et à faible revenu doivent être une cible privilégiée de programmes de sensibilisation contre les dangers de la cigarette. Selon, les données bibliographiques, le risque du CCR est accru chez les fumeurs et le taux de mortalité dans ce groupe est de 25% plus élevé que chez les non-fumeurs (Witold et al., 2018). Le tabac contient des substances cancérogènes qui sont censées créer des lésions génétiques irréversibles à la muqueuse colorectale, initiant la formation de polypes colorectaux. L'association entre le tabagisme et le risque de polypes est prédominante, le risque de développer des polypes est au moins 2 à 3 fois plus élevé chez les fumeurs (Oines et al., 2017 ; Botteri et al., 2008 ; Giovannucci, 2001).

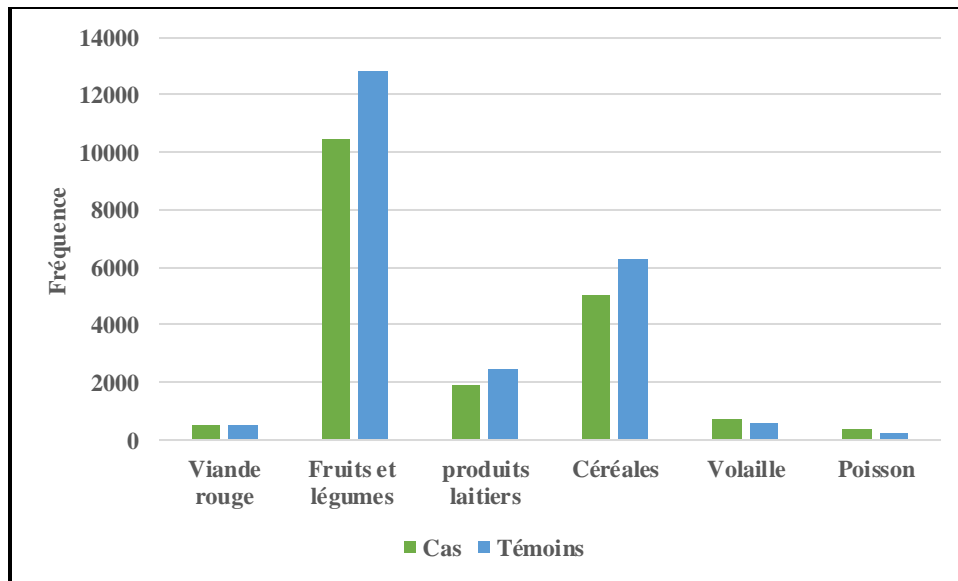
Les facteurs de risque favorisant la survenue des cancers sont communs aux MNT. La prévention des facteurs de risque des MNT est un axe majeur de la politique de santé de notre pays. Elle s'appuie sur les résolutions de l'OMS en la matière et la déclaration politique de la réunion de haut niveau des Nations Unies sur la prévention et la maîtrise des MNT, tenue en septembre 2011. Elle s'est traduite par l'adoption d'un plan stratégique national de lutte intégrée contre les facteurs de risque des MNT 2014-2018 et la création récente par décret exécutif du Comité National Multisectoriel de Prévention et de Lutte Intégrée contre les facteurs de risque des MNT. Parmi ces facteurs de risque, on peut citer le tabac comme facteur qui peut être évitable, d'où l'intérêt d'agir de manière conséquente pour réduire sa prévalence et préserver

la santé des individus. La relation de cause à effet entre la consommation de tabac et la survenue de cancers n'est plus à démontrer. En Algérie, le tabagisme est principalement responsable de : 70 % des cancers de la trachée, des bronches et du poumon ; 42% des cancers de la bouche et de l'oropharynx ; 42 % des cancers de l'œsophage ; 28 % des cancers de la vessie ; 22% des cancers du pancréas.

### III.2.3. Corrélations entre fréquences de consommation et incidence des CCR

Les enquêtes alimentaires sont des méthodes développées pour évaluer les apports alimentaires d'un individu ou d'un groupe d'individus. L'évaluation des apports alimentaires est utilisée dans l'épidémiologie et la pratique clinique. L'objectif principal de l'épidémiologie nutritionnelle est de mettre en relation les modes de consommation alimentaire et le risque de développer certaines pathologies. Les enquêtes permettent ainsi de cerner des nutriments, des aliments ou des profils de consommation plus ou moins bénéfiques ou néfastes à la santé. L'élaboration des apports nutritionnels conseillés pour la population, des doses toxiques maximales tolérables ou encore des guides de recommandations pour l'alimentation repose aussi sur les données des enquêtes alimentaires réalisées à grande échelle. En clinique, l'évaluation des apports alimentaires fait, entre autre, partie de la prise en charge des maladies «liées à la nutrition», mises en évidence par l'épidémiologie nutritionnelle. Les facteurs alimentaires sont considérés comme des facteurs importants dans l'apparition du CCR et les différences entre ces facteurs semblent contribuer à la variation de l'incidence du cancer entre les pays (Chun et al., 2015).

Nous avons évalué le lien entre la fréquence de consommation de certains groupes d'aliments (viande rouge, fruits et légumes, céréales, produits laitiers, volaille et poissons) et l'incidence du CCR dans la wilaya de Jijel. La Figure 30 montre la fréquence de consommation de ces groupes d'aliments. Bien qu'il semble que la fréquence de consommation de viande rouge soit plus élevée dans le groupe des patients, nous n'avons pas trouvé de lien significatif entre l'incidence du CCR et la fréquence de consommation de viande rouge (RC=1,0050 ; p=0,8003). L'étude a aussi été exécutée, après ajustement incluant le groupe d'âge et le niveau de revenu du ménage, cependant, cette association non significative est restée inchangée (RC=1,0392 ; p=0,1210).



**Fig. 30. Répartition de consommation des différents groupes d'aliments.** L'étude a concerné 34 cas de CCR diagnostiqués à l'Hôpital MSB de Jijel et 34 témoins au cours de l'année 2016.

Nous avons constaté qu'il n'y avait pas d'association significative entre la consommation de viande rouge et l'incidence du CCR. Ce résultat n'est pas conforme aux résultats obtenus par de nombreuses études, selon les quelles, la consommation de viande rouge était un facteur de risque. La consommation de viande rouge 2 à 3 fois et plus par mois constitue un facteur de risque qui augmentait les chances de développer des CCR (Iswarya et al., 2016). Les gros consommateurs de viande totale, de viande rouge et de viande transformée présentent des risques élevés à développer des CCR (Stefani et al., 2016 ; Chun et al., 2015). De plus, la consommation de viande rouge fraîche était associée aux risques modérément accrus de CCR (English et al., 2004), mais qu'elle était peu associée au risque du cancer du côlon dans une méta-analyse mise à jour et développée, ont observé des sommaires d'associations pour la viande rouge et le CCR qui étaient nulles ou juste au-dessus de la valeur nulle dans pratiquement tous les modèles (Alexander et al., 2015).

De nombreuses hypothèses mécanistiques ont été avancées pour tenter d'expliquer ce lien entre viandes rouges, charcuteries et CCR, mis en évidence par l'épidémiologie. Le mécanisme exact reste inconnu, mais plusieurs composés des viandes rouges et des charcuteries sont potentiellement pro-cancérogènes : les graisses, les protéines, le fer héminique, les composés N-nitrosés, et les mutagènes formés pendant la cuisson des viandes tels que les amines hétérocycliques ou les hydrocarbures aromatiques polycycliques (Gay et al., 2012). Cette différence dans nos résultats pourrait s'expliquer par l'absence de certains facteurs

importants, principalement la quantité de viande rouge consommée et le mode de cuisson. Joshi et Lee. (2014) ont argumenté qu'en ignorant les méthodes de cuisson et qu'aucune association statistiquement significative avec le CCR n'était observée pour les viandes rouges non transformées et le total de la viande rouge transformée. Cependant, une association positive avec le CCR a été observée pour le steak de bœuf à la poêle ( $P < 0,001$ ) et les côtes levées ou les côtes levées grillées au four.

Nous avons observé une consommation plus fréquente des fruits et légumes chez les témoins. Cette différence ne peut pas être appréciée statistiquement comme toute différence significative ( $RC=0,9978$  ;  $p=0,1525$ ). Ce résultat non significatif subsiste, après ajustement vis-à-vis de l'âge, le sexe, l'activité physique, le revenu du ménage et le tabagisme ( $RC=0,9971$  ;  $p=0,1228$ ). Les fruits et les légumes sont riches en fibres alimentaires, bien qu'il y a d'autres sources importantes telles que les céréales non raffinées, on pourrait s'attendre à ce que si les fibres alimentaires réduisent le risque du CCR, une réduction du risque serait alors associée à des apports élevés de fruits et légumes (Key, 2011). Une alimentation riche en fruits et légumes est associée à une diminution du risque de CCR avec un niveau de preuve probable (AICR/WCRF, 2011). Nos résultats ont démontré une petite association inverse, statistiquement non significative, entre la fréquence de consommation de fruits et légumes, et l'incidence du CCR. Cette observation était en accord avec les conclusions d'une étude de cohorte prospective qui ont rapporté peu de preuves de l'association entre la consommation de fruits légumes et le CCR. De plus, la consommation de fruits et légumes n'était pas fortement associée au risque du cancer du côlon, mais, pouvait être associée à un risque plus faible de cancer du côlon distal (Koushik et al., 2007). L'association entre la consommation de fruits et légumes, et le risque de CCR n'est pas concluante (Tayyem et al., 2014). La consommation de fruits était inversement associée au risque du CCR, alors que la consommation des légumes n'était pas significativement liée au risque (Vogtmann et al., 2013). Une étude EPIC (European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition) suggère qu'une consommation élevée de fruits et légumes est associée à un risque réduit du CCR, en particulier, du cancer du côlon et cet effet peut dépendre du statut du tabagisme (Van Duijnhoven et al., 2009). Nomura et al. (2008) ont présenté la consommation de fruits et légumes comme étant inversement liée au risque de CCR chez les hommes, mais, pas chez les femmes. L'association semble plus forte pour le cancer du côlon que pour le CCR. Contrairement aux pays développés, la fréquence de consommation de fruits et légumes dans notre société est influencée, principalement, par la disponibilité du marché et le revenu des familles, plutôt que, par les préférences gustatives ou

par des raisons idéologiques. Ainsi, ces facteurs doivent être pris en compte lors de l'analyse des effets de la consommation de fruits et légumes sur l'incidence des maladies telles que le CCR.

Par ailleurs, nous avons constaté que la consommation de produits laitiers n'avait pas d'effet protecteur significatif (RC=0,9808 ; p=0,0580). L'effet protecteur est devenu significatif lorsque nous avons ajusté la fréquence de consommation des produits laitiers à celle des groupes de viande rouge, de fruits et légumes, de poisson et de céréales (OR=0,9808 ; p=0,0437). Cependant, Park et al (2009) ont signalé une diminution du risque du CCR chez les personnes consommant beaucoup de produits laitiers. Nous avons noté que la fréquence de consommation des produits laitiers est plus importante chez les témoins, essentiellement, parmi ceux ayant plus de soixante ans. En outre, nous avons constaté une fréquence de consommation des céréales plus importante chez les témoins qui leur procure un effet protecteur significatif (RC=0,9865 ; p=0,0100) (Fig. 30). Une méta-analyse a permis de démontrer une association inverse entre le risque de développer des CCR et la consommation de fibres alimentaires, de fibres de céréales et de grains entiers, elle suggérait qu'un apport élevé en fibres réduirait le risque de CCR (Aune et al., 2011). Les aliments à base de grains entiers sont des sources importantes de fibres alimentaires et peuvent réduire le risque du CCR en augmentant le volume des selles, en diluant les substances cancérigènes fécales et en réduisant le temps de transit, réduisant ainsi le contact entre les substances cancérigènes et la muqueuse du colorectal. De plus, la fermentation bactérienne des fibres entraîne la production d'acides gras à chaîne courte, qui peuvent avoir des effets protecteurs contre le CCR. De même, les céréales sont la majeure source alimentaire d'hydrocarbures aromatiques polycycliques et ne sont pas non plus associées au risque de CCR. Beaucoup d'études épidémiologiques ont cherché si le risque associé aux amines hétérocycliques ne serait pas modulé par certains polymorphismes. En effet, les substances cancérigènes sont pour la plupart des xénobiotiques, c'est-à-dire des composés ne faisant pas partie des constituants naturels des organismes vivants (AICR/WCRF, 2011).

Aussi, nous avons constaté que la fréquence de consommation de volaille est plus élevée dans le groupe des patients (Fig. 30). Toutefois, ce résultat n'est pas statistiquement significatif (RC=1,0375 ; p=0,1255), même, lorsque nous avons ajusté le RC, en fonction de l'âge, du sexe et du revenu du ménage (RC=1,0402 ; p=0,1564). Il a été rapporté qu'il n'y avait pas d'association entre les régimes alimentaires riches en volaille et le risque du CCR (Joshi et Lee, 2014). Plusieurs études de cohorte prospectives ont signalé des associations inverses entre la consommation de volaille et le CCR, bien qu'un certain nombre d'autres aient signalé des

associations positives (Miller et al., 2013). Comme pour la viande rouge, la quantité de volaille consommée et la méthode de cuisson jouent un rôle dans ces disparités de résultats.

Concernant la fréquence de consommation de poissons (Fig. 30). Nous avons constaté que les patients consommaient plus de poissons que les témoins, mais, ce résultat n'est pas très significatif sur le plan statistique (RC=1,026 ; p=0,1138). Après ajustement pour les co-variables des autres groupes d'aliments, une association significative a été obtenue (RC=1,0665 ; p=0,0392). Une étude cas-témoins sur une population chinoise du Guangdong (1189 cas et 1189 témoins), l'association entre la consommation des poissons et le risque du CCR a été examinée. Les résultats ont montré qu'une consommation plus élevée de poissons frais, y compris les poissons d'eau douce et de la mer était corrélée à un risque réduit du CCR (Xu et al., 2015). La consommation de poissons semble avoir un effet protecteur, en effet, le risque de cancer du côlon dans cette étude passe de 1,86% chez les faibles consommateurs de poissons (Moins de 14g/j) à 1,28% chez les gros consommateurs (Plus de 50g/j).

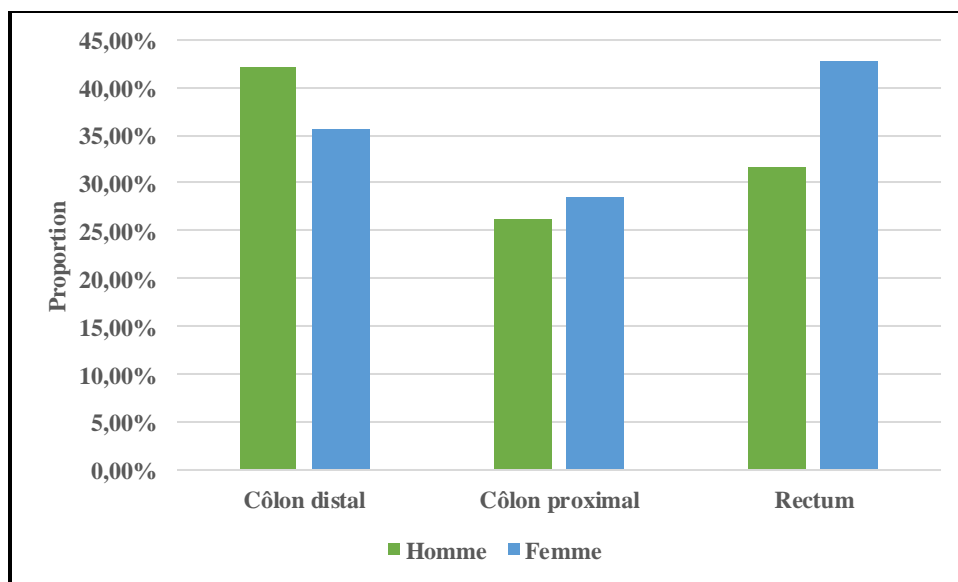
#### III.2.4. Corrélations entre fréquence de consommation et localisation des CCR

Le CCR était auparavant classé comme proximal (Cæcum, côlon ascendant et côlon transverse) et distal (Côlon descendant, côlon sigmoïde, recto-sigmoïde et rectum) (Gonzalez et al., 2001). Le cancer du rectum est spécifiquement traité comme un type unique du CCR (Li et Lai, 2009). Il existe de nombreuses différences entre les trois sous-sites, telles que les différences embryologiques, morphologiques et biochimiques. De plus, les tumeurs du côlon proximal et distal diffèrent par leur nature génétique (Li et Lai, 2009). Les comparaisons entre différentes classes de sites tumorales ont montré que les tumeurs proximales du côlon ont généralement des caractéristiques moléculaires différentes et une plus grande proportion de MSI. De plus, elles sont plus susceptibles de présenter un phénotype de CIMP et des mutations du gène KRAS que les tumeurs distales du côlon et du rectum. Cependant, des scientifiques ont suggéré que le cancer du côlon droit (Proximal) est plus agressif que le cancer du côlon gauche (Distal) et que les patients atteints d'un cancer du côlon proximal sont le plus souvent des femmes.

Dans les cancers avancés, les tumeurs coliques proximales sont le plus souvent plates, tandis que les tumeurs coliques distales sont de type polypoïde (Hjartåker et al., 2013). L'analyse de la distribution des sous-sites tumoraux, en fonction du sexe, nous a permis de démontrer la prédominance des tumeurs du côlon distal chez les hommes et des tumeurs du

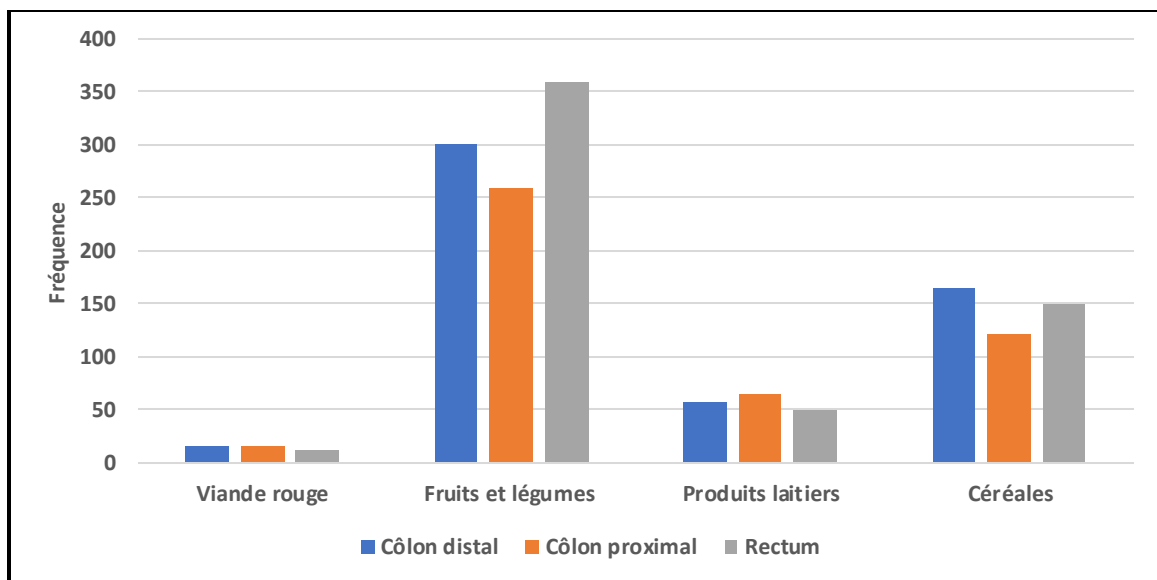
côlon proximal et du rectum chez les femmes (Fig. 31). Nos résultats étaient en accord avec les données rapportés par Hansen et Jess (2012) et Gonzalez et al. (2001). Ils ont suggéré que l'augmentation du risque de développer le cancer du côlon proximal chez les femmes comparativement aux hommes. Par conséquent, le pronostic est mauvais chez les femmes âgées. Ainsi, la détection de facteurs associés à une telle hétérogénéité entre différents sous-sites colorectaux revêt une grande importance à propos du dépistage et les options thérapeutiques.

Les facteurs environnementaux tels que le régime alimentaire et la consommation d'alcool diffèrent également par leur rôle dans le développement des tumeurs dans les trois segments, (Proximal, distal et rectum) (Li et Lai, 2009). Nous avons évalué cet effet, en mesurant, la fréquence de consommation de certains groupes d'aliments entre les cas par rapport au sous-site tumoral (Fig. 32). Nous avons constaté que les tumeurs du côlon proximal étaient liées à une faible consommation de fruits, de légumes et de céréales avec une forte consommation de produits laitiers. Inversement, les tumeurs du côlon distal et du rectum semblaient être liées à la consommation de fruits, légumes et céréales. La consommation de viande rouge semblait n'avoir aucun effet sur l'apparition de sous-site tumoral.



**Fig.31. Fréquence des CCR selon les sous-sites tumoraux.** L'étude a concerné 34 cas de CCR diagnostiqués à l'Hôpital MSB de Jijel et 34 témoins au cours de l'année 2016. Les deux populations (Cas, témoins) ont été réparties en fonction des trois sous-sites tumoraux (distal, proximal, rectum)

La consommation de viande rouge transformée augmente significativement le risque du cancer du côlon distal, mais, pas du cancer du côlon proximal (Larsson et Wolk, 2006). Par contre, une tumeur plus proximale s’est développée chez des consommateurs de viande rôtie, au moins, une fois par semaine (Welfare et al., 1997). Il est donc primordial de déterminer le mode de cuisson et la quantité de consommation pour atteindre des résultats pertinents sur le risque exact inhérent à la consommation de viande rouge. Du point de vue mécanique, les taux de composés N-nitrosés cancérigènes, sous-produits du métabolisme de la viande rouge, semblent être plus élevés dans les tissus du côlon distal et du rectum que dans ceux du côlon proximal (Hjartaker et al., 2013).



**Fig. 32. Fréquence de consommation d’aliments selon le siège de la tumeur.** L’étude a concerné 34 cas de CCR diagnostiqués à l’Hôpital MSB de Jijel et 34 témoins au cours de l’année 2016.

On présume que la consommation totale de fruits et légumes combinés est inversement associée aux cancers du côlon et du rectum (Terry et al., 2001). Cette association est plus forte pour les tumeurs coliques distales que pour les tumeurs coliques proximales (Voorrips et al., 2000). Ces données peuvent être expliquées par l’effet de la fermentation des fibres qui se produisent, principalement, dans le côlon proximal, conduisant à la formation d’acides gras à chaîne courte tels que l’acide acétique. De plus, les fibres peuvent diluer la concentration de cancérigènes dans le côlon distal (Hjartaker et al., 2013). Ainsi, nos résultats devraient prendre en compte d’autres facteurs environnementaux, tels que, l’utilisation non rationnelle des pesticides en agriculture qui peut accroître le risque du CCR (Lo et al., 2010). Dans une étude

portant sur des hommes suédois, le risque du cancer du côlon distal est considérablement réduit chez les personnes consommant au moins 1,5 verres de lait/j par rapport à celles consommant moins de 2 verres/semaine (Larsson et al., 2005). Une autre étude suédoise chez les femmes sur les produits laitiers riches en matière grasse, rapporte une corrélation inverse significative entre la consommation de lait entier et le risque du cancer du côlon distal ( $p=0,03$ ).

Une augmentation significative du risque du cancer du côlon proximal a été observée chez les femmes consommant du lait entier (Plus d'une ration/j, par rapport au non consommateurs) (Larsson et al., 2005). L'interprétation de nos résultats doit considérer différentes caractéristiques particulières de notre société. Le polymorphisme génétique peut expliquer les différences entre les résultats obtenus. De nombreuses études ont été consacrées aux effets modificateurs potentiels des variantes génétiques (polymorphisme nucléotidique), sur la relation entre les facteurs alimentaires et le risque de CCR (Figueiredo et al., 2014). En combinaison avec les facteurs alimentaires et génétiques, le polymorphisme génétique peut influencer sur le niveau d'absorption alimentaire, ce qui peut avoir un effet sur le risque de cancer (Park et Kim, 2015). Aussi, il peut moduler le métabolisme des produits cancérigènes, par exemple, les acétylurs rapides pourraient activer plus facilement les hétérocycles aromatiques à leurs formes cancérigènes ultimes, augmentant le risque des CCR (Budhathoki et al., 2016).

La qualité nutritionnelle des différents groupes d'aliments peut différer considérablement d'un pays à l'autre, notamment, en raison du non-respect des normes de cueillette, conservation, transformation des fruits et légumes, des céréales, du lait et des produits carnés. L'utilisation d'additifs chimiques ajoute une autre dimension au problème, car les industries les utilisent de manière anarchique. La pollution due à l'utilisation excessive de pesticides et l'activité industrielle humaine pourrait être un autre facteur impliqué dans les disparités des résultats.

### III.2.5. Conclusion

Le CCR est l'un des cancers les plus répandus dans le monde entier. Au cours des dernières décennies, son taux d'incidence en Algérie a augmenté de manière graduelle et stable, suite à la transition socio-économique que connaît le pays. L'alimentation est le facteur exogène le plus important à identifier dans l'étiologie du CCR. En adoptant un mode de vie sain, près de 70 % des CCR pourraient être évités (Xu et al., 2015). Par ailleurs, il est primordial d'évaluer l'effet des différents groupes d'aliments et leur fréquence de consommation sur son incidence.

Dans notre travail, nous avons étudié la corrélation, de certains facteurs socio-économiques, fréquence de consommation de six groupes d'aliment et le CCR dans la wilaya de Jijel. Pour ce faire, nous avons mené une étude cas-témoins chez 34 patients atteints de CCR pris en charge à l'Hôpital MSB. En les comparant avec les 34 témoins, les résultats ont révélé que le niveau d'instruction élevé (RC=0,0578 ; p=0,0075), le faible revenu des ménages (RC=7,8386 ; p=0,0374), le tabagisme (RC=0,0751 ; p=0,0174) et les antécédents familiaux (RC=5,2500 ; p=0,0034) peuvent être associés au risque de développer des CCR. L'effet protecteur de la consommation de produits laitiers (RC=0,9808 ; p=0,0437) et des céréales (RC=0,9865 ; p=0,0100) a été observé, alors que, la consommation de poisson semble être corrélée positivement avec le CCR (RC=1,0665 ; p=0,0392). En conclusion, outre le fait que nos résultats ne montrent pas un impact majeur de l'alimentation sur l'incidence du CCR dans la région, ce travail représente une introduction à l'étude de l'effet des facteurs environnementaux, principalement, l'alimentation, sur la survenue du CCR en Algérie. Les résultats obtenus doivent être complétés par d'autres études, prenant en compte, d'autres facteurs tels que la pollution et la qualité nutritionnelle des aliments. Ces études apporteront des analyses pertinentes pour la prévention.

### III.3. Expression de deux gènes régulateurs de l'énergie cellulaire

#### III.3.1. Avant-propos

La cellule a développé des mécanismes qui lui permettent de réprimer ou d'activer l'expression des gènes selon les conditions environnementales (stress ou autre). Cette régulation permet, entre autres, à l'organisme d'adapter son métabolisme à son environnement, mais surtout, il permet l'expression différentielle du génome selon la spécialisation de la cellule ou la période du développement cellulaire. Au cours de l'expression des gènes, toutes les étapes, en partant de la séquence d'ADN jusqu'au produit final, ARN ou protéine, sont régulées par divers mécanismes. Ainsi, la transcription, puis la traduction, mais aussi les étapes de maturation et les produits eux-mêmes, sont soumis à des mécanismes de régulation permettant de moduler, d'accroître, ou de décroître la quantité d'ARN et de protéines synthétisées. La disponibilité des facteurs de transcription influe sur le taux de transcription (Williams et al., 2009). Le dernier niveau de régulation, la régulation post-traductionnelle, se réfère au contrôle de la quantité des protéines actives, par la régulation de l'expression du gène codant cette protéine ou de sa stabilité. La protéine produite peut ainsi être modifiée chimiquement. Ces modifications peuvent jouer sur sa conformation spatiale et donc sur son activité.

La recherche de marqueurs du cancer ne se focalise, désormais, plus sur la seule identification d'anomalies génétiques. La recherche d'altérations de la transcription de gènes constitue une autre approche originale et complémentaire pour une recherche plus pertinente de nouveaux marqueurs de prédisposition et de progression tumorale, et de facteurs pronostiques. Ces recherches font appel à des stratégies systématiques basées sur des technologies fiables, rapides et automatisées. Le criblage différentiel sur filtres HD de séquences partielles d'ADNc «EST» fait partie de cette panoplie d'approches. Dans les années 80, la Biologie est entrée dans l'ère de la génomique (Adams et al., 1991). Dans les années 90, est apparue une approche plus réaliste orientée vers l'étude des régions codantes du génome appelées «transcriptome» (Adams et al., 1991). Le transcriptome d'une cellule, c'est-à-dire l'ensemble des ARNm responsables du phénotype cellulaire. Cette approche repose sur le séquençage partiel et systématique de milliers de clones d'ADNc et sur l'étude de leur expression.

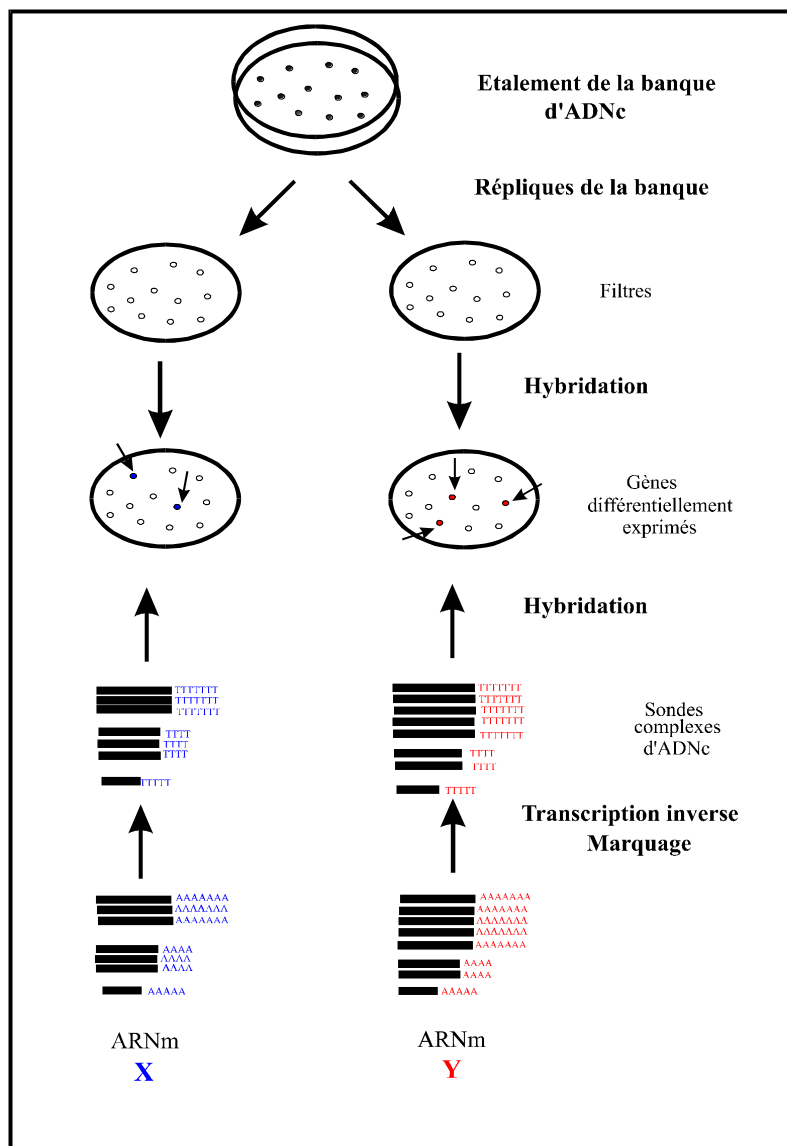
Dès le milieu des années 1980, Sydney Brenner est partisan du séquençage des ADNc pour obtenir des résultats plus immédiats (Karn et al., 1983). En effet, les séquences codantes des gènes représentent la grande majorité de l'information contenue dans le génome humain et seulement 3 % de l'ADN. La séquence des ADNc est donc un moyen d'accès aux informations,

plus rapide que la séquence génomique. De plus, les ADNc sont la preuve irréfutable que les gènes identifiés par la séquence du génome sont transcrits. Par contre, les informations relatives aux contrôles et à la régulation des gènes, contenues dans les séquences intergéniques et introniques, échappent au séquençage d'ADNc. Les stratégies de séquençage du génome et des ADNc sont donc complémentaires. La séquence des ADNc nécessite la fabrication d'une banque d'ADNc à partir d'un tissu donné. Cette banque peut être normalisée pour que les ARNm minoritaires soient suffisamment représentés. Les ADNc, pris au hasard dans la banque, sont ensuite séquencés partiellement à leur extrémité 5' ou 3'.

Dans les années 90, les technologies à haut débit se sont développées de façon accélérée, offrant au fil des années des capacités et des précisions croissantes pour mesurer la distribution des transcrits dans les tissus et organismes vivants. Ces dispositifs de mesure du transcriptome (Stoughton, 2005 ; Gandrillon et Houlgatte, 2004) visent à enregistrer le niveau d'expression de milliers de gènes dans différentes situations telles que différents tissus ou organes (Côlon, poumon,...), différents états (Sain, malade.) ou différents stades de développement. Les niveaux d'expression mesurés pour chaque gène dans un certain nombre de situations constituent ce que l'on appelle classiquement le profil d'expression de ce gène pour un jeu de situations donné. Des méthodes d'analyse standard permettent de regrouper par clustérisation (clustering) hiérarchique les gènes d'une même expérience présentant des profils d'expression similaires. La notion de profil d'expression peut ainsi par extension désigner l'ensemble des gènes qui partagent un même profil. La caractérisation fonctionnelle de ces profils consiste alors à analyser les annotations fonctionnelles des gènes présents dans chacun d'eux dans le but de comprendre pourquoi un ensemble de gènes se comporte de façon similaire pour un ensemble de situations donné (Eden et al., 2009 ; Zeeberg et al., 2003). En effet, cette analyse permet d'identifier et de caractériser, par exemple, des gènes signatures pouvant servir de marqueurs diagnostiques ou pronostiques pour différents stades de cancers (Bertucci et al., 2004).

Le criblage différentiel sur filtres HD est une méthode intéressante très prometteuse ; elle repose sur un concept simple et robuste (Fig. 33). En théorie, il est possible de cribler simultanément un nombre illimité de gènes. Le caractère semi-automatique de cette technique permet une analyse rapide à grande échelle de populations de gènes à condition de choisir des critères de sélection très restrictifs. La diversité des CCR explique l'hétérogénéité des patrons d'expression observés chez les patients. En effet, la séquence d'ADNc a deux objectifs : identifier de nouveaux gènes ou évaluer le niveau d'expression d'un gène. La séquence 5'

donne accès aux régions codantes résultant d'une synthèse incomplète des ADNc à partir d'oligo(dT) par la transcriptase inverse. On peut utiliser ces séquences pour rechercher des motifs consensus à partir des EST traduits en protéines et bien évidemment des homologues existant entre les EST obtenus et les séquences d'autres espèces, car la région codante est la mieux conservée au cours de l'évolution. Mais deux EST différents peuvent correspondre à la même séquence 5' d'un ARNm issu d'un seul gène, elle est donc inadaptée pour évaluer l'abondance relative d'un messager dans une cellule. La séquence 3' donne rarement accès à la séquence codante (Okubo et al., 1992).



**Fig. 33. Principe du criblage Différentiel sur filtres HD.** Les flèches indiquent les clones d'ADNc, préférentiellement exprimés dans le cancer colique. Les clones bleus et rouges représentent les ARNm surexprimés et sous-exprimés dans le cancer colique, respectivement. X : tissus sain adjacent, Y : CCR.

Le transcriptome représente l'ensemble des ARN, leurs formes épissées et leur niveau d'expression dans une population cellulaire ou un tissu donné. Contrairement au génome, le transcriptome est évolutif car il peut être modulé par des facteurs internes ou externes. Le transcriptome est donc un lien dynamique entre le génome d'un organisme et ses caractéristiques physiques. Jusqu'en 1995, le transcriptome n'avait été défini pour aucun organisme procaryote ou eucaryote, essentiellement pour des raisons techniques. Le séquençage d'ADNc a donné les premiers profils d'expression de gènes mais de façon très peu quantitative (Okubo et al., 1992). L'hybridation soustractive et le «differential display» ont permis d'identifier des différences d'expression entre des populations de transcrits mais sans apporter une analyse complète de l'expression tout en excluant les transcrits faiblement exprimés. Les macroarrays permettent de quantifier précisément l'expression mais pour un nombre restreint de gènes, et nécessitent l'utilisation de grande quantité d'ARN (Green et al., 2001). Deux types de technologie permettent d'étudier le transcriptome : les technologies alliant la découverte de transcrits à la quantification de leur expression (par exemple le SAGE pour Serial Analysis of Gene Expression) et les technologies permettant la quantification de l'expression (par exemple le microarray).

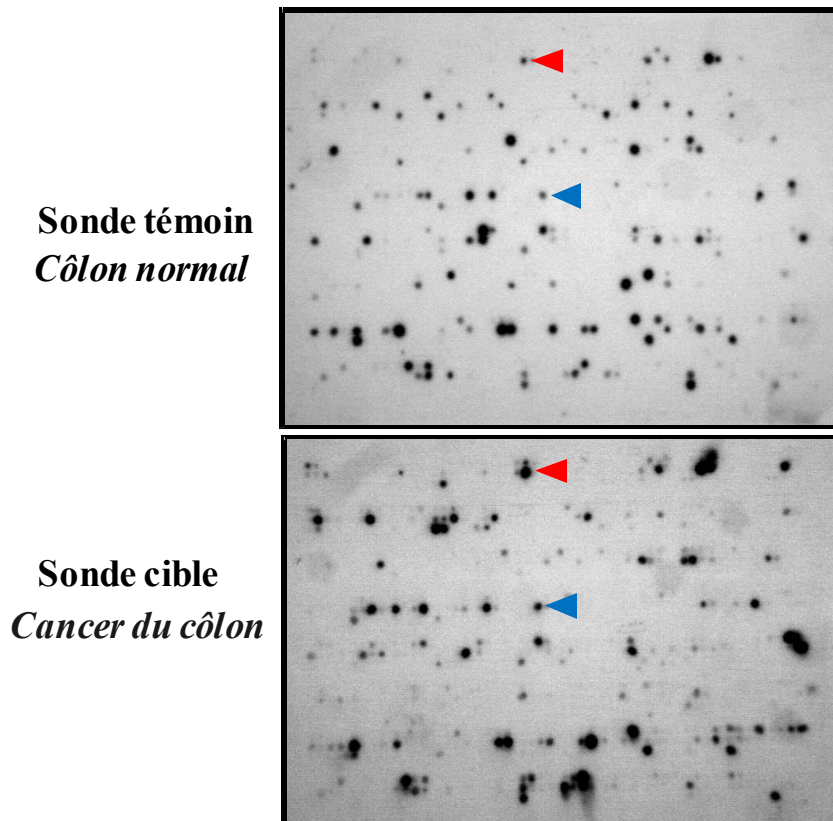
En pratique, l'interprétation des profils d'expression par les biologistes est guidée par les hypothèses biologiques qui sont à l'origine de l'étude transcriptomique. C'est le cas en particulier lorsque des relations existent entre les situations étudiées. Ces relations peuvent être temporelles lorsqu'il s'agit des différents points d'une cinétique ou physiologiques lorsqu'il s'agit d'un même type de tissu pris dans des conditions physiologiques différentes. Dans ce cas ce sont les différences du niveau d'expression entre les situations prises deux à deux qui intéressent le chercheur, et il sera intéressant, de regrouper ensemble, les gènes qui présentent les mêmes variations entre deux situations indépendamment du niveau d'expression qu'ils présentent chacun dans l'une et l'autre des situations. Cette constatation nous a conduit à introduire ici la notion de définition a priori de profils d'expression différentielle. Construits à partir de paires de situations choisies par l'utilisateur, ces profils peuvent être considérés comme des combinaisons, pour chaque paire de situation, d'ensembles d'expression différentielle destinés à regrouper les gènes présentant les mêmes variations (surexpression, sous-expression ou même expression) entre deux situations. L'appartenance d'un gène à tel ou tel profil commence donc par l'étude de son appartenance à tel ou tel ensemble d'expression différentielle pour chaque paire de situation. Nous avons utilisé une modélisation floue (Torres et Nieto, 2006) des variations d'expression entre deux situations afin de tenir compte du bruit

inévitables des données et de donner la possibilité à un gène d'appartenir à plus d'un ensemble d'expression différentielle, et donc ultérieurement à plus d'un profil.

### III.3.2. Présélection de deux clones potentiellement surexprimés

Au cours de l'analyse systématique des ARNm exprimés dans le CCR humain, nous avons isolé deux clones d'ADNc potentiellement surexprimés. En effet, il y a une quinzaine d'années, lors de son séjour au Laboratoire 'Stress Cellulaire', INSERM UMR 1068, Centre de Recherches en Cancérologie de Marseille (CRCM), Université d'Aix-Marseille (Marseille, France), dirigé par le Dr Juan IOVANNA, le Professeur Hocine RECHRECHE a mis en évidence une bonne dizaine de clones d'ADNc dont l'expression étant potentiellement altérée au cours de la cancérogénèse colorectale, en utilisant le criblage différentiel sur filtres à haute densité. A l'époque, l'hybridation a été réalisée avec une sonde complexe obtenue à partir du transcriptome d'un seul patient atteint de CCR. Ces résultats très préliminaires ont été mis en quarantaine et les filtres à haute densité, ainsi qu'une sélection de clones de banque d'ADNc ont été conservés à -80°C. En 2015, au cours d'un séjour de courte durée au Laboratoire du Dr Iovanna, le Professeur Recherche m'a proposé de prendre en charge une partie de ces clones d'ADNc, afin d'analyser leur profil d'expression, notamment. Ainsi, nous avons séparément hybridé les filtres avec deux sondes complexes de deux nouveaux patients atteints de CCR. Nos résultats ont permis de confirmer les données obtenues précédemment concernant deux clones (3B5 et 9B8) codant deux gènes régulateurs du métabolisme énergétique (Fig. 34). Il s'agissait d'IF1 et la GAPDH, respectivement. Notre intérêt pour ces deux gènes a reposé principalement sur leur rôle crucial dans la régulation du métabolisme énergétique des cellules cancéreuses. En particulier, l'expression de ces deux gènes a été analysée par Northern blot dans des couples de tissus cancéreux et normaux provenant de patients atteints de CCR, ainsi que par RT-PCR dans des lignées cellulaires. De plus la séquence complète de l'ARNm codant IF1 a été obtenue.

La première modalité de régulation de l'ATPase repose sur l'activation de son inhibiteur physiologique IF1. L'expression de l'ATPase est régulée au niveau transcriptionnel ou post-transcriptionnel, et sa stabilité à la membrane fait intervenir les protéines impliquées dans l'assemblage du complexe ; mais des modalités plus fines permettent de réguler son activité en « temps réel », de façon dynamique. Ces modalités impliquent notamment le gradient de  $Ca^{2+}$ , des modifications post-translationnelles, ainsi qu'une interaction directe avec différents partenaires protéiques (Long et al., 2015 ; Kagawa et al., 2004; Schwerzmann et Pedersen, 1986).



**Fig. 34.** Autoradiogrammes obtenus par criblage différentiel sur filtres HD d'ADNc d'une tumeur colique. Les flèches indiquent les clones d'ADNc surexprimés dans le cancer du côlon. La couleur rouge représente l'ADNc d'IF1 (Clone **3B5**), alors que la couleur bleue indique l'ADNc de la GAPDH (Clone **9B8**).

Du fait de la forte implication du peptide IF1 dans l'acquisition d'un métabolisme énergétique de type Warburg et plus globalement dans la survie des cellules dans un nombre important de cancers, il semble désormais primordial d'étudier son niveau d'expression. Comme suggéré par une partie de mon travail de thèse. La surexpression d'IF1 pourrait également constituer un phénomène fortement associé à la carcinogénèse colorectale. Le clone 3B5 code le gène IF1, ce petit peptide mitochondrial a été identifié et purifié pour la première fois en 1963 suite aux recherches de Pullman et Monroy sur des mitochondries isolées de cœur de bœuf (Pullman et Monroy, 1963). Ce gène a la particularité d'être hautement conservé au sein du domaine Eucaryote (Ichikawa et al., 1999 ; Yamada et al., 1997). Il est codé par le génome nucléaire par le gène ATPIF1 porté par le chromosome 1 chez l'homme et le chromosome 5 chez le rat. La protéine va ensuite subir des modifications post-traductionnelles afin de générer l'une des formes matures du peptide. L'activité mitochondriale d'IF1 semble être régulée à la fois au niveau de la teneur en protéines et de l'activité (Sanchez-Arago et al., 2013). En revanche, la déphosphorylation d'IF1 est impliquée dans la régulation positive de la

glycolyse dans différents contextes cellulaires (Garcia-Bermudez et al., 2015). Des études plus récentes ont confirmé que l'activité inhibitrice d'IF1 sur l'ATPase implique les activités synthétiques et hydrolytiques de l'ATP et dépend strictement de la déphosphorylation d'un résidu sérine qui agit comme un interrupteur permettant la liaison de l'inhibiteur à l'enzyme (Garcia-Bermudez et al., 2015).

Le deuxième clone 9B8 codant pour le gène de la GAPDH, cette enzyme catalyse la phosphorylation et l'oxydation du GA3P pour donner le 1,3-biphosphoglycérate. L'entrée massive de glucose dans la cellule cancéreuse active la GAPDH (Vilà et al., 2000). L'expression de cette enzyme est associée à la croissance cellulaire, au développement et à l'agressivité des tumeurs. L'étude de Guo et al a montré que l'expression de cette enzyme a été augmentée dans de nombreux cancers (Poumon, sein, prostate...) (Guo et al., 2013). Ceci est en lien avec la glycolyse accrue de ces cancers (Lincet et Icard, 2015). La GAPDH est un homotétramère contenant quatre sous-unités identiques de 37 kDa. Localisé sur le chromosome 12, le gène GAPDH humain transcrit un seul ARNm, produisant par conséquent une sous-unité comprenant une chaîne polypeptidique de 335 acides aminés (Nicholls et al., 2012). La GAPDH est régulée au niveau transcriptionnel et sa diversité fonctionnelle est largement affectée par les modifications post-traductionnelles d'acides aminés spécifiques (Colell et al., 2009).

Les cellules cancéreuses se caractérisent par leurs processus de prolifération, de croissance et de survie anormalement performant. Au sein des cellules tumorales de multiples mécanismes moléculaires convergent donc pour modifier le métabolisme de base afin de répondre aux 3 besoins fondamentaux de la division cellulaire : la génération rapide d'ATP, l'augmentation de la biosynthèse de macromolécules, et le maintien d'un statut redox viable. (Cairns et al., 2011). C'est dans cette optique que l'effet Warburg, ou glycolyse aérobie (AEROGLY), se met en place. L'activité glycolytique des cellules cancéreuses, et plus généralement des cellules à prolifération rapide, est relativement particulière au niveau enzymatique. Loin de privilégier le rendement bioénergétique, elle semble plutôt favoriser la promotion de la biosynthèse avec un statut redox viable. Il est donc nécessaire d'appuyer la dualité métabolique des cellules cancéreuses : AEROGLY et OXPHOS peuvent se « relayer » en fonction des conditions environnementales de la cellule (Xie et al., 2014). Il devient alors possible de supposer que la part d'AEROGLY et d'OXPHOS dans l'apport bioénergétique aurait tendance à s'ajuster en fonction des conditions locales et des caractéristiques de la cellule tumorale elle-même. A l'appui de cette hypothèse, de nombreuses études ont montré une activité AEROGLY et OXPHOS augmentée, concomitante et symbiotique (Kamarajugadda et

al., 2012). Néanmoins, il est utile de préciser qu'il reste du travail à faire dans l'observation de l'origine compartimentale des différents métabolites. Le développement d'un cancer est un processus complexe, multifactoriel et séquentiel. Ainsi, l'acquisition de caractéristiques physiologiques particulières, en réponse à de nombreuses modifications de son statut génétique, va discriminer les cellules cancéreuses des cellules saines, leur conférant un avantage sélectif certain. Malgré la très grande hétérogénéité au sein des cancers (Hanahan et Weinberg, 2000).

### III.3.3. Clonage de la séquence complète de l'ADNc codant IF1

Le clone 3B5 a été identifié par le criblage différentiel HD comme étant potentiellement surexprimé dans les CCR. Il présentait une similarité significative avec l'ARNm IF1 de rat et de bovin. Pour obtenir sa séquence complète chez l'homme, l'ADNc 3B5 a été utilisé comme sonde marquée au  $^{32}\text{P}$  pour cloner l'extrémité 5' en criblant la banque d'ADNc  $\lambda$ gt11 du côlon humain. Après hybridation, un clone "p $\lambda$ gt11-IF1" de 300 pb a été détecté et sa séquence a été déterminée dans les deux directions. La séquence nucléotidique complète de l'ARNm d'IF1 humain a été obtenue par assemblage des deux séquences des clones p $\lambda$ gt11-IF1 et pT7T3D-3B5 par chevauchement. Comme illustré dans la Figure 35, la séquence d'ADNc IF1 a une longueur de 318 nucléotides et code pour un cadre de lecture ouvert unique de 106 acides aminés. Il commence par un codon d'initiation de la traduction unique (ATG) à la position nucléotidique 5-7 qui code pour la méthionine et termine par un stop unique (TAA) à la position nucléotidique 327-329. La région codante de la protéine comprenait la séquence de la protéine mature de 81 acides aminés (Gly26-Asp106) qui est précédé par une région de 25 acides aminés codant pour un peptide signal d'importation potentiel (Met1-Phe25). IF1 mitochondrial est un petit peptide basique (Walker, 1994) dont la masse moléculaire va de 7,5 kDa chez la levure à 12,5 kDa chez le rat (Cintrón et Pedersen, 1979). Il a d'abord été isolé à partir de tissus cardiaques de bovins (Pullman et Monroy, 1963) et a depuis été isolé de mitochondries de diverses espèces eucaryotes, y compris des mammifères (Norling et al., 1990 ; Rouslin et Pullman., 1987).

```

agcaATG GCA GTG ACG GCG TTG GCG GCG CGG ACG TGG CTT GGC GTG TGG 49
    Met Ala Val Thr Ala Leu Ala Ala Arg Thr Trp Leu Gly Val Trp
GGC GTG AGG ACC ATG CAA GCC CGA GGC TTC GGC TCG GAT CAG TCC GAG 97
    Gly Val Arg Thr Met Gln Ala Arg Gly Phe Gly Ser Asp Gln Ser Glu
AAT GTC GAC CGG GGC GCG GGC TCC ATC CGG GAA GCC GGT GGG GCC TTC 145
    Asn Val Asp Arg Gly Ala Gly Ser Ile Arg Glu Ala Gly Gly Ala Phe
GGA AAG AGA GAG CAG GCT GAA GAG GAA CGA TAT TTC CGA GCA CAG AGT 193
    Gly Lys Arg Glu Gln Ala Glu Glu Glu Arg Tyr Phe Arg Ala Gln Ser
AGA GAA CAA CTG GCA GCT TTG AAA AAA CAC CAT GAA GAA GAA ATC GTT 241
    Arg Glu Gln Leu Ala Ala Leu Lys Lys His His Glu Glu Glu Ile Val
CAT CAT AAG AAG GAG ATT GAG CGT CTG CAG AAA GAA ATT GAG CGC CAT 289
    His His Lys Lys Glu Ile Glu Arg Leu Gln Lys Glu Ile Glu Arg His
AAG CAG AAG ATC AAA ATG CTA AAA CAT GAT GAT TAA gtgcacaccgtgtgc 337
    Lys Gln Lys Ile Lys Met Leu Lys His Asp Asp stop
catagaatggcacatgtcattgcccacttctgtgtagacatggttctggtttaactaatattt 401
gtctgtgtgctactactagattataaataaattgtcatcagtgaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa 465

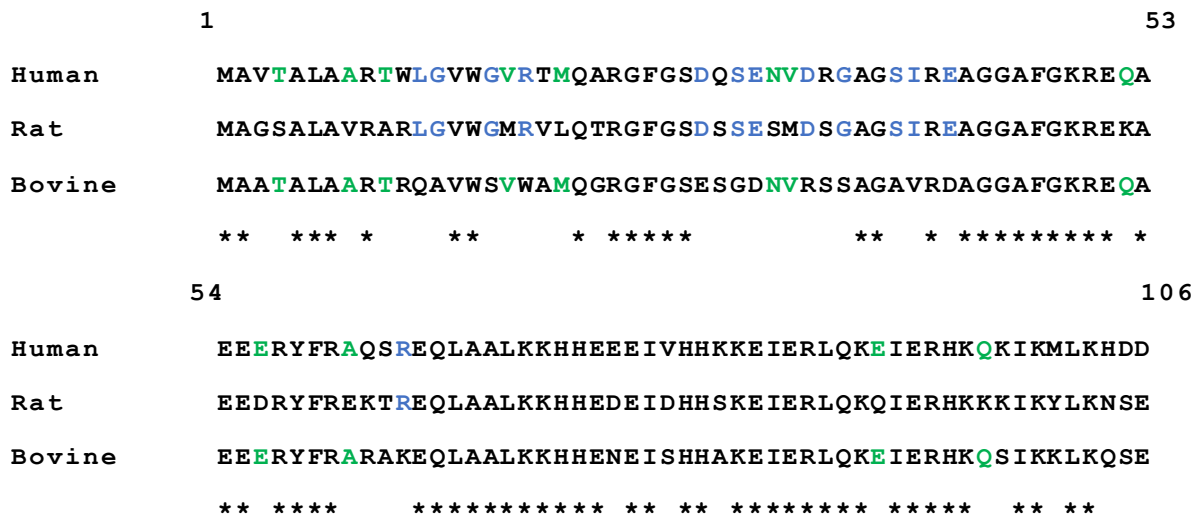
```

**Fig. 35. Séquence complète de l'ARNm d'IF1 et sa séquence prédite en acides aminés.** La séquence nucléotidique (de 5' à 3') est présentée par des lettres capitales (Couleur noire), alors que la séquence en acides aminés est indiquée par des abréviations à trois lettres (Couleur bleue). Les codons ATG et TAA (couleur rouge) correspondent le codon d'initiation de la traduction et le codon stop. La séquence aataaa (couleur verte) représente le signal de la polyadénylation. Le cadre de lecture permet de prédire une protéine de 106 acides aminés.

On distingue ainsi trois isoformes distinctes de la protéine IF1 obtenues par épissage alternatif. L'isoforme 1 (Q9UII2- 1) est la plus longue, et est constituée de 106 acides aminés pour un poids moléculaire de 12,249 kDa ; elle est considérée comme la forme canonique du peptide IF1. C'est également la forme préférentiellement exprimée dans de nombreux tissus, notamment chez l'homme (Sanchez-Cernizo et al., 2010). Les isoformes 2 (Q9UII2-2) et 3 (Q9UII2-3) sont composées respectivement de 71 et 60 acides aminés pour des poids moléculaires de 7,912 et 6,592 kDa.

La demi-vie du peptide IF1 est très courte et a été estimée à environ 100 min dans la lignée HCT116 dérivée de carcinome de côlon humain (Sanchez-Arago et al., 2013). La partie N-terminale allant du 1er au 25ème acide aminé constitue la séquence d'adressage du peptide vers la matrice mitochondriale. Cette partie est clivée une fois le processus d'import est terminé. Chez l'homme, on distingue différents pools d'IF1 au sein des mitochondries selon que la forme

primaire ait été clivée, après, le 24, 25, ou 26<sup>ème</sup> acide aminé. La partie N-terminale pourrait interagir avec la sous-unité  $\gamma$  située au centre du domaine F1 de l'ATPase (Bason et al., 2014 ; Gledhill et al., 2007). La partie intermédiaire constitue la région inhibitrice du peptide. C'est également la région impliquée dans l'oligomérisation du peptide. La partie C-terminale est quant à elle impliquée dans la dimérisation du peptide, lui permettant d'associer simultanément à deux domaines IF1 (Cabezón et al., 2000). L'analyse de la protéine putative codée par l'ARNm IF1 humain a fourni une conservation principalement de la séquence d'acides aminés de la protéine IF1 à travers les mammifères (Fig. 36). Soixante-cinq des 106 acides aminés étant identiques chez l'homme, le rat et le bovin.



**Fig. 36. Comparaison des séquences en acides aminés d'IF1 chez trois espèces de mammifères.** Les séquences en acides aminés d'IF1, obtenues par traduction de leurs ADNc chez trois espèces de mammifères (Homme, rat et bovin) ont été alignées. La couleur noire marquée par une étoile : identité entre les trois espèces (Homme, rat et bovin) ; la couleur bleu : identité entre les deux espèces (Homme et rat) ; La couleur verte : identité entre deux espèces (Homme et bovin). Cette molécule est particulièrement intéressante, car, elle participe au métabolisme énergétique (García-Bermúdez et al., 2015 ; Di Pancrazio et al., 2004 ; Capuano et al., 1997) et a été surexprimée lors de la cancérogenèse colorectale humaine

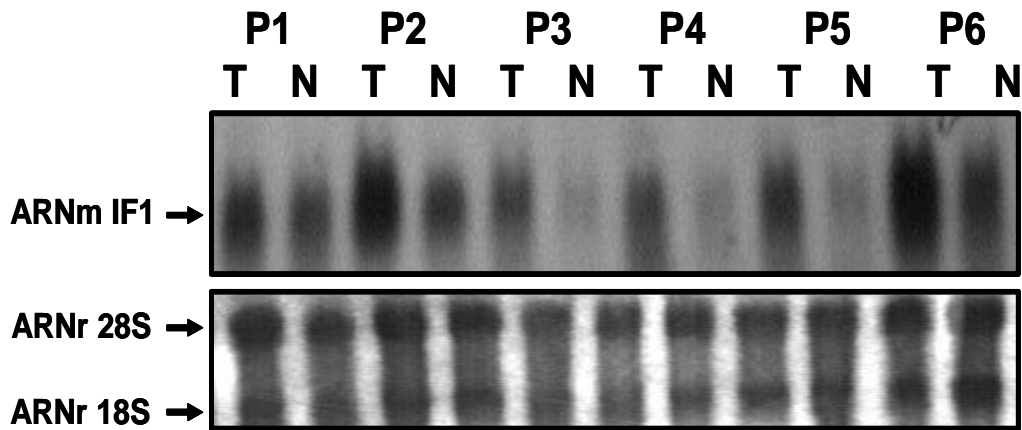
L'inhibiteur intrinsèque de l'ATPase est considéré comme le facteur régulateur le plus prometteur de l'ATPase mitochondriale, une enzyme multisubunitaire (Sanchez-Cernizo et al., 2010 ; Kanazawa et Futai, 1982), qui catalyse à la fois la synthèse et l'hydrolyse de l'ATP, même avec un potentiel membranaire élevé (García-Bermúdez et al., 2015 ; Di Pancrazio et al., 2004 ; Schwerzmann et Pedersen, 1986).

Cette enzyme multi-sousunitaire impliquée dans la dernière étape de la phosphorylation oxydative couplée au transport de protons lié à la chaîne respiratoire. IF1 mitochondrial ne participe pas à la synthèse de l'ATP par l'ATPase, mais inhibe son activité d'hydrolyse de l'ATP lorsque le potentiel membranaire est perdu. Le facteur inhibiteur forme un complexe régulateur avec deux facteurs stabilisateurs, les protéines 9K et 15K, qui facilitent la liaison de l'inhibiteur à l'enzyme et stabilisent le complexe inactivé.

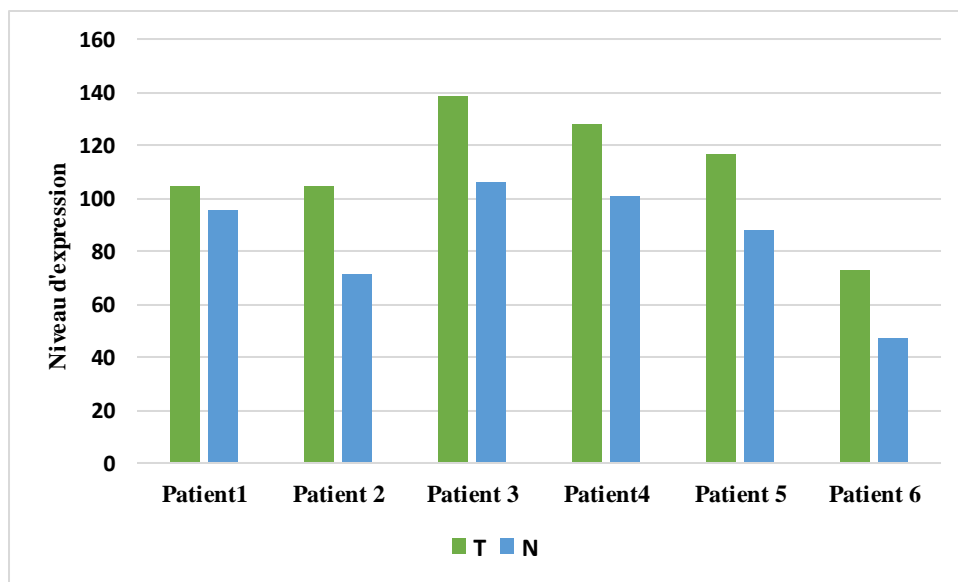
### III.3.4. Surexpression de l'ARNm codant IF1 dans les CCR

Pour évaluer la régulation positive de l'ARNm IF1 dans la cancérogenèse colorectale humaine, nous avons examiné son expression par Northern blot dans des échantillons appariés de tissus colorectaux normaux et cancéreux adjacents. L'hybridation par Northern blot est la méthode la plus utilisée pour quantifier les niveaux d'expression de l'ARNm et la plus sûre pour valider son expression différentielle (Wahl et Berger, 1987). Comme montré dans la Figure 37, l'ARNm IF1 était significativement régulé positivement dans 6/6 cas de CCR par rapport aux tissus normaux correspondants. La quantification densitométrique des signaux d'hybridation a montré que l'augmentation de l'expression de l'ARNm d'IF1 est variable d'un patient à l'autre (Fig. 38). La surexpression semble dépendre de l'état d'avancement de la maladie, cependant, le nombre restreint de patients analysés ne permet pas encore de dégager un jugement définitif. Aussi, et afin d'obtenir plus d'informations sur les profils d'expression d'IF1, nous avons recherché leurs transcrits dans cinq lignées cellulaires dérivées d'adénocarcinomes du côlon (LS174T, PF11, TC7, SW480 et HT29). Cependant, nous n'avons pas pu détecter des signaux d'expression avec l'ensemble des lignées cellulaires étudiées.

L'altération de l'expression de l'ARNm IF1 peut être un phénomène prédominant associé aux CCR, même, lorsqu'il n'y a pas de corrélation évidente entre les taux de l'expression de l'ARNm IF1 et les critères clinicopathologiques (Données non présentées). Pourtant, nos résultats sont bien corrélés avec les données existantes liées à l'expression d'IF1 au cours de la cancérogenèse. Il a été rapporté que dans les mitochondries d'hépatomes de Zajdela, les composants de la chaîne respiratoire sont fortement enrichis, alors que la teneur en ATPase n'est pas augmentée par rapport aux mitochondries du foie normal (Nelson, 1987) et possède les mêmes enzymes électrophorétiques et les propriétés immunologiques, comme l'enzyme provenant du foie de rat (Kuzela et al., 1978).



**Fig. 37. Analyse par Northern blot de l'expression du gène codant IF1 dans les CCR.** L'ARN total a été extrait à partir des tumeurs du côlon (T) et de leurs tissus normaux adjacents (N), provenant de 6 patients atteints de CCR (1 à 6). 20 µg de chaque échantillon ont été séparés par électrophorèse sur gel d'agarose/formaldéhyde 1%, transférés sur membranes et hybridés avec la sonde d'ADNc-3B5 marquée au <sup>32</sup>P. L'intégrité des ARN sur les filtres a été vérifiée par examen des quantités relatives des ARNr 28S et 18S, en utilisant la coloration par le bleu de méthylène (données non présentées). La qualité des signaux de l'hybridation a été confirmée par hybridation avec les ADNc 28S et 18S comme sondes



**Fig. 38. Quantification des résultats d'analyse de l'expression d'IF1 par Northern blot.** Les résultats d'expression d'IF1 obtenus par Northern blot ont été quantifiés en utilisant le logiciel Image J. L'analyse a concerné 6 patients atteints de CCR. T : tumeurs du côlon, N : tissus sains adjacents

De plus, la détermination immunochimique de la quantité d'inhibiteur naturel de l'ATPase a révélé que les mitochondries tumorales contiennent 2 à 3 fois plus d'IF1 que les mitochondries témoins, même lorsque l'activité hydrolytique de l'ATPase était diminuée (Luciakova et Kuzela, 1984). Ainsi, nos résultats suggèrent que la surexpression d'IF1 est une dérégulation transcriptionnelle et pourrait être une caractéristique commune associée au développement du cancer. En outre, Singer et al. (1995) ont montré une perte significative de taux d'ATP dans des cellules de carcinome mammaire humain. Sur cette base, nous avons émis l'hypothèse, selon laquelle, l'inhibition de l'hydrolyse de l'ATP par régulation positive d'IF1 dans la cancérogenèse colorectale pourrait être un mécanisme d'adaptation utilisé par les cellules épithéliales cancéreuses pour compenser la perte d'ATP générée par l'accélération de la consommation d'énergie. Dès 1997, le rôle de la protéine IF1 dans la mise en place de l'effet Warburg a été suggéré (Capuano et al., 1997). La forte expression d'IF1 dans les cellules cancéreuses a été par la suite confirmée dans les lignées HepG2 et JHH-6 (Domenis et al., 2011). IF1 apparaît donc être une molécule clé au sein des mitochondries, permettant l'adaptation des cellules au stress ainsi que la survie des cellules cancéreuses (Yadav et Chandra, 2014).

Dans ce contexte, l'équipe de José Manuel Cuezva avait corrélé l'augmentation de la membrane mitochondriale à sa hyperpolarisation dans plusieurs modèles cellulaires (NRK, Hepa 1-6 et HepG2). Ils ont pu associer cette hyperpolarisation de la membrane mitochondriale à un ralentissement de la machinerie oxydative mitochondriale au profit du métabolisme glycolytique. Cette reprogrammation métabolique favorisant la survie et la prolifération de ces lignées (Sánchez Cenizo, 2014 ; Formentini et al., 2012 ; Sanchez-Cenizo et al., 2010).

Une découverte qui a été récemment confirmée et étendue à d'autres carcinomes (Wei et al., 2015 ; Yin et al., 2015 ; Song et al., 2014). Il s'agit de la surexpression d'IF1 qui entraîne une réduction de la synthèse de l'ATP mitochondriale et de la régulation positive simultanée de la glycolyse à la fois dans les cellules cancéreuses (Sanchez-Arago et al., 2013 ; Sanchez-Cenizo et al., 2010 ; Sanchez-Arago et al., 2010), dans les neurones *in vivo* (Formentini et al., 2014) et dans les hépatocytes (Santacatterina et al., 2016) . De manière cohérente, l'inactivation d'IF1 déclenche le phénotype métabolique opposé, régule négativement la glycolyse et augmente l'OXPPOS (Sanchez-Cenizo et al., 2010 ; Sanchez-Arago et al., 2010). Une observation très remarquable, et en accord avec sa fonction dans la reprogrammation métabolique, la protéine IF1 accumulée dans les carcinomes du côlon, du sein et du poumon se

trouve à son état déphosphorylé actif (Garcia-Bermudez et al., 2015). Des découvertes récentes ont indiqué, qu'un niveau élevé d'expression d'IF1 dans la tumeur est un mauvais prédicteur de la survie et de la récurrence de la maladie chez les patients atteints du cancer du foie, de la vessie, de l'estomac et du gliome (Wei et al., 2015 ; Wu et al., 2015 ; Yin et al., 2015 ; Song et al., 2014).

Une augmentation des taux de protéines IF1 et du ratio d'expression IF1 : ATPase a été observée à des grades tumoraux plus élevés, cette augmentation caractérise les tissus hautement métaboliques tels que le cerveau et le tubule rénal proximal (Sanchez-Arago et al., 2013 ; Campanella et al., 2008). Dans le cancer gastrique (Yin et al., 2015), similairement dans le cancer du côlon (Sanchez-Arago et al., 2010), le rôle oncogénique d'IF1 implique une prolifération améliorée et un phénotype résistant à la mort cellulaire modérée par la signalisation par les ROS à la voie canonique NFκB (Sanchez-Arago et al., 2013 ; Sanchez-Arago et al., 2010). Cependant, il faut souligner que la carcinogenèse affecte différemment l'expression d'IF1 d'une manière spécifique au tissu (Sanchez-Arago et al., 2013). De plus, la surexpression d'IF1 dans les carcinomes n'est pas toujours corrélée avec un mauvais pronostic du patient. En fait, la surexpression d'IF1 dans les carcinomes du sein et du côlon prédit un meilleur pronostic du patient (Sanchez-Arago et al., 2013).

Une équipe italienne a obtenu des résultats différents de ceux publiés jusqu'alors, permettant de jeter un nouveau regard sur les fonctions biologiques d'IF1 dans la lignée humaine d'ostéosarcome humaine 134B. Les auteurs ont ainsi corrélé l'augmentation du peptide inhibiteur à une augmentation du rendement de l'OXPPOS et de la respiration cellulaire. La présence d'IF1 serait alors déterminante pour maintenir un niveau suffisant de dimère d'ATPase et la fonctionnalité du PTP, même si des analyses ont révélé des degrés de dimérisation similaire dans les cellules déficientes en IF1. Selon ces auteurs, de tels effets seraient liés à la capacité d'IF1 à promouvoir la formation des crêtes mitochondriales (Barbot et al., 2015).

L'analyse du niveau d'expression d'IF1 dans des cohortes de patients souffrant de différents types de cancers ciblant le côlon, les poumons, les seins ou encore les ovaires, a établi que plus de 90% des biopsies étudiées présentaient une forte quantité du peptide inhibiteur ; comparativement, l'expression d'IF1 dans les tissus contrôles restait négligeable. Il a cependant été observé que les tissus présentant une forte expression d'IF1 dans les conditions basales comme l'endomètre, les reins ou encore l'estomac, ne voyaient pas leur niveau d'expression d'IF1 modulé dans leur tissus cancéreux (Sánchez-Aragó et al., 2013). Cette étude a également

permis d'établir que le cœur et le foie sont les tissus présentant la plus forte expression d'IF1 dans les conditions physiologiques, mais le comparatif avec un tissu cancéreux n'a pas été effectué pour ces organes. Les auteurs n'ont ainsi retenu que les tissus pulmonaires, mammaires et ovariens pour mener leur étude mécanistique. Malgré cela, ces chercheurs ont pu confirmer *in vitro* les données, et corrélérer la surexpression d'IF1 avec un flux glycolytique accrue, un plus haut niveau de ROS générées à la mitochondrie, ainsi qu'une résistance significative à l'apoptose. Les auteurs suggèrent que IF1 pourrait constituer un excellent marqueur de prédiction de cancer et de risque de rechute. En effet, pour les cancers du sein et du côlon, une faible expression d'IF1 va d'une part avec un mauvais pronostic de survie ainsi qu'un risque plus élevé de récurrence (Sánchez-Aragó et al., 2013). Une étude de cohorte similaire sur des patients atteints de cancers de l'estomac, quant à elle, a démontré qu'un haut niveau d'expression d'IF1 pour ce type de cancers était associé à une prolifération accrue des cellules cancéreuses, ainsi qu'à leur capacité migratoire et invasive (Yin et al., 2015). Il ressort donc de cette étude qu'une forte expression d'IF1 dans des tumeurs est plutôt un facteur de mauvais pronostic, et son extinction aussi bien *in vitro* qu'*in vivo* semble fortement affecter le développement tumoral. IF1 pourrait donc constituer un excellent marqueur clinique, et représenter une cible thérapeutique pertinente dans le cas du cancer de l'estomac (Yin et al., 2015). Enfin, au niveau hépatique, une équipe chinoise s'est également intéressée à l'expression d'IF1 dans une cohorte de patients atteints de Carcinome hépatocellulaire. Ils ont pu identifier que l'expression d'IF1 était directement corrélée au degré d'avancement de la pathologie. Comme pour les cancers de l'estomac, les patients présentant un tissu tumoral riche en IF1, présentait une espérance de vie moindre ainsi qu'un risque de rechute plus important. Une inhibition spécifique de la protéine IF1, *in vivo* chez l'animal, a montré des résultats significatifs en termes de réduction de l'agressivité des Carcinomes hépatocellulaire, et ce, en limitant l'angiogenèse tumorale, ainsi que le potentiel de migration de la tumeur.

Ces résultats soulignent donc l'intérêt d'étudier le niveau d'expression d'IF1 chez les patients souffrant de ce type de cancer, comme facteur de mauvais pronostic ; ils suggèrent également que IF1 pourrait constituer une cible thérapeutique judicieuse chez ces patients (Song et al., 2014). Par ailleurs, de nombreuses études suggèrent que IF1 active plusieurs voies de signalisation, elle induit une résistance à la mort cellulaire et confère ainsi un phénotype migratoire dans le cancer métastatique (Yin et al., 2015 ; Song et al., 2014 ; Faccenda et al., 2013b ; Formentini et al., 2012). Enfin, une augmentation des taux de protéines IF1 et du ratio d'expression IF1/ATPase a été observée à des grades tumoraux plus élevés, cette augmentation

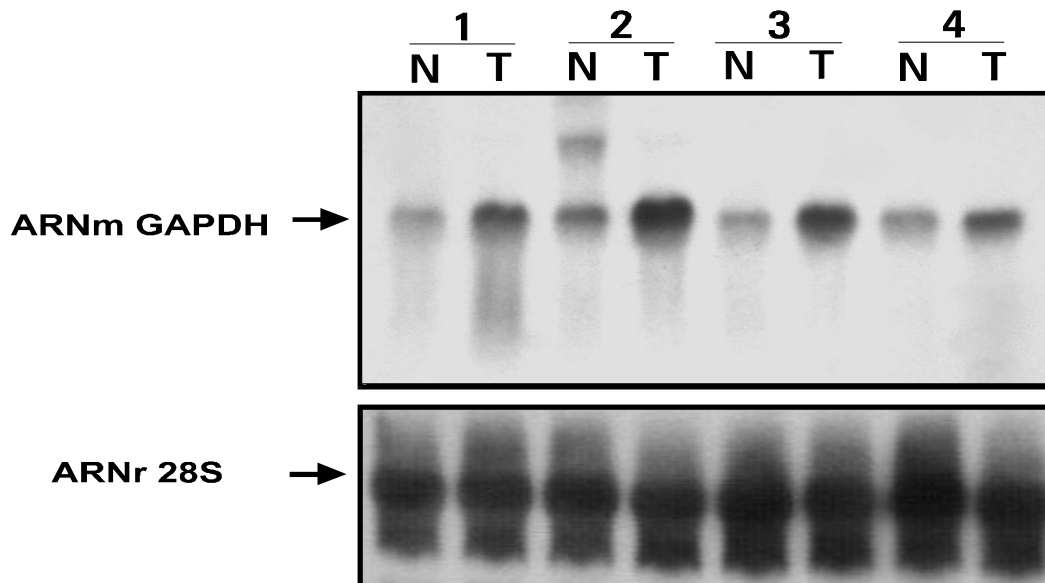
caractérise les tissus hautement métaboliques tels que le cerveau et le tubule rénal proximal (Sanchez-Arago et al., 2013 ; Campanella et al., 2008).

### III.3.5. Surexpression de l'ARNm codant la GAPDH

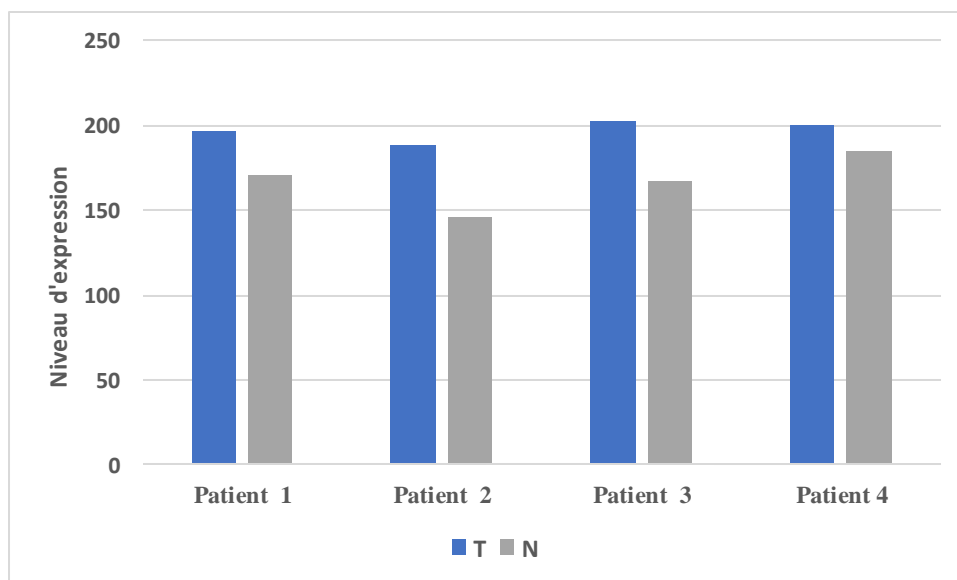
Les cellules tumorales sont caractérisées par une régulation positive de l'AEROGLY avec une production élevée de lactate générant ainsi un microenvironnement extracellulaire hypoxique acide qui donne un avantage de croissance sélective à ces cellules malignes et facilite par la suite l'invasion en détruisant les cellules normales adjacentes, ce qui provoque la dégradation de la matrice extracellulaire par des métalloprotéases et la promotion d'angiogenèse (Gatenby et Gillies, 2004). En situation d'hypoxie, les produits glycolytiques tels que le lactate et le pyruvate peuvent stimuler l'accumulation du facteur 1 hypoxiainductible (HIF-1 $\alpha$ ) dans les tumeurs solides, ce qui conduit à une régulation positive des gènes de survie, des facteurs angiogéniques et des enzymes glycolytiques, notamment la GAPDH (Graven et al., 2003 ; Dang et Semenza, 1999).

Par ailleurs, nos résultats ont montré une surexpression inattendue de l'ARNm de la GAPDH qui a été confirmée par analyse Northern blot. Les niveaux d'ARNm ont augmenté dans 100% (4/4) des CCR (Fig. 39) et la quantification densitométrique des signaux d'hybridation a montré que le rapport «cancer/tissu normal» était sensiblement variable d'un patient à l'autre (Fig. 40). Ceci est en accord avec les résultats de travaux antérieurs dans lesquels le niveau de transcription (Faure-Vigny et al., 1996) et l'activité enzymatique de la GAPDH étaient augmentés dans les tumeurs rénales. Récemment dans l'étude menée par Tarrado-Castellarnau et al. (2017), l'expression de la GAPDH dans le CCR a été étudiée. Une forte expression pendant les premiers stades a été remarquée. Ces résultats suggèrent que la GAPDH joue un rôle important dans la tumorigénèse colorectale et pourrait être utilisée comme biomarqueur de détection précoce. Le suivi des niveaux d'expression de la GAPDH dans la population à haut risque peut conduire à un diagnostic précoce et meilleur. L'étude de l'expression des protéines liées à la GAPDH peuvent également contribuer à la connaissance des mécanismes de l'apparition de la tumeur sous-jacente et à la conception de nouvelles

stratégies et thérapies anti-oncogéniques personnalisées et plus efficaces (Tarrado-Castellarnau et al., 2017).



**Fig. 39. Analyse par Northern blot de l'expression du gène codant la GAPDH dans les CCR.** L'ARN total a été extrait à partir des tumeurs du côlon (T) et de leurs tissus normaux adjacents (N), provenant de 4 patients atteints de CCR (1 à 4). 20 mg de chaque échantillon ont été séparés par électrophorèse sur gel d'agarose/formaldéhyde 1%, transférés sur membranes et hybridés avec la sonde d'ADNc-9B8 marquée au <sup>32</sup>P. L'intégrité des ARN sur les filtres a été vérifiée par examen des quantités relatives des ARNr 28S et 18S, en utilisant la coloration par le bleu de méthylène (données non présentés). La qualité des signaux de l'hybridation a été confirmée par hybridation avec l'ADNc 28S comme sonde.



**Fig. 40. Quantification des résultats d'analyse de l'expression de la GAPDH par Northern blot.** Les résultats d'expression de la GAPDH obtenus par Northern blot ont été quantifiés en utilisant le logiciel Image J. L'analyse a concerné 4 patients atteints de CCR. T : tumeurs du côlon, N : tissus sains adjacents.

L'AEROGly avec la production élevée de lactate est l'une des principales caractéristiques phénotypiques du métabolisme tumoral, telles que décrites par Otto Warburg (Warburg et al., 1924). Ce phénomène donne l'avantage aux cellules cancéreuses par une production accrue de NADH et une acidification du microenvironnement due à l'excrétion de lactate, favorisant ainsi l'invasion tumorale (Kroemer et Pouyssegur, 2008). Le métabolisme du glucose par la glycolyse anaérobie est moins efficace dans la production d'ATP que l'OXPPOS. Cependant, le taux élevé d'absorption de glucose et l'augmentation du flux glycolytique dans les cellules cancéreuses, leur permettent de garder le maintien du statut énergétique, la biosynthèse de macromolécules et l'équilibre rédox cellulaire (Cairns et al., 2011). Par conséquent, la GAPDH peut être une enzyme clé impliquée dans la tumorigenèse et la progression du cancer. Une surexpression de presque tous les enzymes glycolytiques a été remarquée dans la prostate et les cancers du cerveau (Altenberg et Greulich, 2004). Cependant, la GAPDH et le pyruvate kinase sont les seuls gènes glycolytiques qui ont présenté une surexpression dans le CCR. Il a été montré que dans la carcinogénèse du côlon, la répression sélective de  $\beta$ -F1-ATPase mitochondriale réduit l'OXPPOS, ce qui conduit à une surexpression de la GAPDH (Cuezva et al., 2002), ce qui pourrait expliquer l'augmentation des taux de la GAPDH observés dans les stades initiaux de la tumeur. De plus, Bertin et al. ont montré que dans les cellules de carcinome du côlon, l'augmentation de l'expression de la GAPDH est suffisante pour induire l'autophagie *in vitro* et *in vivo* (Bertin et al., 2008). Même dans les tissus cancéreux de l'œsophage, il existe une forte corrélation entre la surexpression de la GAPDH et la régulation positive de l'expression des gènes liés à l'autophagie, tels que ATG12 et PIK3C3 (Trois types de sous-unités catalytiques de phosphatidylinositol 3-kinase) (Soltany-Rezaee-Rad et al., 2014). Ainsi, l'inhibition de la GAPDH s'est avérée suffisante pour réduire les taux d'autophagie et d'ATP dans les cellules tumorales (Guan et al., 2017).

Une double modulation de l'activité de la GAPDH a été décrite dans les cellules exposées à des niveaux de stress oxydant sous apoptogènes. Dans des conditions de stress oxydatif, on parle d'une hyperactivité de la GAPDH contre une répression de la  $\beta$ -F1-ATPase mitochondriale (Cerella et al., 2014 ; Cerella et al., 2009). Aux stades avancés de la progression tumorale, le stress oxydatif est plus élevé qu'aux stades précoces de cancérogenèse (Panis et al., 2012 ; Reuter et al., 2010), ce qui peut expliquer l'augmentation du taux de la GAPDH au stade I par rapport aux étapes ultérieures de progression. En outre, la surexpression de la GAPDH a deux rôles coopératifs contre l'apoptose. En effet la reprogrammation métabolique par l'activation de la glycolyse dans la tumeur constitue une cible potentielle pour le traitement du cancer (Ganapathy-Kanniappan et Geschwind, 2013). Des cellules non tumorales sont

attendues être moins sensibles à l'inhibition de la glycolyse que les cellules malignes qui plus dépendants de cette voie pour générer de l'ATP et assurer leur prolifération. Par conséquent, la GAPDH émerge comme une cible thérapeutique prometteuse contre le cancer. Elle est surexprimée dans 21 classes de cancer (Altenberg et Greulich, 2004) et impliquée dans la prolifération cellulaire et dans la glycolyse, mais également. Des études antérieures ont corrélé l'expression de la GAPDH avec un mauvais pronostic global. Cependant, dans ces rapports, des échantillons de tumeurs ont été obtenus de patients aux stades avancés de la progression tumorale (II-IV) (Barbazan et al., 2014 ; Hjerpe et al., 2013 ; Tang et al., 2012 ; Cuezva et al., 2002).

La particularité de la GAPDH est sa fonction catalytique est l'un des étapes critiques limitant le débit de la glycolyse. Tout d'abord, l'hydrolyse dépendante de la GAPDH est la première étape glycolytique qui produit la molécule le NADH (l'étape 10 de la glycolyse). En outre, les données de modélisation informatique et métabolomique montre que l'AEROGOLY dans le flux du cancer à travers la GAPDH (Ganapathy-Kanniappan et Gershwin, 2013) joue un rôle critique dans la régulation du taux de glycolyse tumorale. En conséquence, en raison de l'adaptation métabolique aux cellules cancéreuses liées à la glycolyse peut être plus sensibles à l'approche anti glycolytique anti-GAPDH (Ganapathy-Kanniappan et Geschwind, 2013). De plus, en tant que protéine multifonctionnelle, la GAPDH est également impliquée dans plusieurs processus cellulaires qui sont associée à la progression du cancer (Ganapathy-Kanniappan et al., 2012).

Par conséquent, la perturbation de la glycolyse par inhibition de la GAPDH aurait pu avoir plusieurs effets sur le métabolisme énergétique des cellules cancéreuses. Il a déjà été démontré, que plusieurs inhibiteurs chimiques à base d'acides nucléiques inhibent la GAPDH dans les cellules cancéreuses, soulignant ainsi un potentiel anticancéreux d'inhibition de cette enzyme. Cependant, l'abondance cellulaire ainsi que la nature omniprésente de la GAPDH ont généré peu d'enthousiasme en grande partie à cause des inquiétudes potentiels systémiques de toxicité. En fait, la majorité des études sur les cibles métaboliques de la voie glycolytique dans le cancer ont soigneusement évité d'inclure la GAPDH comme cible potentielle (Hamanaka et Chandel, 2012). Naturellement, la GAPDH a été exclu peut-être en raison de sa toxicité et du manque de données précliniques substantielles. Ainsi, bien que l'effet anticancéreux du ciblage de la GAPDH soit connu depuis quelques décennies, le principal défi est dû à la toxicité indésirable et à la nature omniprésente de la GAPDH, constituant ainsi, un obstacle majeur à considérer comme une cible thérapeutique. La GAPDH est une protéine enzymatique indispensable au métabolisme du glucose et est nettement régulée positivement dans les cellules

cancéreuses ce qui a suscité un regain d'intérêt à prendre en compte la GAPDH comme cible thérapeutique potentielle (Yun et al., 2015 ; Ganapathy-Kanniappan et al., 2012). En conséquence, plusieurs antagonistes naturels et synthétiques ont été évalués pour leur efficacité dans le ciblage de la GAPDH (Birsoy et al., 2013 ; Xing et al., 2004). Cependant, comme toute autre cible moléculaire, puissant antagoniste ou inhibiteur de la GAPDH doit également respecter deux principes, à savoir : la sélectivité et la spécificité déterminant la sécurité et l'efficacité d'un potentiel thérapeutique. Dans ce contexte, des données récentes indiquent que l'acide Koningique (KA) peut posséder l'efficacité et la sélectivité pour inhiber la GAPDH dans le cancer. Bien que la propriété anti-GAPDH de KA soit connue depuis plus de 30 ans, il y a été une pénurie dans la documentation de sa pertinence dans la thérapie du cancer. La prédiction du phénotype glycolytique du cancer et de sa sensibilité glycolytique/inhibiteur de la GAPDH est une étape importante vers le développement d'une stratégie d'intervention efficace pour traiter le cancer (Liberti et al., 2017).

En plus de la localisation cytosolique de l'enzyme glycolytique. La GAPDH peut également être détectée à proximité de la membrane plasmique, les mitochondries, le noyau, le réticulum endoplasmique, les polysomes, l'appareil de Golgi et même sécrétée dans l'espace extracellulaire. Cette enzyme remplit plusieurs fonctions clés, y compris la régulation de la stabilité de l'ARNm (Ikeda et al., 2012), de l'absorption et du transport du fer (Raje et al., 2007), de la réparation de l'ADN (Azam et al., 2008), de l'exportation d'ARNt nucléaire (Sirover, 2011), la mort cellulaire (Tarze et al., 2007) et l'endocytose et la fusion membranaire (Tisdale et al., 2016). Ces propriétés multifonctionnelles de la GAPDH peuvent être régulées par plusieurs mécanismes, tels que la formation de complexes macromoléculaires par interactions protéine-protéine ; modifications post-traductionnelles, par exemple acétylation, phosphorylation et la nitrosylation ; ou oligomérisation de la protéine. La structure de la GAPDH et son taux d'expression dépend principalement de diverses molécules de signalisation (Gerszon et Rodacka, 2018).

### III.3.6. Conclusion

Dans les systèmes biologiques, l'ATP est la monnaie universelle de l'énergie libre nécessaire aux réactions anaboliques, à la synthèse des acides nucléiques et au transport actif des métabolites dans les cellules. Il a été démontré, que l'appauvrissement en ATP est un signal apoptotique fort dans la lignée cellulaire dépendante de l'interleukine-3 murine (IL-3) (Garland et Halestrap, 1997). Par conséquent, lorsque l'ATP cellulaire est produite de manière excessive par rapport à son niveau métabolique habituel, un type cellulaire particulier peut croître, se multiplier et finalement devenir malin. Le processus de cancérisation est un phénomène complexe conduisant à de nombreux remaniements de l'homéostasie cellulaire. Parmi ces modifications, s'opère un profond remodelage du métabolisme énergétique, en lien avec l'acquisition des nouvelles propriétés biologiques des cellules cancéreuses.

Cependant, l'inhibiteur naturel de l'ATPase contrôle la cinétique de l'enzyme, et ce contrôle semble essentiel pour obtenir une accumulation maximale d'ATP au cours du transport d'électrons dans des systèmes contenant des concentrations relativement élevées d'ATP. Par conséquent, nos résultats suggèrent que la formation excessive d'ATP peut être au moins partiellement due à l'expression accrue de la protéine inhibitrice de l'ATPase dans les cellules malignes, ce qui inhibe son activité d'hydrolyse de l'ATP.

Ainsi, il résulte de la discussion ci-dessus que l'accumulation de l'inhibiteur de l'ATPase et de la GAPDH glycolytique dans la tumeur colorectale, peut participer à la promotion du cancer par l'amélioration du métabolisme énergétique cellulaire. Cette hypothèse, si elle est confirmée, fournira un traitement possible contre le cancer en utilisant une stratégie anti-sens contre les régulateurs du métabolisme énergétique. En raison de son rôle glycolytique, la GAPDH peut également jouer un rôle dans la reprogrammation métabolique, c'est l'une des caractéristiques du cancer (Hanahan et Weinberg, 2011) et devient une cible appropriée pour traitement des cellules tumorales qui présentent une augmentation de l'utilisation des voies métaboliques pour répondre à leurs besoins énergétiques et biosynthétiques.

L'AEROGLY et le métabolisme mitochondrial semblent tous les deux favoriser considérablement la croissance et l'envahissement tumoral. Ainsi, le métabolisme énergétique apparaît comme un contributeur clé du phénotype malin des tumeurs, ce qui en fait une cible de choix du point de vue thérapeutique. Dans ce contexte, de nombreux agents anticancéreux ont donc été développés afin de cibler le métabolisme énergétique des cellules cancéreuses (Martinez-Outschoorn et al., 2017), ont pour cible différents acteurs de la glycolyse, comme des isoformes de transporteurs de glucose (GLUT1 par exemple) ou des enzymes glycolytiques

(PKM2 par exemple), qui sont exprimées dans les cellules cancéreuses et jouent un rôle clé dans l'activité glycolytique de ces cellules.

Plusieurs études ont également démontré la spécificité et l'efficacité d'un composé naturel, l'acide Koningique dans le ciblage de l'enzyme glycolytique (GAPDH). Le rapport actuel sur le ciblage de la GAPDH par KA est un pas important dans le développement de nouvelles thérapies potentielles tout en développement des stratégies efficaces pour cibler le métabolisme énergétique altéré dans les cellules cancéreuses. Récemment, il a été montré que le niveau d'expression des gènes codant plusieurs enzymes impliquées dans la glycolyse est élevé dans le cancer (Liberti et al., 2017). Il n'est pas surprenant que les dysfonctionnements mitochondriaux soient associés à un grand nombre de pathologies dont certaines maladies neurodégénératives (Parkinson et Alzheimer), des myopathies, le diabète de type 2 ou même les cancers (Scheibye-Knudsen et al., 2015).

La prolifération accrue des cellules cancéreuses nécessite une synthèse massive de macromolécules et d'énergie. Pour ce faire, ces cellules s'adaptent en reprogrammant leur métabolisme (Romero-Garcia et al., 2011 ; Vander Heiden et al., 2009). Dans ce contexte, une stratégie thérapeutique prometteuse repose sur l'utilisation d'agents ciblant le métabolisme énergétique des cellules cancéreuses (Martinez-Outschoorn et al., 2017).

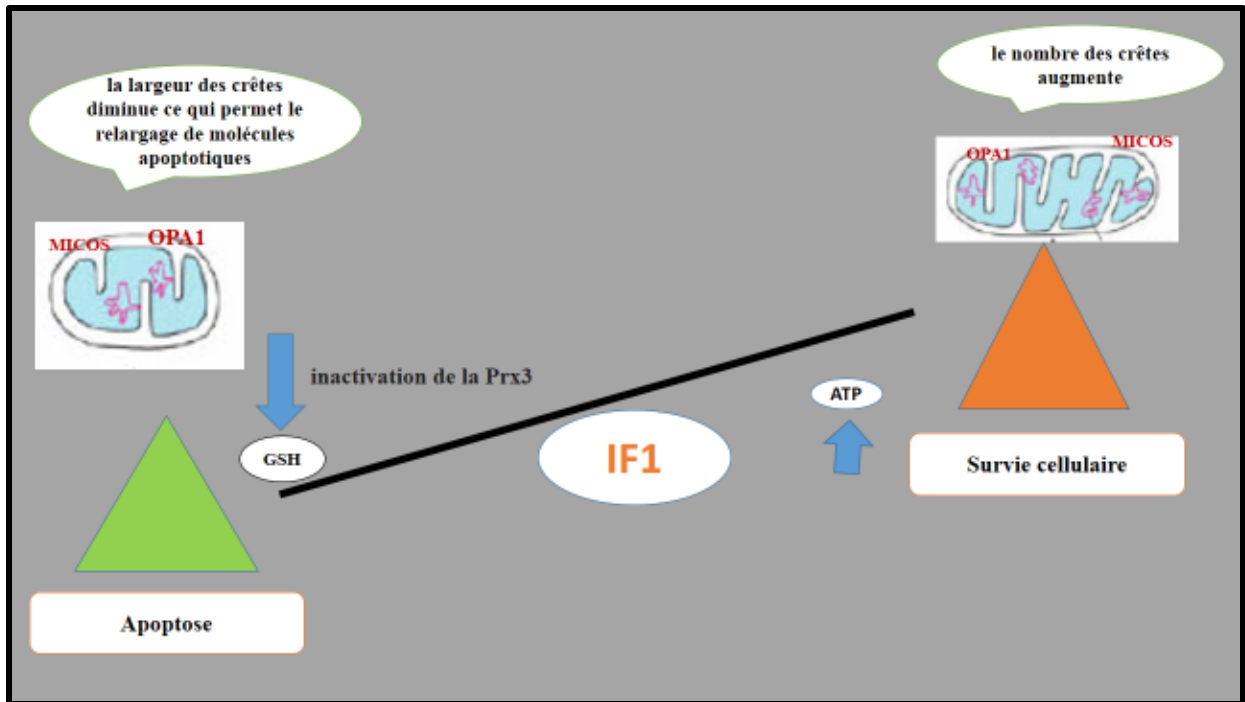
Il a été démontré que les cellules cancéreuses, les moins différenciées et dont la croissance est la plus rapide, possédaient un taux élevé de glycolyse (Baggetto, 1992). Il est raisonnable de s'attendre à ce que la capacité de n'importe quel type cellulaire à entrer dans le processus de malignité dépend de la disponibilité d'un métabolisme énergétique approprié. La conversion des cellules épithéliales de la prostate en cellules oxydant le citrate qui augmente la capacité de production d'énergie est essentielle au processus de malignité et de métastase (Costello et Franklin, 1994). Cependant, pour certaines cellules, le métabolisme énergétique normal pourrait être suffisant pour atteindre les besoins en ATP de transformation néoplasique et/ou de malignité.

Le processus de cancérisation est un phénomène complexe conduisant à de nombreux remaniements de l'homéostasie cellulaire. Parmi ces modifications, s'opère un profond remodelage du métabolisme énergétique, en lien avec l'acquisition des nouvelles propriétés biologiques des cellules cancéreuses. En conditions physiologiques, le remodelage des crêtes des mitochondries se fait principalement en réponse aux besoins métaboliques de la cellule. En présence de substrats non glycolytiques ou en conditions restreintes en nutriments, le nombre des crêtes augmente, ainsi que le nombre de complexes et de super-complexes de la chaîne

respiratoire. Il y a aussi une augmentation de l'oligomérisation de l'ATPase pour augmenter l'activité de la chaîne respiratoire et optimiser la production d'ATP (Cogliati et al., 2016 ; Gomes et al., 2011).

Indépendamment du métabolisme, au cours de l'apoptose, la morphologie des crêtes peut également être modulée, au cours de laquelle, la largeur des crêtes diminue, ce qui permet le relargage de molécules apoptotiques (Frezza et al., 2006 ; Cipolat et al., 2004). En plus des complexes MICOS (Mitochondrial contact site and organizing system complex), d'autres protéines sont impliquées dans le maintien et la structure des crêtes. On retrouve l'ATPase et son inhibiteur endogène IF1 (Faccenda et al., 2013a ; Faccenda et al., 2013b ; Cipolat et al., 2004), ainsi que la protéine OPA1, une protéine qui joue un rôle au niveau de la fusion et la dynamique mitochondriale (Cipolat et al., 2004). Elle participe au remodelage des crêtes indépendamment de son activité de fusion (Pernas et Scorrano, 2016 ; Cogliati et al., 2016).

Ces données suggèrent que IF1 agit sur la bioénergétique et la structure des mitochondries, il est impliqué dans la signalisation mitochondriale des cellules tumorales, et peut être à la base de leur capacité de prolifération. Son effet sur la balance redox mitochondriale et le remodelage des crêtes apoptotiques, constatant que, en maintenant les niveaux d'ATP, IF1 réduit le niveau du glutathion (GSH) avec inactivation de la peroxyrédoxine 3 (Prx3) pendant l'apoptose (Fig. 41). IF1 est surexprimée dans différents types de cancers humains, cette surexpression est corrélée avec une polymérisation de la membrane mitochondriale contribuant, ainsi, à un ralentissement de la machinerie oxydative mitochondriale au profit du métabolisme glycolytique, cette reprogrammation métabolique favorisant la prolifération, la survie et la chimiorésistance des cellules cancéreuses (Faccenda et al., 2017 ; Formentini et al., 2012).



**Fig. 41. Contribution d'IF1 au processus de cancérogénèse.** IF1 maintient le pool de l'ATP mitochondrial pendant l'apoptose, elle favorise la survie des cellules cancéreuses en réduisant le GSH et le Prx3. En empêchant le remodelage des crêtes IF1 joue un rôle anti-apoptotique qui est lié à la fois au métabolisme et à la structure de la mitochondrie.

# **CONCLUSION GENERALE**

Le cancer est une pathologie génétique à grande échelle dans laquelle des modifications qualitative et quantitative touchent l'expression de nombreux gènes. Certains de ces gènes sont des cibles thérapeutiques potentielles, alors que d'autres sont des marqueurs tumoraux probables, très utiles pour pronostiquer, diagnostiquer et/ou dépister la maladie de façon précoce. En dépit du fait que le but principal de ce travail était de chercher des ARNm dont l'expression est altérée et qui peuvent constituer un réservoir de gènes candidats pour développer des stratégies thérapeutique et/ou diagnostique, nous avons initié notre projet par une étude rétrospective sur les données épidémiologique et clinico-pathologique dans la Wilaya de Jijel, ainsi qu'une enquête nutritionnelle. Ce travail a été très utile et nous a confortés dans la démarche pour explorer ce fléau.

Le CCR reste un problème significatif pour la santé publique, malgré, des avancées dans le domaine de la thérapie ciblée. Il a été démontré qu'environ 30% des CCR étaient héréditaires (Grady, 2005). Le CCR correspond à l'accumulation progressive de mutations géniques, conduisant à l'activation d'oncogènes et l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs. Les CCR constituent une proportion importante du fardeau mondial de la morbidité et de la mortalité par cancer. Selon, le Plan National Cancer 2015-2019, le CCR en Algérie connaît une progression grandissante, depuis, le milieu des années 2000.

La présente étude a permis d'établir les profils des CCR dans la Wilaya de Jijel. Notre travail empli de statistiques, de constats et de recommandations organisationnelles, s'est inscrit donc dans cette optique. Il a eu pour objet de décrire une pathologie cancéreuse à incidence, en augmentation constante et qui devient un grave problème de santé publique. C'est l'une des préoccupations de la population, des professionnels et des décideurs. Les données collectées dans la partie épidémiologique confirment la progression ininterrompue du CCR dans la Wilaya, vu que ces dernières années ont marqué une réelle augmentation par rapport aux années précédentes. Ainsi, les résultats obtenus indiquent un mauvais pronostic du CCR et une prédominance des ADK de type lieberkühnien bien différencié et d'architecture tubuleux-papillaire, présentant une localisation tumorale droite dans la plupart des cas étudiés. Ainsi, la grande majorité des CCR ont été diagnostiqués à des stades avancés, stade II et III voir métastatique. Par ailleurs, l'étude anatomopathologique dans ce travail est la plus porteuse, en matière de résultats vu qu'elle peut enrichir le profil du CCR dans la Wilaya. Les données épidémiologiques obtenues peuvent servir d'outil important pour la réalisation d'un registre de cancer, plus performant pour la région.

Aujourd'hui, le pronostic global du CCR demeure sévère. Bien que, la majorité des patients soit opérée en intention curative, le taux de récurrence postopératoire est extrêmement élevé. Cette vision pessimiste est particulièrement vraie, nous avons constaté une absence d'un programme de dépistage précoce, puisque les patients n'ont bénéficié d'une coloscopie qu'après l'apparition des signes révélateurs de la tumeur. La mise en place de dépistage devrait permettre une détection plus précoce et un meilleur pronostic. Le développement d'un adénome, puis, d'un CCR correspond à l'accumulation progressive de mutations de gènes dans les cellules épithéliales coliques, l'activation d'oncogènes et l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs. De ce fait, la recherche et le développement de nouveaux outils de diagnostic des CCR demeure un sujet d'actualité, surtout avec le développement tangible des techniques de la Biologie Moléculaire et la détection de nombreuses altérations au niveau des gènes impliqués dans la cancérogenèse colorectale tels que KRAS, P53 et APC. Notre étude a montré que chez les patients ayant le gène KRAS muté, la tumeur était localisée dans la jonction recto-sigmoïdienne et les CCR étaient tardifs. Nous avons confirmé que la mutation du gène KRAS était associée à une métastase ganglionnaire et aux stades avancés.

Plus que la moitié des patients ont été la cible d'une chimiothérapie adjuvante et un tiers d'une chimiothérapie néo-adjuvante et le protocole le plus appliqué était XELOX+BEVA. La majorité des patients demeure incurable au moment du diagnostic ou lorsque la récurrence survient. Bien que des progrès diagnostiques et thérapeutiques importants aient été réalisés, on ne guérit actuellement qu'un CCR sur deux. A l'heure actuelle, le meilleur moyen de lutter contre cette maladie reste la prévention. La prévention primaire ou passive consiste à agir sur les causes du cancer pour prévenir son apparition. C'est la stratégie à privilégier à chaque fois que les causes du cancer sont connues. Malheureusement, nos connaissances sur les CCR restent limitées, on connaît, seulement, les grandes lignes d'un comportement alimentaire, permettant de diminuer le risque. On peut recommander de ne pas fumer, de ne pas boire de l'alcool, de manger beaucoup de légumes et fruits riches en fibres, d'éviter les excès alimentaires et d'avoir une activité physique dans le cadre du travail et des loisirs. Ces mesures pourraient diminuer d'au moins un tiers le risque de CCR.

La prévention secondaire ou active consiste à détecter précocement le cancer à un stade curable. A courts termes, le dépistage est le seul moyen de réduire la mortalité et la morbidité liées aux CCR. Le but est de détecter le plus tôt possible les récurrences à un stade asymptomatique, pour permettre un nouveau traitement curatif. Les surveillances, incluent, des visites fréquentes, des dosages d'ACE, des radiographies, des imageries hépatiques et des coloscopies. Nos résultats n'indiquent pas un impact majeur du régime alimentaire sur

l'incidence du CCR. Le changement du comportement de santé joue probablement un rôle clé dans ces résultats, car la majorité des patients modifient leur régime alimentaire après avoir été diagnostiqués à un régime plus sain. Notre étude a montré que le plus grand nombre des patients résident au chef-lieu de la willaya. Cette observation différentielle s'expliquerait par la sédentarité des populations, l'enclavement de la région et la singularité du mode de vie. Ce travail constitue une introduction à l'étude de l'effet des facteurs environnementaux, principalement du régime alimentaire, sur la survenue des CCR. L'évaluation de facteurs tels que la pollution et la qualité nutritionnelle des aliments devrait faciliter la prévention primaire.

Par ailleurs, la notion de profils d'expression différentielle offre une alternative intéressante aux méthodes traditionnelles des profils d'expression. Elle conduit, en effet, à regrouper un ensemble des gènes dont l'expression varie de la même façon entre deux situations. Les gènes présentant des niveaux d'expression différents dans chacune des situations considérées se retrouveraient systématiquement dans des profils différents. L'approche différentielle permet de guider l'analyse des données en fonction du point de vue souhaité : par exemple, explorer seulement les gènes dont l'expression augmente entre deux situations données. La combinatoire des paires de situations augmente rapidement, en fonction du nombre de situations considérées. Parmi tous ces profils, il importera d'aider le biologiste à désigner le petit nombre de profils qu'il souhaite interpréter. Ainsi, la définition de profils d'expression différentielle permet de réduire la surcharge informationnelle de l'utilisateur et d'orienter l'analyse vers les résultats qui l'intéressent en priorité.

Ainsi, nous avons utilisé le criblage différentiel sur filtres HD pour analyser une partie du transcriptome d'une tumeur colique appropriée. Nos résultats ont permis de présélectionner deux clones codant deux gènes régulateurs de l'énergie cellulaire comme étant potentiellement surexprimés, il s'agissait d'IF1 et de la GAPDH. En particulier, l'expression de ces deux gènes a été analysée par Northern blot dans des couples de tissus cancéreux et normaux provenant de patients atteints de CCR. De plus la séquence complète de l'ARNm a été obtenue. Les gènes activés représentent des transcrits codant pour des protéines spécifiques de l'état tumoral, c'est-à-dire des marqueurs biologiques potentiels. La surexpression de facteurs de croissance ou à effet anti-apoptotique pourrait avoir une relation directe avec l'évolution tumorale. Les ADNc surexprimés les plus pertinents ont des caractéristiques d'expression compatibles avec celles d'un marqueur biologique (Répétitivité, spécificité).

Par ailleurs, la confirmation des profils d'expression d'IF1 et de la GAPDH a permis de consolider, grandement, nos résultats obtenus par criblage différentiel sur filtres HD,

démontrant, ainsi, l'efficacité d'une approche systématique dans la recherche de gènes différentiellement exprimés, notamment dans le CCR (Rechreche et Iovanna, 2008 ; Rechreche et al., 1999 ; Rechreche et al., 1997). En effet, le criblage différentiel sur filtres HD des 'EST' est une nanobiotechnologie robuste de principe et rapide de réalisation. Cependant, l'apparition des puces ADN et leur développement rapide a considérablement limité, voir, rendu obsolète l'utilisation des filtres HD, comme support d'hybridation dans le criblage différentiel.

Dans un contexte caractérisé par la concomitance de la surexpression d'IF1 et de la GAPDH, deux gènes régulateurs de l'énergie cellulaire, la forte activité glycolytique des cellules cancéreuses pourrait être associée à une résistance des cellules à différentes thérapies comme des agents de chimiothérapie ou des molécules de thérapie ciblée. En effet, la reprogrammation du métabolisme énergétique dans les cellules tumorales semble induire plusieurs mécanismes à l'origine de cette résistance. Tout d'abord, la forte activité glycolytique des cellules cancéreuses entraîne une augmentation de la production d'ATP et de NADPH. Des niveaux élevés d'ATP provoquent alors l'activation des transporteurs ABC (ATP-binding cassette), qui permettent l'efflux des agents anticancéreux en dehors des cellules. Le NADPH contribue quant à lui au fonctionnement optimal des systèmes antioxydants, limitant ainsi l'action des agents anticancéreux dont le mode d'action repose sur l'induction d'un stress oxydant. Ensuite, la libération de lactate induite par la forte activité glycolytique des cellules cancéreuses provoque une acidification du milieu extracellulaire, qui à son tour entraîne une baisse de l'absorption passive des agents anticancéreux (Zhao et al. 2013). La stimulation de la glycolyse dans les cellules cancéreuses semble donc contrecarrer l'action d'agents anticancéreux. De même, le métabolisme mitochondrial semble contribuer à la résistance des cellules cancéreuses à certaines molécules de chimiothérapie. De plus, la stimulation de la phosphorylation oxydative est associée à la résistance de novo et acquise des cellules cancéreuses aux inhibiteurs de kinases oncogéniques (Marchetti et al., 2016).

Enfin, cibler le métabolisme énergétique des cellules cancéreuses pourrait constituer une stratégie prometteuse pour augmenter l'action de divers agents anticancéreux. De nombreuses études *in vitro* et *in vivo* ont donc été initiées, afin de tester cette hypothèse. De même, des études cliniques sont en cours de réalisation. L'ensemble de ces données suggère que cibler le métabolisme énergétique des cellules cancéreuses, présente un potentiel thérapeutique prometteur. A ce jour, un seul composé ciblant le métabolisme énergétique est toutefois autorisé sur le marché. Les thiazolidinediones pourraient être des candidats intéressants.

# **BIBLIOGRAPHIE**

- Abderrahmane, R., Louhibi, L., Moghtit, F. Z., Boubekour, A., Benseddik, K., Boudjema, A., ... & Saidi-Mehtar, N. (2015). TP53 Arg 72 Pro and MDM2 SNP309 polymorphisms and colorectal cancer risk: a west Algerian population study. *Pathology & Oncology Research*, **21** (3): 629-35.
- Adams, M. D., Kelley, J. M., Gocayne, J. D., Dubnick, M., Polymeropoulos, M. H., Xiao, H., ... & Moreno, R. F. (1991). Complementary DNA sequencing: expressed sequence tags and human genome project. *Science*, **252** (5013): 1651-6.
- Adelstein, B. A., Macaskill, P., Chan, S. F., Katelaris, P. H., & Irwig, L. (2011). Most bowel cancer symptoms do not indicate colorectal cancer and polyps: a systematic review. *BMC Gastroenterol.*, **11**.
- AICR/WCRF. (2007). Food, nutrition, physical activity and the prevention of cancer: a global perspective: a project of World Cancer Research Fund International (Washington, D.C: *American Institute for Cancer Research*).
- AICR/WCRF. (2011). Continuous Update Project Report. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Colorectal Cancer (Washington, D.C).
- Alavian, K. N., Beutner, G., Lazrove, E., Sacchetti, S., Park, H. A., Licznerski, P., ... & Porter, G. A. (2014). An uncoupling channel within the c-subunit ring of the F1FO ATP synthase is the mitochondrial permeability transition pore. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **111** (29): 10580-5.
- Aleksandrova, K., Nimptsch, K., & Pischon, T. (2013). Influence of obesity and related metabolic alterations on colorectal cancer risk. *Current Nutrition Reports*, **2** (1): 1-9.
- Aleksandrova, K., Pischon, T., Jenab, M., Bueno-de-Mesquita, H. B., Fedirko, V., Norat, T., ... & Dartois, L. (2014). Combined impact of healthy lifestyle factors on colorectal cancer: a large European cohort study. *BMC Medicine*, **12** (1): 168.
- Alexander, D. D., Weed, D. L., Miller, P. E., & Mohamed, M. A. (2015). Red meat and colorectal cancer: a quantitative update on the state of the epidemiologic science. *Journal of the American College of Nutrition*, **34** (6): 521-43.
- Al-Sohaily, S., Biankin, A., Leong, R., Kohonen-Corish, M., & Warusavitarne, J. (2012). Molecular pathways in colorectal cancer. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, **27** (9): 1423-31.
- Altenberg, B., & Greulich K. O. (2004). "Genes of glycolysis are ubiquitously overexpressed in 24 cancer classes. *Genomics*, **84** (6): 1014-20.
- ACS. American Cancer Society. (2015). What Is Cancer? A Guide for Patients and Families. Extrait de : <http://www.cancer.org/cancer/cancerbasics/what-is-cancer>.
- Anand, P., Kunnumakkara, A. B., Kunnumakara, A. B., Sundaram, C., Harikumar, K. B., Tharakan, S. T., ... & Aggarwal, B. B. (2008). Cancer is a preventable disease that requires major lifestyle changes. *Pharm. Res.*, **25**: 2097-116.
- André, T., Tournigand, C., Achille, E., Tubiana-Mathieu, N., Lledo, G., Raoul, Y., ... & Meyer, V. G. (2006). Adjuvant treatment of colon cancer MOSAIC study's main results. *Bulletin du Cancer*, **93** (2): 5-9.
- Anesti, V., & Scorrano, L. (2006). The relationship between mitochondrial shape and function and the cytoskeleton. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, **1757** (5-6): 692-9.
- Annunziata, I., & d'Azzo, A. (2013). Interorganellar membrane microdomains: dynamic platforms in the control of calcium signaling and apoptosis. *Cell*, **2** (3): 574-90.

ANSES. (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) (2011).

Appleby, R. D., Porteous, W. K., Hughes, G., James, A. M., Shannon, D., Wei, Y. H., & Murphy, M. P. (1999). Quantitation and origin of the mitochondrial membrane potential in human cells lacking mitochondrial DNA. *European Journal of Biochemistry*, **262** (1): 108-16.

Assenat, É., Duffour, J., & Ychou, M. (2006). Modalités d'administration de l'irinotecan dans le traitement du cancer colorectal métastatique. *Bulletin du Cancer*, **93** (5) : 507-15.

Astin, M., Griffin, T., Neal, R. D., Rose, P., & Hamilton, W. (2011). The diagnostic value of symptoms for colorectal cancer in primary care: a systematic review. *Br J. Gen. Pract.*, **61** (586): 231-43.

Aune, D., Lau, R., Chan, D. S., Vieira, R., Greenwood, D. C., Kampman, E., & Norat, T. (2011). Nonlinear reduction in risk for colorectal cancer by fruit and vegetable intake based on meta-analysis of prospective studies. *Gastroenterology*, **141** (1): 106-18.

Ausubel, F. M., Brent, R., & Kingston, R. E. (1988). *Current Protocols in Molecular Biology*, vol 1&2, New York, Wiley

Azam, S., Jouvét, N., Jilani, A., Vongsamphanh, R., Yang, X., Yang, S., & Ramotar, D. (2008). Human glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase plays a direct role in reactivating oxidized forms of the DNA repair enzyme APE1. *Journal of Biological Chemistry*, **283** (45): 30632-41.

Baggetto, L. G. (1992). Deviant energetic metabolism of glycolytic cancer cells. *Biochimie*, **74** (11): 959-74.

Baker, A. M., Cereser, B., Melton, S., Fletcher, A. G., Rodriguez-Justo, M., Tadrous, P. J., ... & Wright, N. A. (2014). Quantification of crypt and stem cell evolution in the normal and neoplastic human colon. *Cell Rep*, **8**: 940-7.

Baker, M. J., Frazier, A. E., Gulbis, J. M., & Ryan, M. T. (2007). Mitochondrial protein-import machinery: correlating structure with function. *Trends in Cell Biology*, **17** (9): 456-64.

Baldus, S. E., Mönig, S. P., Huxel, S., Landsberg, S., Hanisch, F. G., Engelmann, K., ... & Dienes, H. P. (2004). MUC1 and nuclear  $\beta$ -catenin are coexpressed at the invasion front of colorectal carcinomas and are both correlated with tumor prognosis. *Clinical Cancer Research*, **10** (8): 2790-6.

Balinsky, D., Platz, C. E., & Lewis J. W. (1984). "Enzyme activities in normal, dysplastic, and cancerous human breast tissues." *J Natl Cancer Inst*, **72** (2): 217-24.

Bando, H., Yoshino, T., Shinozaki, E., Nishina, T., Yamazaki, K., Yamaguchi, K., ... & Tsuchihara, K. (2013). Simultaneous identification of 36 mutations in KRAS codons 61 and 146, BRAF, NRAS, and PIK3CA in a single reaction by multiplex assay kit. *BMC Cancer*, **13** (1): 405.

Barbazán, J., Muñelo-Romay, L., Vieito, M., Candamio, S., Díaz-López, A., Cano, A., ... & López-López, R. (2014). A multimarker panel for circulating tumor cells detection predicts patient outcome and therapy response in metastatic colorectal cancer. *International Journal of Cancer*, **135** (11): 2633-43.

Barbot, M., Jans, D. C., Schulz, C., Denkert, N., Kroppen, B., Hoppert, M., Jakobs, S., & Meinecke, M. (2015). Mic10 oligomerizes to bend mitochondrial inner membranes at cristae junctions. *Cell Metab.*, **21**: 756-63.

- Baron, J. A., Barry, E. L., Mott, L. A., Rees, J. R., Sandler, R. S., Snover, D. C., ... & Beck, G. J. (2015). A trial of calcium and vitamin D for the prevention of colorectal adenomas. *New England Journal of Medicine*, **373** (16): 1519-30.
- Bason, J. V., Montgomery, M. G., Leslie, A. G., & Walker, J. E. (2014). Pathway of binding of the intrinsically disordered mitochondrial inhibitor protein to F1-ATPase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **111** (31): 11305-10.
- Bellance, N., Lestienne, P. & Rossignol, R. (2009). Mitochondria: from bioenergetics to the metabolicregulation of carcinogenesis. *Frontiers in Bioscience (Landmark edition)*, **14**: 4015-34.
- Ben, Q., Sun, Y., Chai, R., Qian, A., Xu, B., & Yuan, Y. (2014). Dietary fiber intake reduces risk for colorectal adenoma: a meta-analysis. *Gastroenterology*, **146** (3): 689-99.
- Benamouzig, R., Chaussade, S., & Olschwang, S. (2005). Les polyposes coliques : Attitudes pratiques. *Gastroentérologie Clinique et Biologique*, **29** (10) : 1035-9.
- Bernardi, P., Di Lisa, F., Fogolari, F., & Lippe, G. (2015). From ATP to PTP and back: a dual function for the mitochondrial ATP synthase. *Circulation Research*, **116** (11): 1850-62.
- Bertin, S., Samson, M., Pons, C., Guignon, J. M., Gavelli, A., Baque, P., ... & Pierrefite-Carle, V. (2008). Comparative proteomics study reveals that bacterial CpG motifs induce tumor cell autophagy in vitro and in vivo. *Molecular & Cellular Proteomics*, **7** (12): 2311-22.
- Bertucci, F., Finetti, P., Rougemont, J., Charafe-Jauffret, E., Nasser, V., Llorca, B., ... & Nguyen, C. (2004). Gene expression profiling for molecular characterization of inflammatory breast cancer and prediction of response to chemotherapy. *Cancer Research*, **64** (23): 8558-65.
- Bhagwat, A. A., & Keister, D. L. (1992). Identification and cloning of *Bradyrhizobium japonicum* genes expressed strain selectively in soil and rhizosphere. *Appl. Environ. Microbiol.*, **58** (5): 1490-5.
- Bhalla, A., Zulfikar, M., & Bluth, M. H. (2018). Molecular Diagnostics in Colorectal Carcinoma: Advances and Applications for 2018. *Clinics in Laboratory Medicine*, **38** (2): 311-42.
- Bhatia-Kiššová, I., & Camougrand, N. (2010). Mitophagy in yeast: actors and physiological roles. *FEMS Yeast Research*, **10** (8): 1023-34.
- Bickersteth, R.A. (1890). Multiple polypi of the rectum occurring in a mother and child. *St. Bart's Hosp Rep*, **26**: 299.
- Binefa, G., Rodríguez-Moranta, F., Teule, À., & Medina-Hayas, M. (2014). Colorectal cancer: from prevention to personalized medicine. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, **20** (22): 6786.
- Birsoy, K., Wang, T., Possemato, R., Yilmaz, O. H., Koch, C. E., Chen, W. W., ... & Brummelkamp, T. R. (2013). MCT1-mediated transport of a toxic molecule is an effective strategy for targeting glycolytic tumors. *Nature Genetics*, **45** (1): 104.
- Bishehsari, F., Mahdavinia, M., Vacca, M., Malekzadeh, R., & Mariani-Costantini, R. (2014). Epidemiological transition of colorectal cancer in developing countries: environmental factors, molecular pathways, and opportunities for prevention. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, **20** (20): 6055.
- Bogaert, J., & Prenen, H. (2014). Molecular genetics of colorectal cancer. *Annals of Gastroenterology*, **27** (1): 9.

- Boland, C. R., & Goel, A. (2010). "Microsatellite instability in colorectal cancer. *Gastroenterology*, **138** (6): 2073-87.
- Bon Min, K. O. (2014). Colon cancer screening with Image-Enhanced Endoscopy. *Clin. Endosc.*, **47**: 504-8.
- Botteri, E., Iodice, S., Raimondi, S., Maisonneuve, P., & Lowenfels, A. B. (2008). Cigarette smoking and adenomatous polyps: a meta-analysis. *Gastroenterology*, **134** (2): 388-95.
- Boyle, P., & Langman, J. S. (2000). ABC of colorectal cancer: Epidemiology. *BMJ*, **321**: 805-8.
- Boyle, T. (2012). Physical activity and colon cancer: timing, intensity, and sedentary behavior. *American Journal of Lifestyle Medicine*, **6** (3): 204-15.
- Brand, K. A., & Hermfisse, U. (1997). Aerobic glycolysis by proliferating cells: a protective strategy against reactive oxygen species. *The FASEB Journal*, **11** (5): 388-95.
- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a Cancer Journal for Clinicians*, **68** (6): 324-94.
- Brenner, A. T., Dougherty, M., & Reuland, D. S. (2017). Colorectal cancer screening in average risk patients. *Medical Clinics*, **101** (4): 755-67.
- Brinkmann, H., Cerff, R., Salomon, M., & Soll J. (1989). Cloning and sequence analysis of cDNAs encoding the cytosolic precursors of subunits GapA and GapB of chloroplast glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase from pea and spinach. *Plant Mol. Biol.*, **13** (1): 81-94.
- Brosens, L. A., Wood, L. D., Offerhaus, G. J., Arnold, C. A., Lam-Himlin, D., Giardiello, F. M., & Montgomery, E. A. (2016). Pathology and genetics of syndromic gastric polyps. *International Journal of Surgical Pathology*, **24** (3): 185-99.
- Budhathoki, S., Yamaji, T., Iwasaki, M., Sawada, N., Shimazu, T., Sasazuki, S., ... & Tsugane, S. (2016). Vitamin D receptor gene polymorphism and the risk of colorectal cancer: a nested case-control study. *PLoS one*, **11** (10): 614-48.
- Budinska, E., Popovici, V., Tejpar, S., D'Ario, G., Lapique, N., Sikora, K. O., ... & Bosman, F. (2013). Gene expression patterns unveil a new level of molecular heterogeneity in colorectal cancer. *The Journal of Pathology*, **231** (1): 63-76.
- Burks, C., Cassidy, M., Cinkosky, M. J., Cumella, K. E., Gilna, P., Hayden, J. E. D., ... & Ryals, J. (1991). GenBank. *Nucleic Acids Research*, **19** (suppl): 2221-5.
- Butera, G., Mullappilly, N., Masetto, F., Palmieri, M., Scupoli, M. T., Pacchiana, R., & Donadelli, M. (2019). Regulation of Autophagy by Nuclear GAPDH and Its Aggregates in Cancer and Neurodegenerative Disorders. *International Journal of Molecular Sciences*, **20** (9): 2062.
- Butterworth, A. S., Higgins, J. P., & Pharoah, P. (2006). Relative and absolute risk of colorectal cancer for individuals with a family history: a meta-analysis. *European Journal of Cancer*, **42** (2): 216-27.
- Cabezón, E., Arechaga, I., Jonathan, P., Butler, G., & Walker, J. E. (2000). Dimerization of bovine F1-ATPase by binding the inhibitor protein, IF1. *Journal of Biological Chemistry*, **275** (37): 28353-5.
- Cabezón, E., Montgomery, A. G., Leslie, J. J., & Walker, J. E. (2003). The structure of bovine F1-ATPase in complex with its regulatory protein IF1. *Nat. Struct. Biol.*, **10** (9): 744-50.

- Cade, J., Thompson, R., Burley, V., & Warm, D. (2002). Development, validation and utilisation of food-frequency questionnaires-a review. *Public Health Nutrition*, *5* (4): 567-87.
- Cairns, R. A., Harris, I. S., & Mak, T. W. (2011). Regulation of cancer cell metabolism. *Nature Reviews Cancer*, *11* (2): 85.
- Campanella, M., Casswell, E., Chong, S., Farah, Z., Wieckowski, M. R., Abramov, A. Y., ... & Duchon, M. R. (2008). Regulation of mitochondrial structure and function by the F<sub>1</sub>F<sub>o</sub>-ATPase inhibitor protein, IF1. *Cell Metabolism*, *8* (1): 13-25.
- Capuano, F., Guerrieri, F., & Papa, S. (1997). Oxidative phosphorylation enzymes in normal and neoplastic cell growth. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, *29* (4): 379-84.
- Cerella, C., D'Alessio, M., Cristofanon, S., De Nicola, M., Radogna, F., Dicato, M., ... & Ghibelli, L. (2009). Subapoptogenic Oxidative Stress Strongly Increases the Activity of the Glycolytic Key Enzyme Glyceraldehyde 3-Phosphate Dehydrogenase: Possible Involvement in an Adaptative Response to the Stress. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1171* (1): 583-90.
- Cerella, C., Dicato, M., & Diederich, M. (2014). Modulatory roles of glycolytic enzymes in cell death. *Biochemical Pharmacology*, *92* (1): 22-30.
- Chaiadini, E., Scapi, E., Passardi, A., Calistri, M. V., Saragoni, L., Zoli, W., & Ulivi, P. (2015). EGFR methylation and outcome of patients with advanced colorectal cancer treated with cetuximab. *Oncology Letters*, 1432-8.
- Chan, D. S. M., Lau, R., Aune, D., Vieira, R., Greenwood, D. C., Kampman, E., & Norat, T. (2011). Red and processed meat and colorectal cancer incidence: meta-analysis of prospective studies. *PLoS One*, *6*: 20456.
- Chang, Y. Y., Lin, J. K., Lin, T. C., Chen, W. S., Jeng, K. J., Yang, S. H., ... & Chang, S. C. (2014). Impact of KRAS mutation on outcome of patients with metastatic colorectal cancer. *Hepato-Gastroenterology*, *61* (135): 1946-53.
- Chantret, I., Barbat, A., Dussaulx, E., Brattain, M. G., & Zweibaum, A. (1988). Epithelial polarity, villin expression, and enterocytic differentiation of cultured human colon carcinoma cells: a survey of twenty cell lines. *Cancer Research*, *48* (7): 1936-42.
- Chen, J., Guo, F., Shi, X., Zhang, L., Zhang, A., Jin, H., & He, Y. (2014). BRAF V600E mutation and KRAS codon 13 mutations predict poor survival in Chinese colorectal cancer patients. *BMC Cancer*, *14* (1): 802.
- Cheng, X., Xu, X., Chen, D., Zhao, F., & Wang, W. (2019). Therapeutic potential of targeting the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway in colorectal cancer. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *110*: 473-81.
- Chin, R. M., Fu, X., Pai, M. Y., Vergnes, L., Hwang, H., Deng, G., ... & Hu, E. (2014). The metabolite  $\alpha$ -ketoglutarate extends lifespan by inhibiting ATP synthase and TOR. *Nature*, *510* (7505): 397.
- Chomczynski, P., & Sacchi, N. (1987). Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Analytical Biochemistry*, *162* (1): 156-9.
- Chun, Y. J., Sohn, S. K., Song, H. K., Lee, S. M., Youn, Y. H., Lee, S., & Park, H. (2015). Associations of colorectal cancer incidence with nutrient and food group intakes in Korean adults: a case-control study. *Clinical Nutrition Research*, *4* (2): 110-23.
- Ciardiello, D., Vitiello, P. P., Cardone, C., Martini, G., Troiani, T., Martinelli, E., & Ciardiello, F. (2019). Immunotherapy of colorectal cancer: Challenges for therapeutic efficacy. *Cancer Treatment Reviews*.

- Cintron, N. M., & Pedersen, P. L. (1979). A protein inhibitor of the mitochondrial adenosine triphosphatase complex of rat liver. Purification and characterization. *Journal of Biological Chemistry*, **254** (9): 3439-43.
- Cipolat, S., Martins de Brito, O., Dal Zilio, B., and Scorrano, L. (2004). OPA1 requires mitofusin 1 to promote mitochondrial fusion. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**: 15927-32.
- Clancy, M. J., Buten-Magee, B., Straight, D. J., Kennedy, A. L., Partridge, R. M., & Magee, P. T. (1983). Isolation of genes expressed preferentially during sporulation in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **80** (10): 3000-4.
- Cobessi, D., Tete-Favier, F., Marchal, S., Branlant, G., & Aubry A. (2000) Structural and biochemical investigations of the catalytic mechanism of an NADP-dependent aldehyde dehydrogenase from *Streptococcus mutans*. *J. Mol. Biol.*, **300** (1): 141-52.
- Cochran, B. H., Reffel, A. C., & Stiles, C. D. (1983). Molecular cloning of gene sequences regulated by platelet-derived growth factor. *Cell*, **33** (3): 939-47.
- Cogliati, S., Enriquez, J.A., & Scorrano, L. (2016). Mitochondrial Cristae: Where Beauty Meets Functionality. *Trends Biochem. Sci.*, **41**: 261-73.
- Colangelo, L. A., Gapstur, S. M., Gann, P. H., & Dyer, A. R. (2004). Cigarette smoking and colorectal carcinoma mortality in a cohort with long-term follow-up. *Cancer*, **100**: 288-93.
- Colell, A., Green, D. R., & Ricci, J. E. (2009). Novel roles for GAPDH in cell death and carcinogenesis. *Cell Death and Differentiation*, **16** (12): 1573.
- Colell, A., Ricci, J. E., Tait, S., Milasta, S., Maurer, U., Bouchier-Hayes, L., ... & Mari, B. (2007). GAPDH and autophagy preserve survival after apoptotic cytochrome c release in the absence of caspase activation. *Cell*, **129** (5): 983-97.
- Collège Français des Pathologistes (CoPath). Anatomie Pathologique. *Elsevier Health Sciences France*, **2013**.
- Corbier, C., Mouglin, A., Mely, Y., Adolph, H. W., Zeppezauer, M., Gerard, D., ... & Branlant, G. (1990). The nicotinamide subsite of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase studied by site-directed mutagenesis. *Biochimie*, **72** (8): 545-54.
- Cordier-Bussat, M., Thibert, C., Sujobert, P., Genestier, L., Fontaine, É., & Billaud, M. (2018). Même l'effet Warburg est oxydable-Coopération métabolique et développement tumoral. *Médecine/Sciences*, **34** (8-9) : 701-8.
- Costello, L. C., & Franklin, R. B. (1994). Bioenergetic theory of prostate malignancy. *The Prostate*, **25** (3): 162-6.
- Cuezva, J. M., Krajewska, M., de Heredia, M. L., Krajewski, S., Santamaría, G., Kim, H., ... & Reed, J. C. (2002). The bioenergetic signature of cancer: a marker of tumor progression. *Cancer Research*, **62** (22): 6674-81.
- Cunningham, D., Atkin, W., Lenz, H. J., Lynch, H. T., Minsky, B., Nordlinger, B., & Starling, N. (2010). *Colorectal cancer. The Lancet*, **375**: 1030-47.
- Daly-Schweitzer, N. (2011). Suivi médical du patient traité pour un cancer. *Elsevier Masson*, 21-2.

- Dang, C. V., & Semenza, G. L. (1999). Oncogenic alterations of metabolism. *Trends in Biochemical Sciences*, **24** (2): 68-72.
- Darré, T., Amégbor, K., Bagny, A., Sewa, E., Tchangai, B., Sakiye, A., ... & Napo-Koura G. (2014). Histo-epidemiological profile of the colorectal cancers in Togo. *J. Afr. Hépatol. Gastroentérol.*, **8**: 226-9.
- Das, A. M. (2003). Regulation of the mitochondrial ATP-synthase in health and disease. *Molecular Genetics and Metabolism*, **79** (2): 71-82.
- Das, A. M., & Harris, D. A. (1990). Control of mitochondrial ATP synthase in heart cells: inactive to active transitions caused by beating or positive inotropic agents. *Cardiovascular Research*, **24** (5): 411-7.
- Davies, K. M., Strauss, M., Daum, B., Kief, J. H., Osiewacz, H. D., Rycovska, A., ... & Kühlbrandt, W. (2011). Macromolecular organization of ATP synthase and complex I in whole mitochondria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **108** (34): 14121-6.
- De Felice, F., Musio, D., Izzo, L., & Tombolini, V. (2014). Neoadjuvant chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer: The debate continues. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*, **6** (12):438.
- De Macêdo, M. P., de Melo, F. M., Lisboa, B. C. G., Andrade, L. D. B., de Souza Begnami, M. D. F., Junior, S. A., ... & da Cunha, I. W. (2015). KRAS gene mutation in a series of unselected colorectal carcinoma patients with prognostic morphological correlations: a pyrosequencing method improved by nested PCR. *Experimental and Molecular Pathology*, **98** (3): 563-7.
- DeBerardinis, R. J., Lum, J. J., Hatzivassiliou, G., & Thompson, C. B. (2008). The biology of cancer: metabolic reprogramming fuels cell growth and proliferation. *Cell Metabolism*, **7** (1): 11-20.
- Di Pancrazio, F., Mavelli, I., Isola, M., Losano, G., Pagliaro, P., Harris, D. A., & Lippe, G. (2004). In vitro and in vivo studies of FOF1ATP synthase regulation by inhibitor protein IF1 in goat heart. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, **1659** (1): 52-62.
- Domenis, R., Bisetto, E., Rossi, D., Comelli, M., & Mavelli, I. (2012). Glucose-modulated mitochondria adaptation in tumor cells: a focus on ATP synthase and inhibitor factor 1. *International Journal of Molecular Sciences*, **13** (2): 1933-50.
- Domenis, R., Comelli, M., Bisetto, E., & Mavelli, I. (2011). Mitochondrial bioenergetic profile and responses to metabolic inhibition in human hepatocarcinoma cell lines with distinct differentiation characteristics. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, **43** (5): 493.
- Don, R. H., Cox, P. T., Wainwright, B. J., Baker, K., & Mattick, J. S. (1991). 'Touchdown'PCR to circumvent spurious priming during gene amplification. *Nucleic Acids Research*, **19** (14): 4008.
- Donald, N., Malik, S., McGuire, J. L., & Monahan, K. J. (2018). The association of low penetrance genetic risk modifiers with colorectal cancer in lynch syndrome patients: a systematic review and meta-analysis. *Familial Cancer*, **17** (1): 43-52.
- Dorn, G. W., Vega, R. B., & Kelly, D. P. (2015). Mitochondrial biogenesis and dynamics in the developing and diseased heart. *Genes & Development*, **29** (19): 1981-91.
- Dow, L. E., O'Rourke, K. P., Simon, J., Tschaharganeh, D. F., van Es, J. H., Clevers, H., & Lowe, S. W. (2015). Apc restoration promotes cellular differentiation and reestablishes crypt homeostasis in colorectal cancer. *Cell*, **161** (7): 1539-52.

- Downward, J. (2003). Role of receptor tyrosine kinases in G-protein-coupled receptor regulation of Ras: transactivation or parallel pathways? *Biochem. J.*, **376**: e9-e10.
- Dubé, C., & Rabeneck, L. (2019). Colorectal cancer: population screening and surveillance. *Evidence-based Gastroenterology and Hepatology*, 271.
- Dukes, C. E. (1932). The classification of cancer of the rectum. *The Journal of Pathology and Bacteriology*, **35** (3): 323-32.
- Durko, L., & Malecka-Panas, E. (2014). Lifestyle modifications and colorectal cancer. *Current Colorectal Cancer Reports*, **10** (1): 45-54.
- Eden, E., Navon, R., Steinfeld, I., Lipson, D., & Yakhini, Z. (2009). GOrilla: a tool for discovery and visualization of enriched GO terms in ranked gene lists. *BMC Bioinformatics*, **10** (1): 48.
- El Housse, H., Ajbara, W., Amsaguine, S., El Amrani, N., Drissi, H., Ahallat, M., & Radallah, D. (2015). Profils épidémiologique et anatomoclinique d'une population marocaine atteinte de cancer colorectal. *Journal Africain du Cancer/African Journal of Cancer*, **7** (2) : 95-9.
- Eng, C. (2010). The evolving role of monoclonal antibodies in colorectal cancer: early presumptions and impact on clinical trial development. *The Oncologist*, **15** (1): 73-84.
- English, D. R., MacInnis, R. J., Hodge, A. M., Hopper, J. L., Haydon, A. M., & Giles, G. G. (2004). Red meat, chicken, and fish consumption and risk of colorectal cancer. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, **13** (9): 1509-14.
- Epner, D. E., Partin, A. W., Schalken, J. A., Isaacs, J. T., & Coffey, D. S. (1993). Association of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase expression with cell motility and metastatic potential of rat prostatic adenocarcinoma. *Cancer Research*, **53** (9): 1995-7.
- Éric, A., Jacqueline, D., & Marc Y. (2006). Modalités d'administration de l'irinotecan dans le traitement du cancer colorectal métastatique. *Bulletin du Cancer*, 507-15.
- Esteban-Jurado, C., Garre, P., Vila, M., Lozano, J. J., Pristoupilova, A., Beltrán, S., ... & Castells, A. (2014). New genes emerging for colorectal cancer predisposition. *World Journal of Gastroenterology*, **20** (8): 1961.
- Faccenda, D., Nakamura, J., Gorini, G., Dhoot, G. K., Piacentini, M., Yoshida, M., & Campanella, M. (2017). Control of mitochondrial remodeling by the ATPase inhibitory factor 1 unveils a pro-survival relay via OPA1. *Cell Reports*, **18** (8): 1869-83.
- Faccenda, D., Tan, C. H., Duchen, M. R., & Campanella, M. (2013b). Mitochondrial IF<sub>1</sub> preserves cristae structure to limit apoptotic cell death signaling. *Cell Cycle Georget. Tex.*, **12**: 2530-2.
- Faccenda, D., Tan, C. H., Seraphim, A., Duchen, M. R., & Campanella, M. (2013a). IF1 limits the apoptotic-signalling cascade by preventing mitochondrial remodelling. *Cell Death Differ*, **20**: 686-97.
- Fan, Y., Mao, R., & Yang, J. (2013). NF-κB and STAT3 signaling pathways collaboratively link inflammation to cancer. *Protein & Cell*, **4** (3): 176-85.
- Faure-Vigny, H., Heddi, A., Giraud, S., Chautard, D., & Stepien, G. (1996). Expression of oxidative phosphorylation genes in renal tumors and tumoral cell lines. *Molecular Carcinogenesis: Published in cooperation with the University of Texas MD Anderson Cancer Center*, **16** (3): 165-72.

- Fearnhead, N. S., Wilding, J. L., & Bodmer, W. F. (2002). Genetics of colorectal cancer: hereditary aspects and overview of colorectal tumorigenesis. *Br. Med. Bull.*, **64**: 27-43.
- Fearon, E. R. (2011). Molecular genetics of colorectal cancer. *Annu. Rev. Pathol.*, **6**: 479-507.
- Feng, Q. Y., Wei, Y., Chen, J. W., Chang, W. J., Ye, L. C., Zhu, D. X., & Xu, J. M. (2014). Anti-EGFR and anti-VEGF agents: important targeted therapies of colorectal liver metastases. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, **20** (15): 4263.
- Ferlay, J., Shin, H. R., Bray, F., Forman, D., Mathers, C., & Parkin, D. M. (2010). Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *International Journal of Cancer*, **127** (12): 2893-917.
- Fermani, S., Sparla, F., Falini, G., Martelli, P. L., Casadio, R., Pupillo, P., Ripamonti, A., & Trost, P. (2007). Molecular mechanism of thioredoxin regulation in photosynthetic A2B2- glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104** (26): 11109-14.
- Figueiredo, J. C., Hsu, L., Hutter, C. M., Lin, Y., Campbell, P. T., Baron, J. A., ... & Chan, A. T. (2014). Genome-wide diet-gene interaction analyses for risk of colorectal cancer. *PLoS Genetics*, **10** (4): e1004228.
- Fodde, R., Smits, R., & Clevers, H. (2001). "APC, signal transduction and genetic instability in colorectal cancer. *Nat. Rev. Cancer*, **1** (1): 55-67.
- Formentini, L., Pereira, M. P., Sánchez-Cenizo, L., Santacatterina, F., Lucas, J. J., Navarro, C., ... & Cuezva, J. M. (2014). In vivo inhibition of the mitochondrial H<sup>+</sup>-ATP synthase in neurons promotes metabolic preconditioning. *The EMBO Journal*, **33** (7): 762-78.
- Formentini, L., Sánchez-Aragó, M., Sánchez-Cenizo, L., & Cuezva, J. M. (2012). The mitochondrial ATPase inhibitory factor 1 triggers a ROS-mediated retrograde prosurvival and proliferative response. *Molecular Cell*, **45** (6): 731-42.
- FOxTROT, Group, F. C. (2012). Feasibility of preoperative chemotherapy for locally advanced, operable colon cancer: the pilot phase of a randomised controlled trial. *The Lancet Oncology*, **13** (11): 1152-60.
- Franco, A., Sikalidis, A. K., & Herruzo, J. S. (2005). Colorectal cancer: influence of diet and lifestyle factors. *Revista Espanola d'Enfermedades Digestivas*, **97** (6): 432.
- Frechin, M., Enkler, L., Tetaud, E., Laporte, D., Senger, B., Blancard, C., ... & Martin, R. P. (2014). Expression of nuclear and mitochondrial genes encoding ATP synthase is synchronized by disassembly of a multisynthetase complex. *Molecular cell*, **56** (6): 763-76.
- Fred, T. B. (2009). Les biomarqueurs prédictifs dans le cancer colorectal. *Rev. Med. Suisse*, 1513-8.
- Frezza, C. & Gottlieb, E. (2009). "Mitochondria in cancer: not just innocent bystanders." *Semin Cancer Biol.*, **19** (1): 4-11.
- Frezza, C., Cipolat, S., Martins de Brito, O., Micaroni, M., Beznoussenko, G. V., Rudka, T., ... & Scorrano, L. (2006). OPA1 controls apoptotic cristae remodeling independently from mitochondrial fusion. *Cell*, **126**: 177-89.
- Frigerio, J. M., Dagorn, J. C., & Iovanna, J. L. (1995). Cloning, sequencing and expression of the L5, L21, L27a, L28, S5, S9, S10 and S29 human ribosomal protein mRNAs. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression*, **1262** (1): 64-8.

- Gabbani, T., Manetti, N., Bonanomi, A. G., Annese, A. L., & Annese, V. (2015). New endoscopic imaging techniques in surveillance of inflammatory bowel disease. *World Journal of Gastrointestinal Endoscopy*, *7* (3): 230.
- Galluzzi, L., Bravo-San Pedro, J. M., Vitale, I., Aaronson, S. A., Abrams, J. M., Adam, D., ... & Baehrecke, E. H. (2015). Essential versus accessory aspects of cell death: recommendations of the NCCD 2015. *Cell Death and Differentiation*, *22* (1): 58.
- Gambhir, S. S. (2002). "Molecular imaging of cancer with positron emission tomography. *Nat. Rev. Cancer*, *2* (9): 683-93.
- Ganapathy-Kanniappan, S., & Geschwind, J. F. H. (2013). Tumor glycolysis as a target for cancer therapy: progress and prospects. *Molecular Cancer*, *12* (1): 152.
- Ganapathy-Kanniappan, S., Kunjithapatham, R., & Geschwind, J. F. (2012). Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase: a promising target for molecular therapy in hepatocellular carcinoma. *Oncotarget*, *3* (9): 940.
- Gandrillon, O., & Houlgatte, R. (2004). Le transcriptome : le nouveau monde? *Informatique pour l'analyse du Transcriptome. Hermes Sciences, Traité-IC2*.
- García-Bermúdez, J., Sánchez-Aragó, M., Soldevilla, B., del Arco, A., Nuevo-Tapióles, C., & Cuezva, J. M. (2015). PKA phosphorylates the ATPase inhibitory factor 1 and inactivates its capacity to bind and inhibit the mitochondrial H<sup>+</sup>-ATP synthase. *Cell Reports*, *12* (12): 2143-55.
- Garland, J. M., & Halestrap, A. (1997). Energy metabolism during apoptosis Bcl-2 promotes survival in hematopoietic cells induced to apoptose by growth factor withdrawal by stabilizing a form of metabolic arrest. *Journal of Biological Chemistry*, *272* (8): 4680-8.
- Gatenby, R. A., & Gillies, R. J. (2004). Why do cancers have high aerobic glycolysis? *Nature Reviews Cancer*, *4* (11): 891.
- Gaudette, M. F., & Crain, W. R. (1991). A simple method for quantifying specific mRNAs in small numbers of early mouse embryos. *Nucleic Acids Research*, *19* (8): 1879-84.
- Gay, L. J., Mitrou, P. N., Keen, J., Bowman, R., Naguib, A., Cooke, J., ... & Khaw, K. T. (2012). Dietary, lifestyle and clinicopathological factors associated with APC mutations and promoter methylation in colorectal cancers from the EPIC-Norfolk study. *The Journal of Pathology*, *228* (3): 405-15.
- Gentric, G., Mieulet, V., & Mechta-Grigoriou, F. (2017). Heterogeneity in cancer metabolism: new concepts in old field. *Antioxid Redox Signal*, *26*: 462-85.
- Gerszon, J., & Rodacka, A. (2018). Oxidatively modified glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in neurodegenerative processes and the role of low molecular weight compounds in counteracting its aggregation and nuclear translocation. *Ageing Research Reviews*, *48*: 21-31.
- Giorgio, V., Von Stockum, S., Antoniel, M., Fabbro, A., Fogolari, F., Forte, M., ... & Lippe, G. (2013). Dimers of mitochondrial ATP synthase form the permeability transition pore. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *110* (15): 5887-92.
- Giovannucci, E. (2001). An updated review of the epidemiological evidence that cigarette smoking increases risk of colorectal cancer. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, *10* (7): 725-31.

- Giraud, M. F., Paumard, P., Soubannier, V., Vaillier, J., Arselin, G., Salin, B., ... & Velours, J. (2002). Is there a relationship between the supramolecular organization of the mitochondrial ATP synthase and the formation of cristae? *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, **1555** (1-3): 174-80.
- Gledhill, J. R., Montgomery, M. G., Leslie, A. G., & Walker, J. E. (2007). How the regulatory protein, IF1, inhibits F1-ATPase from bovine mitochondria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **104** (40): 15671-6.
- Globocan. (2018). The Global Cancer Observatory; 2018. [gco.iarc.fr/today/fact-sheets-populations/](http://gco.iarc.fr/today/fact-sheets-populations/). Consulté le 23 Février 2019.
- Gomes, L. C., Di Benedetto, G., & Scorrano, L. (2011). During autophagy mitochondria elongate, are spared from degradation and sustain cell viability. *Nat. Cell Biol.*, **13**: 589-98.
- Gomez-Puyou, A., de Gómez-Puyou, M. T., & Ernster, L. (1979). Inactive to active transitions of the mitochondrial ATPase complex as controlled by the ATPase inhibitor. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, **547** (2): 252-7.
- Gonzalez, E. C., Roetzheim, R. G., Ferrante, J. M., & Campbell, R. (2001). Predictors of proximal vs distal colorectal cancers. *Diseases of the Colon & Rectum*, **44** (2): 251-8.
- Gordon-Smith, D. J., Carbajo, R. J., Yang, J. C., Videler, H., Runswick, M. J., Walker, J. E., & Neuhaus, D. (2001). Solution structure of a C-terminal coiled-coil domain from bovine IF1: the inhibitor protein of F1 ATPase. *Journal of Molecular Biology*, **308** (2): 325-39.
- Grady, W. M. (2005). Transforming growth factor- $\beta$ , Smads, and cancer. *Clinical Cancer Research*, **11** (9): 3151-4.
- Graven, K. K., Bellur, D., Klahn, B. D., Lowrey, S. L., & Amberger, E. (2003). HIF-2 $\alpha$  regulates glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase expression in endothelial cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression*, **1626** (1-3): 10-8.
- Green, C. D., Simons, J. F., Taillon, B. E., & Lewin, D. A. (2001). Open systems: panoramic views of gene expression. *Journal of Immunological Methods*, **250** (1-2): 67-79.
- Green, D. R., Galluzzi, L., & Kroemer, G. (2014). Metabolic control of cell death. *Science*, **345** (6203): 1250256.
- Grover, G. J., & Malm, J. (2008). Pharmacological Profile of the Selective Mitochondrial F1F0 ATP Hydrolase Inhibitor BMS-199264 in Myocardial Ischemia. *Cardiovascular Therapeutics*, **26** (4): 287-96.
- Guan, J., Sun, J., Sun, F., Lou, B., Zhang, D., Mashayekhi, V., ... & He, Z. (2017). Hypoxia-induced tumor cell resistance is overcome by synergistic GAPDH-siRNA and chemotherapy co-delivered by long-circulating and cationic-interior liposomes. *Nanoscale*, **9** (26): 9190-2.
- Guinney, J., Dienstmann, R., Wang, X., De Reyniès, A., Schlicker, A., Sonesson, C., ... & Bot, B. M. (2015). The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nature Medicine*, **21** (11): 1350.
- Guo, X., Dong, Y., Yin, S., Zhao, C., Huo, Y., Fan, L., & Hu, H. (2013). Patulin induces pro-survival functions via autophagy inhibition and p62 accumulation. *Cell Death & Disease*, **4** (10): e822.
- Gupta, R., Sinha, S., & Paul, R. N. (2018). The impact of microsatellite stability status in colorectal cancer. *Current Problems in Cancer*, **42** (6): 548-59.

- Gustavsson, G. C., David, M., Nicholas, P., Arna, R., Hans, J. S., Kjell, M. T., & Fern G. (2015). The Evolution of Systemic Chemotherapy in the Management of Colorectal Cancer. *Elsevier*, **14** (1): 1-10.
- Guzman, J. R., Conlin, V. S., & Jobin, C. (2013). Diet, Microbiome, and the Intestinal Epithelium: An Essential Triumvirate. *BioMed. Res. Int.*, 1-12.
- Ha, R. K., Han, K. S., Sohn, D. K., Kim, B. C., Hong, C. W., Chang, H. J., ... & Oh, J. H. (2017). Histopathologic risk factors for lymph node metastasis in patients with T1 colorectal cancer. *Annals of Surgical Treatment and Research*, **93** (5): 266-71.
- Hagen, F. S., Gray, C. L., & Kuijper, J. L. (1988). Assaying the quality of cDNA libraries. *BioTechniques*, **6** (4): 340-5.
- Haggar, F. A., & Boushey, R. P. (2009). Colorectal cancer epidemiology: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Clinics in Colon and Rectal Surgery*, **22** (04): 191-7.
- Hamanaka, R. B., & Chandel, N. S. (2012). Targeting glucose metabolism for cancer therapy. *Journal of Experimental Medicine*, **209** (2): 211-5.
- Hamasaki, M., Furuta, N., Matsuda, A., Nezu, A., Yamamoto, A., Fujita, N., ... & Amano, A. (2013). Autophagosomes form at ER-mitochondria contact sites. *Nature*, **495** (7441): 389.
- Hamdi Cherif, M., Serraino, D., Mahnane, A., Laouamri, S., Zaidi, Z., Boukharouba, Ayat, A., ... & Oh, J. H. (2014). Time trends of cancer incidence in Setif, Algeria, 1986-2010: an observational study. *BMC Cancer*, **14**.
- Hampel, H., Frankel, W. L., Martin, E., Arnold, M., Khanduja, K., Kuebler, P., ... & Panescu, J. (2008). Feasibility of screening for Lynch syndrome among patients with colorectal cancer. *Journal of Clinical Oncology*, **26** (35): 5783-8.
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2000). The hallmarks of cancer. *Cell*, **100** (1): 57-70.
- Hanahan, D., Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, **144** (5): 646-74.
- Handford, H. (1890). Disseminated polypi of the large intestine becoming malignant. *Trans Path. Soc. London*, **4**: 133-7.
- Hansen, I. O., & Jess, P. (2012). Possible better long-term survival in left versus right-sided colon cancer-a systematic review. *Dan. Me. J.*, **59** (6): A4444.
- Haq, A. I., Schneeweiss, J., Kalsi, V., and Arya, M. (2009). The Dukes staging system: a cornerstone in the clinical management of colorectal cancer. *The Lancet Oncology*, **10** (11): 1128.
- Harris, D. A., Von Tscharner, V., & Radda, G. K. (1979). The ATPase inhibitor protein in oxidative phosphorylation The rate-limiting factor to phosphorylation in submitochondrial particles. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, **548** (1): 72-84.
- Harris, J. I., & Waters, M. (1976). The Enzymes, edited by *PD Boyer*, ch. 13.
- Harris, K. M., Perreira, K. M., & Lee, D. (2009). Obesity in the transition to adulthood : predictions across race/ethnicity, immigrant generation, and sex. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine*, **163** (11): 1022-8.

- Harris, M. H., & Thompson, C. B. (2000). The role of the Bcl-2 family in the regulation of outer mitochondrial membrane permeability. *Cell Death and Differentiation*, **7** (12): 1182.
- Hayashi, T., Rizzuto, R., Hajnoczky, G., & Su, T. P. (2009). MAM: more than just a housekeeper. *Trends in Cell Biology*, **19** (2): 81-8.
- He, T. C., Sparks, A. B., Rago, C., Hermeking, H., Zawel, L., Da Costa, L. T., ... & Kinzler, K. W. (1998). Identification of c-MYC as a target of the APC pathway. *Science*, **281** (5382): 1509-12.
- Heinemann, V., Stintzing, S., Kirchner, T., Boeck, S., & Jung, A. (2009). Clinical relevance of EGFR- and KRAS-status in colorectal cancer patients treated with monoclonal antibodies directed against the EGFR. *Cancer Treatment Reviews*, **35** (3): 262-71.
- Heinen, C. D. (2010). Genotype to phenotype: analyzing the effects of inherited mutations in colorectal cancer families. *Mutat. Res.*, **693**: 32-45.
- Hjartåker, A., Aagnes, B., Røsbjerg, T. E., Langseth, H., Bray, F., & Larsen, I. K. (2013). Subsite-specific dietary risk factors for colorectal cancer: a review of cohort studies. *Journal of Oncology*.
- Hjerpe, E., Brage, S. E., Carlson, J., Stolt, M. F., Schedvins, K., Johansson, H., ... & Åvall-Lundqvist, E. (2013). Metabolic markers GAPDH, PKM2, ATP5B and BEC-index in advanced serous ovarian cancer. *BMC Clinical Pathology*, **13** (1): 30.
- Hollenbeck, P. J., & Saxton, W. M. (2005). The axonal transport of mitochondria. *Journal of Cell Science*, **118** (23): 5411-9.
- Hönscher, C., & Ungermann, C. (2014). A close-up view of membrane contact sites between the endoplasmic reticulum and the endolysosomal system: from yeast to man. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, **49** (3): 262-8.
- Hosack, D. A., Dennis, G., Sherman, B. T., Lane, H. C., & Lempicki, R. A. (2003). Identifying biological themes within lists of genes with EASE. *Genome Biology*, **4** (10): R70.
- Humphries, A., & Wright, N. A. (2008). Colonic crypt organization and tumorigenesis. *Nat. Rev. Cancer*, **8**: 415-24.
- Hwang, N. R., Yim, S. H., Kim, Y. M., Jeong, J., Song, E. J., Lee, Y., ... & Lee, K. J. (2009). Oxidative modifications of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase play a key role in its multiple cellular functions. *Biochemical Journal*, **423** (2): 253-64.
- IARC. (2004). *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*, Vol. 83. *Tobacco Smoke and Involuntary Smoking*. Lyon, 1452.
- Ichikawa, N., Ushida, S., Kawabata, M., & Masazumi, Y. (1999). Nucleotide sequence of cDNA coding the mitochondrial precursor protein of the ATPase inhibitor from humans. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, **63** (12): 2225-7.
- Iglesias, A. A., & Losada, M. (1988) Purification and kinetic and structural properties of pinach leaf NADP-dependent nonphosphorylating glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. *Arch. Biochem. Biophys.*, **260** (2): 830-40.
- Ikeda, Y., Yamaji, R., Irie, K., Kioka, N., & Murakami, A. (2012). Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase regulates cyclooxygenase-2 expression by targeting mRNA stability. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **528** (2): 141-7.

- INCa. (2016). Les cancers en France, Edition 2015.
- INCa. (2012). Institut National du cancer (2012). Cancer du côlon en France. P : 61-9.
- INCa. (2009). Plan cancer 2009-2013, P : 138.
- Israelsen, W. J., & Vander Heiden, M. G. (2015). "Pyruvate kinase : Function, regulation and role in cancer. *Semin Cell Dev. Biol.*, **43**: 43-51.
- Issa, J. P. J., Shen, L., & Toyota, M. (2005). CIMP, at last. *Gastroenterology*, **129**: 1121-4.
- Iswarya, S. K., Premarajan, K. C., Kar, S. S., Kumar, S. S., & Kate, V. (2016). Risk factors for the development of colorectal carcinoma: A case control study from South India. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*, **8** (2): 207.
- Izquierdo, J. M., Jiménez, E., & Cuezva, J. M. (1995). Hypothyroidism Affects the Expression of the  $\beta$ -F1-ATPase Gene and Limits Mitochondrial Proliferation in Rat Liver at All Stages of Development. *European Journal of Biochemistry*, **232** (2): 344-50.
- Jacobson, A. (1987) Purification and fractionation of poly (A)<sup>+</sup> RNA. *Methods Enzymol.*, **152**: 254-61.
- Jacques, J., Lepetit, H., Fabritius, M., Legros, R., Dahan, M., Albouys, J., ... & Pioche, M. (2019). Quelle classification prédit le mieux le risque de cancer sous-muqueux et intra-muqueux avec des endoscopes HD sans zoom. Etude prospective sur 200 dissections colorectales. *Endoscopy*, **51** (03): 000323.
- Jakobs, S. (2006). High-resolution imaging of live mitochondria. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, **1763** (5-6): 561-75.
- Jasperson, K.W., Tuohy, T.M., Neklason, D.W., and Burt, R.W. (2010). Hereditary and familial colon cancer. *Gastroenterology*, **138**: 2044-58.
- Jiang, X., & Wang, X. (2004). Cytochrome C-mediated apoptosis. *Annual Review of Biochemistry*, **73**.
- Jimenez, L., Laporte, D., Duvezin-Caubet, S., Courtout, F., & Sagot, I. (2014). Mitochondrial ATP synthases cluster as discrete domains that reorganize with the cellular demand for oxidative phosphorylation. *J. Cell Sci.*, **127** (4): 719-26.
- Jing, C., Fang, G., Xin, S., Lihua, Z., Aifeng, Z., Hui, J., & Youji H. (2014). BRAF V600E mutation and KRAS codon 13 mutations predict poor survival in Chinese colorectal cancer patients. *BMC Cancer*, **14**: 802.
- John, L. N., Inaya, A., Akshar, N. P., Vyacheslav, G., Philip, G. M, Rebecca, M., & Salma K. J. (2014). Non-operative therapies for colorectal liver metastases. *Oncology*, **30**: 17-25.
- Johnson, C. M., Wei, C., Ensor, J. E., Smolenski, D. J., Amos, C. I., Levin, B., & Berry, D. A. (2013). Meta-analyses of colorectal cancer risk factors. *Cancer Causes & Control*, **24** (6): 1207-22.
- Joshi, R. K., & Lee, S. A. (2014). Obesity related adipokines and colorectal cancer: a review and meta-analysis. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, **15** (1): 397-405.
- Jung, B., Staudacher, J. J., & Beauchamp, D. (2017). Transforming growth factor  $\beta$  superfamily signaling in development of colorectal cancer. *Gastroenterology*, **152** (1): 36-52.
- Kagawa, R., Montgomery, M. G., Braig, K., Leslie, A. G., & Walker, J. E. (2004). The structure of bovine F1-ATPase inhibited by ADP and beryllium fluoride. *The EMBO Journal*, **23** (14): 2734-44.

- Kamarajugadda, S., Stemboroski, L., Cai, Q., Simpson, N. E., Nayak, S., Tan, M., & Lu, J. (2012). Glucose oxidation modulates anoikis and tumor metastasis. *Molecular and Cellular Biology*, **32** (10): 1893-907.
- Kanazawa, H., & Futai, M. (1982). Structure and function of H<sup>+</sup>-ATPase: what we have learned from *Escherichia coli* H<sup>+</sup>-ATPase. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **402** (1): 45-64.
- Kang, J. S., Liu, C., & Derynck, R. (2009). New regulatory mechanisms of TGF- $\beta$  receptor function. *Trends in Cell Biology*, **19** (8): 385-94.
- Karn, J., Brenner, S., & Barnett, L. (1983). Protein structural domains in the *Caenorhabditis elegans* unc-54 myosin heavy chain gene are not separated by introns. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **80** (14) : 4253-7.
- Karnoub, A. E., & Weinberg, R. A. (2008). Ras oncogenes: split personalities. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol*, **9**: 517-31.
- Kawakami, K., Nakamoto, E., Yokokawa, T., Sugita, K., Mae, Y., Hagino, A., ... & Hama, T. (2015). Patients' self-reported adherence to capecitabine on XELOX treatment in metastatic colorectal cancer: findings from a retrospective cohort analysis. *Patient Preference and Adherence*, **9**: 561-7.
- Kendall, G., Ensor, E., Crankson, H. D., & Latchman, D. S. (1996). Nerve Growth Factor Treatment of Sensory Neuron Primary Cultures Causes Elevated Levels of the mRNA Encoding the ATP Synthase  $\beta$ -Subunit as Detected by a Novel PCR-Based Differential Cloning Method. *European Journal of Biochemistry*, **236** (2): 360-4.
- Key, T.J. (2011). Fruit, vegetables and cancer risk. *British Journal of Cancer*, **104**: 6-11.
- Khan, S., Alibay, T. A., Merad, M., DiPalma, M., Raynard, B., & Antoun, S. (2016). Détection et évaluation de la dénutrition en oncologie : quels sont les outils, pour quel type de cancer et dans quels buts ? *Bulletin du Cancer*, **103** (9): 776-85.
- Khandjian, E. W., Salomon, C., Léonard, N., Tremblay, S., & Türlér, H. (1992). Fibronectin gene expression in proliferating, quiescent, and SV40-infected mouse kidney cells. *Experimental Cell Research*, **202** (2): 464-70.
- Khiari, H., Ayoub, H. W. B., Khadhra, H. B., & Hsairi, M. (2017). Colorectal Cancer Incidence Trend and Projections in Tunisia (1994-2024). *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP*, **18** (10): 2733.
- Khurshid, A., Aashiq, Q., Hussain, I., Mushtaq, A. A., Shakir, A., Subhash, C. T., ... & Abid Hamid, Q. (2014). NF $\kappa$ B in human colon carcinoma HCT116 cells mediates cell specific apoptosis by RLX. *BMC Cell Biology*, **15** (36): 1471-121.
- Kim, J. W., & Dang, C. V. (2005). Multifaceted roles of glycolytic enzymes. *Trends in Biochemical Sciences*, **30** (3): 142-50.
- Kimmel, A. R., & Berger, S. L. (1987). Preparation of cDNA and the generation of cDNA libraries: Overview. *In Methods in Enzymology, Academic Press*, **152**: 307-16.
- Kirschner, K. (1971). Co-operative binding of nicotinamide-adenine dinucleotide to yeast glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. II. Stopped-flow studies at pH 8.5 and 40 degrees C. *J. Mol. Biol.*, **58** (1): 51-68.

- Klein, G., Lunardi, J., & Vignais, P. V. (1981). Effect of the natural ATPase inhibitor on the binding of adenine nucleotides and inorganic phosphate to mitochondrial F1-ATPase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, **636** (2): 185-92.
- Knickelbein, K., & Zhang, L. (2015). Mutant KRAS as a critical determinant of the therapeutic response of colorectal cancer. *Genes & Diseases*, **2** (1): 4-12.
- Konaté, I., Sridi, A., Ba, P. A., Cissé, M., Gaye, M., Ka, I., ... & Touré, C. T. (2012). Descriptive study of colorectal cancer to the surgical clinic of the CHU Aristide Le Dantec in Dakar. *Cancer*, **4**: 233-7.
- Koppenol, W. H., Bounds, P., Dang, C. V. (2011). Otto Warburg's contribution to current concepts of cancer metabolism. *Nat. Rev. Cancer*, **11**: 325-37.
- Koushik, A., Hunter, D. J., Spiegelman, D., Beeson, W. L., Van Den Brandt, P. A., Buring, J. E., ... & Fuchs, C. S. (2007). Fruits, vegetables, and colon cancer risk in a pooled analysis of 14 cohort studies. *Journal of the National Cancer Institute*, **99** (19): 1471-83.
- Kroemer, G., & Pouyssegur, J. (2008). Tumor cell metabolism: cancer is Weakness. *Cancer Cell*, **13** (6): 472-82.
- Kuipers, E.J., Grady, W.M., Lieberman, D., Seufferlein, T., Sung, J. J., Boelens, P.G., ... & Watanabe, T. (2016). Colorectal cancer. *Author Manuscript*, 1-51.
- Küzela, Š., Kolarov, J., Krempaský, V., Lakota, J., & Ujházy, V. (1978). Mitochondrial ATPase of Zajdela hepatoma: Presence of F1-specific antigenic determinants outside mitochondria. *FEBS Letters*, **91** (2): 222-6.
- Lackner, L. L. (2013). Determining the shape and cellular distribution of mitochondria: the integration of multiple activities. *Current Opinion in Cell Biology*, **25** (4): 471-6.
- Lamb, C. A., Yoshimori, T., & Tooze, S. A. (2013). The autophagosome: origins unknown, biogenesis complex. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **14** (12): 759.
- Larsson, S. C., Bergkvist, L., Rutegård, J., Giovannucci, E., & Wolk, A. (2005). Calcium and dairy food intakes are inversely associated with colorectal cancer risk in the Cohort of Swedish Men. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **83** (3): 667-73.
- Larsson, S. C., & Wolk, A. (2006). Meat consumption and risk of colorectal cancer: a meta-analysis of prospective studies. *Int. J. Cancer*, **119**: 2657-64.
- Laurent-Puig, P., Agostini, J., & Maley, K. (2010). Colorectal oncogenesis. *Bulletin du Cancer*, **97** (11): 1311-21.
- Laurent-Puig, P., Pekin, D., Normand, C., Kotsopoulos, S. K., Nizard, P., Perez-Toralla, K., ... & Hor, T. (2015). Clinical relevance of KRAS-mutated subclones detected with picodroplet digital PCR in advanced colorectal cancer treated with anti-EGFR therapy. *Clinical Cancer Research*, **21** (5): 1087-97.
- Laurenty, A. P., Selves, J., & Guimbaud, R. (2015). Biomarqueurs des cancers colorectaux utiles en pratique clinique. *Hépatogastro & Oncologie Digestive*, **22** (3) : 217-27.
- Lecomte, T., & Caulet, M. (2013). Chimiothérapie (néo) adjuvante du cancer colique. *Côlon & Rectum*, **7** (3) : 143-9.
- Leggett, B., & Whitehall, V. (2010). Role of the serrated pathway in colorectal cancer pathogenesis. *Gastroenterology*, **138**: 2088-100.

- Lehninger, A. L., & Kennedy, E. P. (1948). The fatty acid oxidase complex of rat liver and intracellular structures. In *Federation Proceedings*, **7** (1): 166.
- Leslie, H., Sobin, M. D., Paul, H. M. D., & Robert, V. P. (1988). TNM Classification of Malignant Tumors A Comparison Between the New (1987) and the Old Editions. *Cancer*, **61** (11):2310-4.
- Levin, B., Lieberman, D. A., McFarland, B., Smith, R. A., Brooks, D., Andrews, K. S., ... & Pickhardt, P. (2008). Screening and surveillance for the early detection of colorectal cancer and adenomatous polyps, 2008: a joint guideline from the American Cancer Society, the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer, and the American College of Radiology. *CA: a Cancer Journal for Clinicians*, **58** (3): 130-60.
- Li, F. Y., & Lai, M. D. (2009). Colorectal cancer, one entity or three. *Journal of Zhejiang University Science*, **10** (3): 219-29.
- Li, W., Qiu, T., Zhi, W., Shi, S., Zou, S., Ling, Y., ... & Lu, N. (2015). Colorectal carcinomas with KRAS codon 12 mutation are associated with more advanced tumor stages. *BMC Cancer*, **15** (1): 340.
- Liang, J. J., Bissett, I., Kalady, M., Bennet, A., & Church, J. M. (2013). Importance of serrated polyps in colorectal carcinogenesis. *ANZ Journal of Surgery*, **83** (5): 325-30.
- Liang, P. S., Chen, T. Y., & Giovannucci, E. (2009). Cigarette smoking and colorectal cancer incidence and mortality: Systematic review and meta-analysis. *International Journal of Cancer*, **124** (10): 2406-15.
- Liberti, M. V., Dai, Z., Wardell, S. E., Baccile, J. A., Liu, X., Gao, X., ... & Shestov, A. A. (2017). A predictive model for selective targeting of the Warburg effect through GAPDH inhibition with a natural product. *Cell Metabolism*, **26** (4) : 648-59.
- Lincet, H., & Icard, P. (2015). How do glycolytic enzymes favour cancer cell proliferation by nonmetabolic functions? *Oncogene*, **34** (29): 3751.
- Lippe, G., Sorgato, M. C., & Harris, D. A. (1988). Kinetics of the release of the mitochondrial inhibitor protein. Correlation with synthesis and hydrolysis of ATP. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, **933** (1): 1-11.
- Liu, F., Yan, L., Wang, Z., Lu, Y., Chu, Y., Li, X., ... & Xiang, H. (2017). Metformin therapy and risk of colorectal adenomas and colorectal cancer in type 2 diabetes mellitus patients: A systematic review and meta-analysis. *Oncotarget*, **8** (9): 16017.
- Liu, P., Wang, Y., & Li, X. (2019). Targeting the untargetable KRAS in cancer therapy. *Acta Pharmaceutica Sinica B*.
- Llorente-Folch, I., Rueda, C. B., Pardo, B., Szabadkai, G., Duchen, M. R., & Satrustegui, J. (2015). The regulation of neuronal mitochondrial metabolism by calcium. *The Journal of Physiology*, **593** (16): 3447-62.
- Lo, A. C., Soliman, A. S., Khaled, H. M., Aboelyazid, A., & Greenson, J. K. (2010). Lifestyle, occupational, and reproductive factors and risk of colorectal cancer. *Diseases of the Colon and Rectum*, **53** (5): 830.
- Locker, G. Y., Hamilton, S., Harris, J., Jessup, J. M., Kemeny, N., Macdonald, J. S., ... & Bast Jr, R. C. (2006). ASCO 2006 update of recommendations for the use of tumor markers in gastrointestinal cancer. *Journal of Clinical Oncology*, **24** (33) : 5313-27.
- Lockhart-Mummery, P. (1925). Cancer and heredity. *The Lancet*, **205** (5296) : 427-9.

- Logan, D. C. (2006). The mitochondrial compartment. *J. Exp. Bot.*, **57**: 1225-43.
- Long, Q., Yang, K., & Yang, Q. (2015). Regulation of mitochondrial ATP synthase in cardiac pathophysiology. *American Journal of Cardiovascular Disease*, **5** (1): 19.
- Lord, I., & Hall, N. (2019). Colorectal cancer: features and investigation. *Medicine*.
- Lu, X., Dengler, J., Rothbarth, K., & Werner, D. (1990). Differential screening of murine ascites cDNA libraries by means of in vitro transcripts of cell-cycle-phase-specific cDNA and digital image processing. *Gene*, **86** (2): 185-92.
- Luciaková, K., & Kužela, Š. (1984). Increased content of natural ATPase inhibitor in tumor mitochondria. *FEBS Letters*, **177** (1): 85-8.
- Luis, A. M., Izquierdo, J. M., Ostronoff, L. K., Salinas, M., Santaren, J. F., & Cuezva, J. M. (1993). Translational regulation of mitochondrial differentiation in neonatal rat liver. Specific increase in the translational efficiency of the nuclear-encoded mitochondrial beta-F1-ATPase mRNA. *Journal of Biological Chemistry*, **268** (3) : 1868-75.
- Luo, G., An, G., Wu, R. (1994). A PCR differential screening method for rapid isolation of clones from a cDNA library. *Biotechniques*, **16** (4): 670-3.
- Lynch, H. T., Lanspa, S. J., Boman, B. M., Smyrk, T., Watson, P., Lynch, J. F., ... & Tauro, A. V. (1988). Hereditary nonpolyposis colorectal cancer--Lynch syndromes I and II. *Gastroenterology Clinics of North America*, **17** (4): 679-712.
- Lynch, H. T., Shaw, M. W., Magnuson, C. W., Larsen, A. L., & Krush, A. J. (1966). Hereditary factors in cancer: study of two large midwestern kindreds. *Archives of Internal Medicine*, **117** (2): 206-12.
- Lynch, H. T., Krush, A. J. (1971). Cancer family «G» revisited: 1895-1970. *Cancer*, **27**: 1505-11.
- Malik, H., Khan, A. Z., Berry, D. P., Cameron, I. C., Pope, I., Sherlock, D., ... & Davidson, B. (2015). Liver resection rate following downsizing chemotherapy with cetuximab in metastatic colorectal cancer: UK retrospective observational study. *European Journal of Surgical Oncology (EJSO)*, **41** (4):499-505.
- Manceau, G., Wagner, M., Doat, S., Bardier, A., Bachet, J. B., & Dubreuil, O. (2014). Cancer du côlon : épidémiologie, diagnostic, bilan d'extension, traitement chirurgical et suivi. *Encyclop. Méd. Chir. Gastro-Entérologie*, **9** (3).
- Manfredi, S., Lepage, C., Hatem, C., Coatmeur, O., Faivre, J., & Bouvier, A. M. (2006). Epidemiology and management of liver metastases from colorectal cancer. *Annals of Surgery*, **244** (2): 254.
- Manning, D. L., Archibald, L. H., & Ow, K. T. (1990). Cloning of estrogen-responsive messenger RNAs in the T-47D human breast cancer cell line. *Cancer Research*, **50** (13): 4098-104.
- Marchetti, P., Pavan, B., Simoni, D., Baruchello, R., Rondanin, R., Mischianti, C., ... & Dalpiaz, A. (2016). A novel hybrid drug between two potent anti-tubulin agents as a potential prolonged anticancer approach. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **91**: 50-63.
- Marisa, L., de Reyniès, A., Duval, A., Selves, J., Gaub, M. P., Vescovo, L., ... & Kirzin, S. (2013). Gene expression classification of colon cancer into molecular subtypes : characterization, validation, and prognostic value. *PLoS Medicine*, **10** (5) : e1001453.
- Mármol, I., Sánchez-de-Diego, C., Pradilla Dieste, A., Cerrada, E., & Rodríguez Yoldi, M. (2017). Colorectal carcinoma: a general overview and future perspectives in colorectal cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, **18** (1): 197.

- Martinez-Outschoorn, U. E., Peiris-Pages, M., Pestell, R. G., Sotgia, F., & Lisanti, M. P. (2017). "Cancer metabolism: a therapeutic perspective." *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, **14** (1): 11-31.
- Martínez-Reyes, I., Sánchez-Aragó, M., & Cuezva, J. M. (2012). AMPK and GCN2–ATF4 signal the repression of mitochondria in colon cancer cells. *Biochemical Journal*, **444** (2): 249-59.
- Marzi, L., Combes, E., Vie, N., Ayrolles-Torro, A., Tosi, D., Desigaud, D., ... & Jarlier, M. (2016). FOXO3a and the MAPK p38 are activated by cetuximab to induce cell death and inhibit cell proliferation and their expression predicts cetuximab efficacy in colorectal cancer. *British Journal of Cancer*, **115** (10): 1223.
- Marzouk, O., & Schofield, J. (2011). Review of histopathological and molecular prognostic features in colorectal cancer. *Cancers*, **3** (2): 2767-810.
- Matsumoto, M., Inoue, R., Tsukahara, T., Ushida, K., Chiji, H., Matsubara, N., & Hara, H. (2008). Voluntary running exercise alters microbiota composition and increases n-butyrate concentration in the rat cecum. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **72** (2): 572-6.
- Matsuyama, S., Xu, Q., Velours, J., & Reed, J. C. (1998). The mitochondrial F0F1-ATPase proton pump is required for function of the proapoptotic protein Bax in yeast and mammalian cells. *Molecular Cell*, **1** (3): 327-36.
- Mazurek, S. (2011). "Pyruvate kinase type M2 : a key regulator of the metabolic budget system in tumor cells." *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **43** (7): 969-80.
- Meddah, D., Meddah, B., Touil, A. T., Ghalek, M., & Sahraoui, T. (2009). Étude épidémiologique du cancer du côlon chez des patients de l'Ouest algérien. *African Journal of Cancer*, **1** (1): 31-5.
- Medina, R. A., & Owen, G. I. (2002). "Glucose transporters: expression, regulation and cancer. *Biol. Res.*, **35** (1): 9-26.
- Mekhancha, D. E., Yagoubi-Benatallah, L., Aissaoui, S., Karoune, R., & Mekhancha-Dahel, C. C. (2007). Food behaviour of adolescents in Constantine (Algeria, 2006). In *Annals of Nutrition and Metabolism* (vol. **51**, pp. 96-96). Allschwilerstrasse 10, ch-4009 Basel, Switzerland: karger.
- Michels, P. A., & Hannaert, V. (1994). The evolution of kinetoplastid glycosomes. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, **26** (2): 213-9.
- Miller, P. E., Lazarus, P., Lesko, S. M., Cross, A. J., Sinha, R., Laio, J., ... & Hartman, T. J. (2013). Meat-related compounds and colorectal cancer risk by anatomical subsite. *Nutrition and Cancer*, **65** (2): 202-26.
- Minamoto, T., Mai, M., & Ronai, Z. (1999). Environmental factors as regulators and effectors of multistep carcinogenesis. *Carcinogenesis*, **20**: 519-27.
- Mishra, N., & Hall, J. (2012). Identification of patients at risk for hereditary colorectal cancer. *Clinics in Colon and Rectal Surgery*, **25** (02): 67-82.
- Moertel, C. G., Fleming, T. R., Macdonald, J. S., Haller, D. G., Laurie, J. A., Goodman, P. J., ... & Veeder, M. H. (1990). Levamisole and fluorouracil for adjuvant therapy of resected colon carcinoma. *New England Journal of Medicine*, **322** (6): 352-8.
- Montoya, J., Christianson, T., Levens, D., Rabinowitz, M., & Attardi, G. (1982). Identification of initiation sites for heavy-strand and light-strand transcription in human mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **79** (23): 7195-9.

- Montoya, J., Gaines, G. L., & Attardi, G. (1983). The pattern of transcription of the human mitochondrial rRNA genes reveals two overlapping transcription units. *Cell*, **34** (1): 151-9.
- Mootha, V. K., Bunkenborg, J., Olsen, J. V., Hjerrild, M., Wisniewski, J. R., Stahl, E., ... & Patterson, N. (2003). Integrated analysis of protein composition, tissue diversity, and gene regulation in mouse mitochondria. *Cell*, **115** (5) : 629-40.
- Moreno-Sanchez, R., Rodriguez-Enriquez, S., Marin-Hernandez, A., & Saavedra E. (2007). "Energy metabolism in tumor cells. *FEBS J.*, **274** (6): 1393-418.
- Moussard, C. (2006). *Biochimie structurale et métabolique*. De Boeck Supérieur.
- Na, H. K., & Lee, J. Y. (2017). Molecular basis of alcohol-related gastric and colon cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, **18** (6): 1116.
- Namasivayam, V., & Lim, S. (2017). Recent advances in the link between physical activity, sedentary behavior, physical fitness, and colorectal cancer. *F1000 Research*, **6**.
- Narayan, S., & Roy, D. (2003). Role of APC and DNA mismatch repair genes in the development of colorectal cancers. *Mol. Cancer*, **2**: 41.
- NCI. (2015). General Information about Colon Cancer.
- Nelson, B. D. (1987). Biogenesis of mammalian mitochondria. In *Current Topics in Bioenergetics*, Elsevier, **15**: 221-72.
- Nicholls, C., Pinto, A. R., Li, H., Li, L., Wang, L., Simpson, R., & Liu, J. P. (2012). Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) induces cancer cell senescence by interacting with telomerase RNA component. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **109** (33) : 13308-13.
- Niederreiter, L., Adolph, T. E., & Tilg, H. (2018). Food, microbiome and colorectal cancer. *Digestive and Liver Disease*, **50** (7): 647-52.
- Ning, Y., Wang, L., & Giovannucci, E. L. (2010). A quantitative analysis of body mass index and colorectal cancer : findings from 56 observational studies. *Obesity reviews*, **11** (1): 19-30.
- Nojadedh, J. N., Sharif, S. B., & Sakhinia, E. (2018). Microsatellite instability in colorectal cancer. *EXCLI Journal*, **17**: 159.
- Nomura, A. M., Wilkens, L. R., Murphy, S. P., Hankin, J. H., Henderson, B. E., Pike, M. C., & Kolonel, L. N. (2008). Association of vegetable, fruit, and grain intakes with colorectal cancer: the Multiethnic Cohort Study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **88** (3): 730-7.
- Norling, B., Tourikas, C., Hamasur, B., & Glase, E. (1990). Evidence for an endogenous ATPase inhibitor protein in plant mitochondria: purification and characterization. *European Journal of Biochemistry*, **188** (2): 247-52.
- O'Connell, J. B., Maggard, M. A., & Ko, C. Y. (2004). Colon cancer survival rates with the new American Joint Committee on Cancer sixth edition staging. *Journal of the National Cancer Institute*, **96** (19):1420-5.

- O'Keefe, S. J. D., Chung, D., Mahmoud, N., Sepulveda, A. R., Manafe, M., Arch, J., ... & van der Merwe, T. (2007). Why do African Americans get more colon cancer than Native Africans? *J. Nutr.*, **137**: 175S-82S.
- Ogino, S., & Goel, A. (2008). Molecular classification and correlates in colorectal cancer. *The Journal of Molecular Diagnostics*, **10** (1), 13-27.
- Oguer, M. (2018). Résultats oncologiques de la prise en charge des cancers colorectaux chez les patients âgés dans le Finistère.
- Oines, M., Helsingen, L. M., Brettbauer, M., Emilsson, L. (2017). Epidemiology and risk factors of colorectal polyps. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, **31**: 419-24
- Okubo, K., Hori, N., Matoba, R., Niiyama, T., Fukushima, A., Kojima, Y., & Matsubara, K. (1992). Large-scale cDNA sequencing for analysis of quantitative and qualitative aspects of gene expression. *Nature Genetics*, **2** (3): 173.
- Olschwang, S., Hamelin, R., Laurent-Puig, P., Thuille, B., De Rycke, Y., Li, Y. J., ... & Thomas, G. (1997). Alternative genetic pathways in colorectal carcinogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **94** (22): 12122-7.
- Ors, B. B., Ors, J. D., Defosse, G., Ors, J. G., & Ingrand, P. (2012). Le cancer colorectal.
- Panis, C., Victorino, V. J., Herrera, A., Freitas, L. F., De Rossi, T., Campos, F. C., ... & Cecchini, A. L. (2012). Differential oxidative status and immune characterization of the early and advanced stages of human breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, **133** (3): 881-8.
- Parfett, C. L., Hofbauer, R., Brudzynski, K., Edwards, D. R., & Denhardt, D. T. (1989). Differential screening of a cDNA library with cDNA probes amplified in a heterologous host: isolation of murine GRP78 (BiP) and other serum-regulated low-abundance mRNAs. *Gene*, **82** (2): 291-303.
- Park, Y. H., & Kim, N. (2015). Review of atrophic gastritis and intestinal metaplasia as a premalignant lesion of gastric cancer. *Journal of Cancer Prevention*, **20** (1): 25.
- Park, Y., Leitzmann, M. F., Subar, A. F., Hollenbeck, A., & Schatzkin, A. (2009). Dairy food, calcium, and risk of cancer in the NIH-AARP Diet and Health Study. *Archives of Internal Medicine*, **169** (4): 391-401.
- Parkin, D. M., Ferlay, J., Curado, M. P., Bray, F., Edwards, B., Shin, H. R., & Forman, D. (2010). Fifty years of cancer incidence: CI5 I-IX. *International Journal of Cancer*, **127** (12): 2918-27.
- Paumard, P., Vaillier, J., Couлары, B., Schaeffer, J., Soubannier, V., Mueller, D. M., ... & Velours, J. (2002). The ATP synthase is involved in generating mitochondrial cristae morphology. *The EMBO Journal*, **21** (3) : 221-30.
- Pellat, A., Netter, J., Perkins, G., Cohen, R., Coulet, F., Parc, Y., ... & André, T. (2018). Syndrome de Lynch : quoi de neuf ? *Bulletin du Cancer*.
- Percival-Smith, A., & Segall, J. (1984). Isolation of DNA sequences preferentially expressed during sporulation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular and Cellular Biology*, **4** (1): 142-50.
- Pernas, L., & Scorrano, L. (2016). Mito-Morphosis: Mitochondrial Fusion, Fission, and Cristae Remodeling as Key Mediators of Cellular Function. *Annu. Rev. Physiol.*, **78**: 505-31.
- Pfeiffer, T., Schuster, S., & Bonhoeffer, S. (2001). "Cooperation and competition in the evolution of ATP producing pathways. *Science*, **292** (5516): 504-07.

- Pham, N. M., Mizoue, T., Tanaka, K., Tsuji, I., Tamakoshi, A., Matsuo, K., ... & Sasazuki, S. (2014). Meat consumption and colorectal cancer risk: an evaluation based on a systematic review of epidemiologic evidence among the Japanese population. *Japanese Journal of Clinical Oncology*, **44**(7): 641-50.
- Pierluigi, C., Carmelo, L., Giuseppe, S., Maria, G. S., Giuseppa, G., Giovanna, D. G., ... & Luigi F. (2008). Efficacy, risk factors and complications of endoscopic polypectomy: Ten year experience at a single center. *World J. Gastroenterol.*, **14** (15): 2364-9.
- Pino, M. S., & Chung, D. C. (2011). Microsatellite instability in the management of colorectal cancer. *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*, **5** (3): 385-99.
- Polakis, P., Hart, M., & Rubinfeld, B. (1999). Defects in the regulation of  $\beta$ -catenin in colorectal cancer. In *Colon Cancer Prevention*, Springer, Boston, MA, **2**: 3-32.
- Pourel, N., Py, B., & Safran, D. (2014). Devoir d'information au patient en radiothérapie. *Cancer/Radiothérapie*, **18** (5-6) : 545-8.
- Pullman, M. E., & Monroy, G. C. (1963). A naturally occurring inhibitor of mitochondrial adenosine triphosphatase. *Journal of Biological Chemistry*, **238** (11): 3762-9.
- Puyo, S., Houede, N., Kauffmann, A., Richaud, P., Robert, J., & Pourquier, P. (2012). Gene expression signature predicting high-grade prostate cancer responses to oxaliplatin. *Molecular Pharmacology*, **82** (6): 1205-16.
- Pylayeva-Gupta, Y., Lee, K. E., Hajdu, C. H., Miller, G., & Bar-Sagi, D. (2012). Oncogenic Kras-induced GM-CSF production promotes the development of pancreatic neoplasia. *Cancer Cell*, **21** (6) : 836-47.
- Queipo-Ortuño, M. I., Seoane, L. M., Murri, M., Pardo, M., Gomez-Zumaquero, J. M., Cardona, F., ... & Tinahones, F. J. (2013). Gut microbiota composition in male rat models under different nutritional status and physical activity and its association with serum leptin and ghrelin levels. *PloS one*, **8** (5): e65465.
- Raje, C. I., Kumar, S., Harle, A., Nanda, J. S., & Raje, M. (2007). The macrophage cell surface glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase is a novel transferrin receptor. *Journal of Biological Chemistry*, **282** (5): 3252-61.
- Razungles, J., Cavallès, V., Jalaguier, S., Teyssier, C. (2013). L'effet Warburg. De la théorie du cancer aux applications thérapeutiques en cancérologie. *Med. Sci. (Paris)*, **29**: 1026-33.
- Rechreche, H., & Iovanna, J. L. (2008). Le criblage différentiel sur filtres à haute densité, une nanobiotechnologie précurseur de la puce ADN. Application dans la recherche d'ARNm différentiellement exprimés dans le cancer colorecta. *Applied Biology and Biotechnology*, **1** (1): 53-6.
- Rechreche, H., Mallo, G. V., Montalto, G., Dagorn, J. C., & Iovanna, J. L. (1997). Cloning and expression of the mRNA of human galectin-4, an S-type lectin down-regulated in colorectal cancer. *European Journal of Biochemistry*, **248** (1): 225-30.
- Rechreche, H., Montalto, G., Mallo, G. V., Vasseur, S., Marasa, L., Soubeyran, P., ... & Iovanna, J. L. (1999). pap, reg Ia and reg Ib mRNAs are concomitantly up-regulated during human colorectal carcinogenesis. *International Journal of Cancer*, **81** (5): 688-94.

- Reichert, A. S., & Neupert, W. (2004). Mitochondriomics or what makes us breathe. *Trends in Genetics*, **20** (11): 555-62.
- Reuter, S., Gupta, S. C., Chaturvedi, M. M., & Aggarwal, B. B. (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? *Free Radical Biology and Medicine*, **49** (11): 1603-16.
- Rey, J. P., Hutter, P. & Girardet, C. (2009). Recherche des mutations de KRAS dans les cancers colorectaux. Institut Central des Hôpitaux Valaisans, **Vol. 11**.
- Rich, P. R., & Maréchal, A. (2010). The mitochondrial respiratory chain. *Essays in Biochemistry*, **47**: 1-23.
- Roepman, P., Schlicker, A., Tabernero, J., Majewski, I., Tian, S., Moreno, V., ... & Macarulla, T. (2014). Colorectal cancer intrinsic subtypes predict chemotherapy benefit, deficient mismatch repair and epithelial-to-mesenchymal transition. *International Journal of Cancer*, **134** (3): 552-62.
- Romaguera, D., Ward, H., Wark, P. A., Vergnaud, A. C., Peeters, P. H., van Gils, C. H., ... & Dossus, L. (2015). Pre-diagnostic concordance with the WCRF/AICR guidelines and survival in European colorectal cancer patients: a cohort study. *BMC Medicine*, **13** (1): 107.
- Romero-Garcia, S., Lopez-Gonzalez, J. S., Baez-Viveros, J. L., Aguilar-Cazares, D., & Prado-Garcia, H. (2011). "Tumor cell metabolism: an integral view. *Cancer Biol. Ther.*, **12** (11): 939-48.
- Rossmann, M. G., Adams, M. J., Buehner, M., Ford, G. C., Hackert, M. L., Liljas, A., ... & Webb, L. (1973). Molecular symmetry axes and subunit interfaces in certain dehydrogenases. *Journal of Molecular Biology*, **76** (4): 533-7.
- Rouslin, W., & Pullman, M. E. (1987). Protonic inhibition of the mitochondrial adenosine 5'-triphosphatase in ischemic cardiac muscle. Reversible binding of the ATPase inhibitor protein to the mitochondrial ATPase during ischemia. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, **19** (7): 661-8.
- Rühle, T., & Leister, D. (2015). Assembly of F1F0-ATP synthases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, **1847** (9): 849-60.
- Sablin, M. P., Italiano, A., & Spano, J. P. (2009). Colorectal cancers: prognostic and predictive factors of response to treatment. *Bulletin du Cancer*, **96** (4): 417-23.
- Sadanandam, A., Lyssiotis, C. A., Homicsko, K., Collisson, E. A., Gibb, W. J., Wullschleger, S., ... & Lhermitte, B. (2013). A colorectal cancer classification system that associates cellular phenotype and responses to therapy. *Nature Medicine*, **19** (5): 619-25.
- Saif, M. W., Alexander, D., & Wicox, C. M. (2005). Serum alkaline phosphatase level as a prognostic tool in colorectal cancer: a study of 105 patients. *The Journal of Applied Research*, **5** (1): 88-95.
- Saita, E. I., Suzuki, T., Kinosita, K., & Yoshida, M. (2015). Simple mechanism whereby the F1-ATPase motor rotates with near-perfect chemomechanical energy conversion. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **112**(31) : 9626-31.
- Sambrook, J., Fritsch, E. F., & Maniatis, T. (1989). Molecular cloning: a laboratory manual (No. Ed. 2). Cold spring harbor laboratory press.
- Sánchez Cenizo, L. M. (2014). Función oncogénica del inhibidor de la H<sup>+</sup>-ATP sintasa, IF1: desarrollo y caracterización de modelos transgénicos condicionales y tejido-específicos.

- Sánchez-Aragó, M., Chamorro, M., & Cuezva, J. M. (2010). Selection of cancer cells with repressed mitochondria triggers colon cancer progression. *Carcinogenesis*, **31** (4): 567-76.
- Sánchez-Aragó, M., Formentini, L., & Cuezva, J. M. (2013). Mitochondria-mediated energy adaption in cancer: the H<sup>+</sup>-ATP synthase-gear switch of metabolism in human tumors. *Antioxidants & Redox Signaling*, **19** (3): 285-98.
- Sánchez-Cenizo, L., Formentini, L., Aldea, M., Ortega, A. D., García-Huerta, P., Sánchez-Aragó, M., & Cuezva, J. M. (2010). Up-regulation of the ATPase inhibitory factor 1 (IF1) of the mitochondrial H<sup>+</sup>-ATP synthase in human tumors mediates the metabolic shift of cancer cells to a Warburg phenotype. *Journal of Biological Chemistry*, **285** (33): 25308-13.
- Santacatterina, F., Sánchez-Cenizo, L., Formentini, L., Mobasher, M. A., Casas, E., Rueda, C. B., ... & Sánchez-Aragó, M. (2016). Down-regulation of oxidative phosphorylation in the liver by expression of the ATPase inhibitory factor 1 induces a tumor-promoter metabolic state. *Oncotarget*, **7** (1): 490.
- Santamaría, G., Martínez-Diez, M., Fabregat, I., & Cuezva, J. M. (2005). Efficient execution of cell death in non-glycolytic cells requires the generation of ROS controlled by the activity of mitochondrial H<sup>+</sup>-ATP synthase. *Carcinogenesis*, **27** (5): 925-35.
- Sargent, T.D. (1987). Isolation of differentially expressed genes. *Methods Enzymol*, **152**: 423-32.
- Scarpulla, R. C. (2008). Nuclear control of respiratory chain expression by nuclear respiratory factors and PGC-1-related coactivator. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1147** (1): 321-34.
- Scheibye-Knudsen, M., Fang, E. F., Croteau, D. L., Wilson III, D. M., & Bohr, V. A. (2015). Protecting the mitochondrial powerhouse. *Trends in Cell Biology*, **25** (3): 158-70.
- Schlicker, A., Beran, G., Chresta, C. M., McWalter, G., Pritchard, A., Weston, S., ... & Orphanides, G. (2012). Subtypes of primary colorectal tumors correlate with response to targeted treatment in colorectal cell lines. *BMC Medical Genomics*, **5** (1): 66.
- Schwerzmann, K., & Pedersen, P. L. (1986). Regulation of the mitochondrial ATP synthase/ATPase complex. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **250** (1): 1-18.
- Selves, J. (2009). Aspects histologiques et critères d'évaluation pronostique. *Médecine/Sciences*, **25** : 9-12.
- Sentissi, S. L., Amrani, I., Serraj, M., Galab, A., & Ibrahimi, N. A. (2010). Epidemiological characteristics profile of the colorectal cancer: a multicentric study. *Acta Endosc.*, **40**: 419-23.
- Seyfried, T. N., Flores, R. E., Poff, A. M., & D'Agostino, D. P. (2014). Cancer as a metabolic disease : Implications for novel therapeutics. *Carcinogenesis*, **35**: 515-27
- Sharma, S., & O'Keefe, S. J. D. (2007). Environmental influences on the high mortality from colorectal cancer in African Americans. *Postgrad. Med. J.*, **83**: 583-9.
- Shen, L., Zhi, L., Hu, W., & Wu, M. X. (2009). IEX-1 targets mitochondrial F1Fo-ATPase inhibitor for degradation. *Cell Death and Differentiation*, **16** (4): 603.
- Shigemoto, K., Kanno, M., Sakamoto, T., Imai, K., Taniguchi, M. (1987). Application and limitations of differential hybridization in the isolation of T cell-specific cDNA clones. *Microbiol. Immunol.*, **31** (9): 899-909.

- Short, E., & Sampson, J. (2019). The role of inherited genetic variants in colorectal polyposis syndromes. *Advances in Genetics*, **103**: 183-217.
- Siegel, R. L., Fedewa, S. A., Anderson, W. F., Miller, K. D., Ma, J., Rosenberg, P. S., & Jemal, A. (2017). Colorectal cancer incidence patterns in the United States, 1974-2013. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, **109** (8).
- Simons, C. C., Hughes, L. A., Van Engeland, M., Goldbohm, R. A., Van Den Brandt, P. A., & Weijenberg, M. P. (2013). Physical activity, occupational sitting time, and colorectal cancer risk in the Netherlands cohort study. *American Journal of Epidemiology*, **177** (6): 514-30.
- Singer, S., Souza, K., & Thilly, W. G. (1995). Pyruvate utilization, phosphocholine and adenosine triphosphate (ATP) are markers of human breast tumor progression: a <sup>31</sup>P- and <sup>13</sup>C-nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy study. *Cancer Research*, **55** (22): 5140-5.
- Singh, H., Longo, D. L., & Chabner, B. A. (2015). Improving prospects for targeting RAS. *Journal of Clinical Oncology*, **33** (31): 3650-9.
- Sirover, M. A. (1999). New insights into an old protein: the functional diversity of mammalian glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. *Biochim. Biophysic. Acta*, **1432**: 159-84.
- Sirover, M. A. (2005). New Nuclear Functions of the Glycolytic Protein, Glyceraldehyde-3- Phosphate Dehydrogenase, in *Mammalian Cells. J. Cell. Biochem.*, **95**: 45-52.
- Sirover, M. A. (2011). On the functional diversity of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase: biochemical mechanisms and regulatory control. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, **1810** (8), 741-51.
- Sirover, M. A. (2014). Structural analysis of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase functional diversity. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, **57**: 20-6.
- Skarzyński, T., Moody, P. C., & Wonacott, A. J. (1987) Structure of holo-glyceraldehyde-3- phosphate dehydrogenase from *Bacillus stearothermophilus* at 1.8 Å resolution. *J. Mol. Biol*, **193**: 171-87.
- Smith, D. E., & Gridley, T. (1992). Differential screening of a PCR-generated mouse embryo cDNA library: glucose transporters are differentially expressed in early postimplantation mouse embryos. *Development*, **116** (3): 555-61.
- Smith, R. A., Manassaram-Baptiste, D., Brooks, D., Doroshenk, M., Fedewa, S., Saslow, D., ... & Wender, R. (2015). Cancer screening in the United States, 2015: a review of current American cancer society guidelines and current issues in cancer screening. *CA: a cancer Journal for Clinicians*, **65** (1): 30-54.
- Sobin, L. H., Hermanek, P., & Hutter, R. V. (1988). TNM classification of malignant tumors. A comparison between the new (1987) and the old editions. *Cancer*, **61** (11): 2310-4.
- Soltany-Rezaee-Rad, M., Mottaghi-Dastjerdi, N., Setayesh, N., Roshandel, G., Ebrahimifard, F., & Sepehrizadeh, Z. (2014). Overexpression of FOXO3, MYD88, and GAPDH identified by suppression subtractive hybridization in esophageal cancer is associated with autophagy. *Gastroenterology Research and Practice*, 2014.
- Song, L.L., Li, Y.M. (2016). Current noninvasive tests for colorectal cancer screening: An overview of colorectal cancer screening tests. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*, **8** (11): 793-800.
- Song, M., & Chan, A. T. (2019). Environmental factors, gut microbiota, and colorectal cancer prevention. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, **17** (2): 275-89.

- Song, M., Garrett, W. S., & Chan, A. T. (2015). Nutrients, foods, and colorectal cancer prevention. *Gastroenterology*, **148** (6): 1244-60.
- Song, R., Song, H., Liang, Y., Yin, D., Zhang, H., Zheng, T., ... & Qin, Y. (2014). Reciprocal activation between ATPase inhibitory factor 1 and NF- $\kappa$ B drives hepatocellular carcinoma angiogenesis and metastasis. *Hepatology*, **60** (5): 1659-73.
- Srinivas, U. S., Dyczkowski, J., Beißbarth, T., Gaedcke, J., Mansour, W. Y., Borgmann, K., & Dobbstein, M. (2015). 5-Fluorouracil sensitizes colorectal tumor cells towards double stranded DNA breaks by interfering with homologous recombination repair. *Oncotarget*, **6** (14): 12574.
- Stefani, E. D., Boffetta, P. L., Ronco, A., & Deneo-Pellegrini, H. (2016). Meat consumption, related nutrients, obesity and risk of prostate cancer : a case-control study in Uruguay. *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, **17** (4): 1937-45.
- Stintzing, S., Jung, A., Rossius, L., Modest, D. P., Fischer von Weikersthal, L., Decker, T., ... & Moehler, M. (2014). Mutations within the EGFR signaling pathway: Influence on efficacy in FIRE-3-A randomized phase III study of FOLFIRI plus cetuximab or bevacizumab as first-line treatment for wild-type (WT) KRAS (exon 2) metastatic colorectal cancer (mCRC) patients.
- Stoughton, R. B. (2005). Applications of DNA microarrays in biology. *Annu. Rev. Biochem.*, **74**: 53-82.
- Stracci, F., Zorzi, M., & Grazzini, G. (2014). Colorectal cancer screening: tests, strategies, and perspectives. *Frontiers in Public Health*, **2**: 210.
- Strambu, V., Garofil, D., Pop, F., Radu, P., Bratucu, M., & Popa, F. (2014). Translating clinical research of Molecular Biology into a personalized, multidisciplinary approach of colorectal cancer patients. *Journal of Medicine and Life*, **7** (1): 17.
- Su, N., Wei, K., Zhao, N., Wang, L., Duan, G. J., Ren, X. D., ... & Huang, Q. (2019). Sensitive and selective detections of codon 12 and 13 KRAS mutations in a single tube using modified wild-type blocker. *Clinica Chimica Acta*, **494**: 123-31.
- Sun, X., Wheeler, C. T., Yolitz, J., Laslo, M., Alberico, T., Sun, Y., ... & Zou, S. (2014). A mitochondrial ATP synthase subunit interacts with TOR signaling to modulate protein homeostasis and lifespan in *Drosophila*. *Cell Reports*, **8** (6): 1781-92.
- Suzuki, T., Tanaka, K., Wakabayashi, C., Saita, E. I., & Yoshida, M. (2014). Chemomechanical coupling of human mitochondrial F<sub>1</sub>-ATPase motor. *Nature Chemical Biology*, **10** (11): 930.
- Tang, Z., Yuan, S., Hu, Y., Zhang, H., Wu, W., Zeng, Z., ... & Huang, P. (2012). Over-expression of GAPDH in human colorectal carcinoma as a preferred target of 3-bromopyruvate propyl ester. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, **44** (1): 117-25.
- Tarrado-Castellarnau, M., Diaz-Moralli, S., Polat, I. H., Sanz-Pamplona, R., Alenda, C., Moreno, V., ... & Cascante, M. (2017). Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase is overexpressed in colorectal cancer onset. *Translational Medicine Communications*, **2** (1): 6.
- Tárraga López, P. J. T., Albero, J. S., & Rodríguez-Montes, J. A. (2014). Primary and secondary prevention of colorectal cancer. *Clinical Medicine Insights: Gastroenterology*, **7**: CGast-S14039.
- Tarze, A., Deniaud, A., Le Bras, M., Maillier, E., Mollé, D., Larochette, N., ... & Brenner, C. (2007). GAPDH, a novel regulator of the pro-apoptotic mitochondrial membrane permeabilization. *Oncogene*, **26** (18): 2606.
- Taylor, V. M., Ko, L. K., Hwang, J. H., Sin, M. K., & Inadomi, J. M. (2014). Gastric cancer in Asian American populations : a neglected health disparity. *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, **15** (24): 10565-71.

- Tayyem, R. F., Shehadah, I, Abu-Mweis, S. S., Bawadi, H. A., Bani-Hani, K. E., & Al-Jaberi, T. (2014). Heath DD: Fruit and vegetable intake among Jordanians: results from a case-control study of colorectal cancer. *Cancer Control*, **21** (4).
- Terry, P., Giovannucci, E., Michels, K. B., Bergkvist, L., Hansen, H., Holmberg, L., & Wolk, A. (2001). Fruit, vegetables, dietary fiber, and risk of colorectal cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, **93** (7): 525-33.
- Tetsu, O., & McCormick, F. (1999).  $\beta$ -Catenin regulates expression of cyclin D1 in colon carcinoma cells. *Nature*, **398** (6726): 422.
- Teufel, N. I. (1997). Development of culturally competent food-frequency questionnaires. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **65** (4): 1173S-8S.
- Tisdale, E. J., Talati, N. K., Artalejo, C. R., & Shisheva, A. (2016). GAPDH binds Akt to facilitate cargo transport in the early secretory pathway. *Experimental Cell Research*, **349** (2): 310-9.
- TNCD. (2016). Thésaurus National de Cancérologie Digestive. Cancer du côlon non métastatique. Disponible à l'URL : <http://www.tncd.org>
- Tomasetti, C., & Vogelstein, B. (2015). Cancer risk: role of environment-response. *Science*, **347** (6223): 729-31.
- Tomasetti, C., Smith, D. E., & Gridley, Th. H. O. M. A. S. (1992). Differential screening of a PCR-generated mouse embryo cDNA library: glucose transporters are differentially expressed in early postimplantation mouse embryos. *Development*, **116** (3), 555-61.
- Torres, A., & Nieto, J. J. (2006). Fuzzy logic in medicine and bioinformatics. BioMed Research International.
- Van Duijnhoven, F. J., Bueno-De-Mesquita, H. B., Ferrari, P., Jenab, M., Boshuizen, H. C., Ros, M. M., ... & Thorlacius-Ussing, O. (2009). Fruit, vegetables, and colorectal cancer risk: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **89** (5): 1441-52.
- Vander Heiden, M. G., Cantley, L. C., & Thompson, C. B. (2009). Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science*, **324** (5930): 1029-33.
- Varghese, A. (2015). Chemotherapy for Stage II Colon Cancer. *Clin. Colon Rectal Surg.*, **28** (4): 256-61.
- Vilà, M. R., Nicolás, A., Morote, J., de Torres, I., & Meseguer, A. (2000). Increased glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase expression in renal cell carcinoma identified by RNA-based, arbitrarily primed polymerase chain reaction. *Cancer*, **89** (1): 152-64.
- Vogelstein, B. (2015). Cancer etiology. Variation in cancer risk among tissues can be explained by the number of stem cell divisions. *Science*, **347**: 78-81.
- Vogelstein, B., & Kinzler, K. W. (1993). The multistep nature of cancer. *Trends in Genetics*, **9** (4): 138-41.
- Vogtmann, E., Xiang, Y. B., Li, H. L., Levitan, E. B., Yang, G., Waterbor, J. W., ... & Zhang, B. (2013). Fruit and vegetable intake and the risk of colorectal cancer: results from the Shanghai Men's Health Study. *Cancer Causes & Control*, **24** (11): 1935-45.

- Von Stockum, S., Giorgio, V., Trevisan, E., Lippe, G., Glick, G. D., Forte, M. A., ... & Szabò, I. (2015). F-ATPase of *Drosophila melanogaster* forms 53-picosiemen (53-pS) channels responsible for mitochondrial Ca<sup>2+</sup>-induced Ca<sup>2+</sup> release. *Journal of Biological Chemistry*, **290** (8): 4537-44.
- Voorrips, L. E., Goldbohm, R. A., van Poppel, C., Sturmans, F., Hermus, R. J. J., & Van Den Brandt, P. A. (2000). Vegetable and fruit consumption and risks of colon and rectal cancer in a prospective cohort study The Netherlands Cohort Study on Diet and Cancer. *American Journal of Epidemiology*, **152** (11): 1081-92.
- Vousden, K. H., & Lu, X. (2002). Live or let die: the cell's response to p53. *Nature Reviews Cancer*, **2** (8): 594.
- Vukobrat, B. Z., Husic, S. A., Sofic, A., Bijedic, N., Bjelogrić, I., Gogov, B., & Mehmedovic A. (2013). Cancer Antigens (CEA and CA 19-9) as Markers of Advanced Stage of Colorectal. *Med. Arh.*, **67** (6): 397-401.
- Wahl, G. M., & Berger, S. L. (1987) Northern and Southern blots. *Methods Enzymol.*, **152**: 415-23.
- Walker, J. E. (2003). The ATP synthase: the understood, the uncertain and the unknown. *Biochem. Soc. Trans*, **41**:1-16.
- Walker, J. E. (1994). The regulation of catalysis in ATP synthase. *Current Opinion in Structural Biology*, **4** (6): 912-8.
- Wang, H., Gies, N., Wong, C., Sadowski, D., Moysey, B., & Fedorak, R. N. (2012). Patients undergoing colorectal cancer screening underestimate their cancer risk and delay presentation for screening. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*, **26** (7): 419-23.
- Wang, X. (2001). The expanding role of mitochondria in apoptosis. *Genes & Development*, **15** (22): 2922-33.
- Wang, Y., Yang, L., Zhou, M., Shen, L., Zhang, J., Deng, W., & Zhang, Z. (2018). Disparities in survival for right-sided vs. left-sided colon cancers in young patients: a study based on the Surveillance, Epidemiology, and End Results database (1990-2014). *Cancer Management and Research*, **10**: 1735.
- Warburg, O. (1956). On respiratory impairment in cancer cells. *Science*, **124**: 269-70.
- Warburg, O., Wind, F., & Negelein, E. (1924). The metabolism of tumors in the body. *The Journal of General Physiology*, **8** (6): 519.
- Ward, P. S., & Thompson, C. B. (2012). Metabolic reprogramming: a cancer hallmark even warburg did not anticipate. *Cancer Cell*, **21** (3): 297-308.
- Waters, K. M., Kim, S. A., & Guindi, M. (2019). The Anatomy and Development of the Colon and Rectum. *Encyclopedia of Gastroenterology, 2nd Edition*.
- WCRF/AICR. (2010). WCRF/AICR Systematic Literature Review Continuous Update Project Report - The Associations between Food, Nutrition and Physical Activity and the Risk of Colorectal Cancer.
- Weber, A., Boger, R., Vick, B., Urbanik, T., Haybaeck, J., Zoller, S., ... & Schuchmann, M. (2010). Hepatocyte-specific deletion of the antiapoptotic protein myeloid cell leukemia-1 triggers proliferation and hepatocarcinogenesis in mice. *Hepatology*, **51** (4): 1226-36.
- Wei, S., Fukuhara, H., Kawada, C., Kurabayashi, A., Furihata, M., Ogura, S. I., ... & Shuin, T. (2015). Silencing of ATPase inhibitory factor 1 inhibits cell growth via cell cycle arrest in bladder cancer. *Pathobiology*, **82** (5): 224-32.

- Weinberg, R. (2013). *The Biology of Cancer*, Second Edition. Garland Science.
- Weinhouse, S. (1956). "On respiratory impairment in cancer cells". *Science*, **124** (3215): 267-9.
- Welfare, M. R., Cooper, J., Bassendine, M. F., & Daly, A. K. (1997). Relationship between acetylator status, smoking, and diet and colorectal cancer risk in the north-east of England. *Carcinogenesis*, **18** (7): 1351-4.
- Wenner, C. E., Spirtes, M. A., & Weinhouse, S. (1952). Metabolism of neoplastic tissue: II. A survey of enzymes of the citric acid cycle in transplanted tumors. *Cancer Research*, **12** (1): 44-9.
- Willers, I. M., Martínez-Reyes, I., Martínez-Diez, M., & Cuezva, J. M. (2012). miR-127-5p targets the 3' UTR of human  $\beta$ -F1-ATPase mRNA and inhibits its translation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, **1817** (5): 838-48.
- Williams, P. D., Cheon, S., Havaleshko, D. M., Jeong, H., Cheng, F., Theodorescu, D., & Lee, J. K. (2009). Concordant gene expression signatures predict clinical outcomes of cancer patients undergoing systemic therapy. *Cancer Research*, **69** (21): 8302-9.
- Witold, K., Anna, K., Maciej, T., & Jakub, J. (2018). Adenomas-Genetic factors in colorectal cancer prevention. *Reports of Practical Oncology & Radiotherapy*, **23** (2): 75-83.
- Wittig, I., Meyer, B., Heide, H., Steger, M., Bleier, L., Wumaier, Z., ... & Schägger, H. (2010). Assembly and oligomerization of human ATP synthase lacking mitochondrial subunits a and A6L. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, **1797** (6-7): 1004-11.
- Wu, J., Shan, Q., Li, P., Wu, Y., Xie, J., & Wang, X. (2015). ATPase inhibitory factor 1 is a potential prognostic marker for the migration and invasion of glioma. *Oncology Letters*, **10** (4): 2075-80.
- Xie, H., Hanai, J. I., Ren, J. G., Kats, L., Burgess, K., Bhargava, P., ... & Wang, X. (2014). Targeting lactate dehydrogenase-a inhibits tumorigenesis and tumor progression in mouse models of lung cancer and impacts tumor-initiating cells. *Cell Metabolism*, **19** (5): 795-809.
- Xing, C., LaPorte, J. R., Barbay, J. K., & Myers, A. G. (2004). Identification of GAPDH as a protein target of the saframycin antiproliferative agents. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **101** (16): 5862-6.
- Xiong, S., Mu, T., Wang, G., & Jiang, X. (2014). Mitochondria-mediated apoptosis in mammals. *Protein & Cell*, **5** (10): 737-49.
- Xu, M., Fang, Y. J., Chen, Y. M., Lu, M. S., Pan, Z. Z., Yan, B., ... & Zhang, C. X. (2015). Higher freshwater fish and sea fish intake is inversely associated with colorectal cancer risk among Chinese population: a case-control study. *Scientific Reports*, **5**: 12976.
- Xu, G., Shin, S.B., Jaffrey, S.R. (2009). Global profiling of protease cleavage sites by chemoselective labeling of protein N-termini, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **106**:19310-15.
- Yadav, N., & Chandra, D. (2014). Mitochondrial and postmitochondrial survival signaling in cancer. *Mitochondrion*, **16**: 18-25.
- Yamada, E., Ishiguro, N., Miyaishi, O., Takeuchi, A., Nakashima, I., Iwata, H., & Isobe, K. (1997). Differential display analysis of murine collagen-induced arthritis: cloning of the cDNA-encoding murine ATPase inhibitor. *Immunology*, **92** (4): 571-6.

- Yang, A. D., Fan, F., Camp, E. R., van Buren, G., Liu, W., Somcio, R., ... & Ellis, L. M. (2006). Chronic oxaliplatin resistance induces epithelial-to-mesenchymal transition in colorectal cancer cell lines. *Clinical Cancer Research*, **12** (14): 4147-53.
- Yasuo, K., & Shigeo, O. (1990). Regulation of mitochondrial ATP synthesis in mammalian cells by transcriptional control. *International Journal of Biochemistry*, **22** (3): 219-29.
- Yin, T., Lu, L., Xiong, Z., Wei, S., & Cui, D. (2015). ATPase inhibitory factor 1 is a prognostic marker and contributes to proliferation and invasion of human gastric cancer cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **70**: 90-6.
- Yun, J., Mullarky, E., Lu, C., Bosch, K. N., Kavalier, A., Rivera, K., ... & Muley, A. (2015). Vitamin C selectively kills KRAS and BRAF mutant colorectal cancer cells by targeting GAPDH. *Science*, **350** (6266): 1391-6.
- Yu-Wai-Man, P., Griffiths, P. G., & Chinnery, P. F. (2011). Mitochondrial optic neuropathies—disease mechanisms and therapeutic strategies. *Progress in Retinal and Eye Research*, **30** (2) : 81-114.
- Zarate, R., Boni, V., Bandres, E., & Garcia-Foncillas, J. (2012). MiRNAs and LincRNAs: Could they be considered as biomarkers in colorectal cancer? *Int. J. Mol. Sci.*, **13**: 840-65.
- Zeeberg, B. R., Feng, W., Wang, G., Wang, M. D., Fojo, A. T., Sunshine, M., ... & Bussey, K. J. (2003). GoMiner: a resource for biological interpretation of genomic and proteomic data. *Genome Biology*, **4** (4): R28.
- Zhang, L., Qiu, M., Jin, Y., Ji, J., Li, B., Wang, X., ... & Yang, D. (2015). Programmed cell death ligand 1 (PD-L1) expression on gastric cancer and its relationship with clinicopathologic factors. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, **8** (9): 11084.
- Zhao, Y., Butler, E. B., & Tan, M. (2013). Targeting cellular metabolism to improve cancer therapeutics. *Cell Death & Disease*, **4** (3): e532.
- Zhu, B., Wu, X., Wu, B., Pei, D., Zhang, L., & Wei, L. (2017). The relationship between diabetes and colorectal cancer prognosis: a meta-analysis based on the cohort studies. *PloS one*, **12** (4): e0176068.
- Zu, X. L., & Guppy, M. (2004). Cancer metabolism: facts, fantasy, and fiction. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **313** (3): 459-65.

# **A-ANNEXES**

## ANNEXE 1

### Formulaire des patientes hospitalises pour un cancer colorectal à l'hopitale de Jijel

#### Information personnelle

Nom et prénom

Sexe

Adresse

tranche d'age

#### Antécédants

##### Antécédants personnelles

- Cancer colorectal     Diabete  
 Maladie inflamatoire     Polype adénomateuse  
 Acromégalie     Cholesystectomie  
 Cancer non digestif     Autre

##### Antécédants familiales

- cancer digestif  
 cancer non digestif  
 Polypose adénomateux familiale  
 Syndrome de Lynch  
 Autre ATC

#### Renseignements

##### Signes révélateurs

- Altération de l'etat générale     Réctoragie  
 Douleurs abdominales     Trouble de transit  
 Syndrome rectal     Syndrome suboculusif  
 Anorexie     autre

##### Signes clinique

- Hépatomegalie     Anorexie  
 Masse palpable     Adénopathié  
 Amaigrissement     Ascite

Etat générale  Abandance d'acite  Présence d'Acite

#### Examen paraclinique

##### Resultas d'endoscopie

Nombre de lésion

Distance à la marge anale

Siege de la tumeur

##### Endoscopie

- Fibroscopie  
 recto-sigmoidoscopie  
 Rectoscopie  
 coloscopie

##### Scanner clinique

- TDM thoraco-abdominal-pelvienne  
 Scaner abdomino-pelvienne  
 Scaner thoracique  
 IRM

#### Resultat d'anapathe

Type histologique

Stadification de CRC

Type de différenciation

##### Architecture d'adenocarcinome

- Tubuleux villeux     Villeux  
 Tubuleux     Indéterminé  
 tubuleux papillaire

##### extentions métastasiques

- Métastase ganglionaire  
 Métastase hépatique  
 Métastase pulmonaire  
 Carcinose peritoniele  
 Adénopathie  
 autre

##### Aspect macroscopique

- Ulcerant  
 Bourgeonnant  
 Infiltrant  
 Sténosant  
 Vegetant

### Bilan biologique

#### Hématologie

Globules rouge élevé ▼

Globules blanc élevé ▼

#### Marqueurs tumoraux

ACE élevé ▼

CA19-9 élevé ▼

#### Bilan hépatique

PAL élevé ▼

ALAT élevé ▼

ASAT élevé ▼

#### Analyse moléculaire RAS

K-Ras Muté ▼

Analyse RAS ▼

### Aspect thérapeutique

#### Chirurgie

Type de la chirurgie Curative ▼

Biopsie faite ▼

Type de biopsie Ganglionnaire ▼

Nombre de ganglions

Nombre envahis

#### Type de la resection

- |   |   |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> Colectomie totale      | <input type="checkbox"/> Sigmoidectomie       |
| <input type="checkbox"/> Hémicolectomie D       | <input type="checkbox"/> Colectomie partielle |
| <input type="checkbox"/> Hémicolectomie G       | <input type="checkbox"/> Rectectomie          |
| <input type="checkbox"/> Colectomie angulaire D | <input type="checkbox"/> Indéterminé          |
| <input type="checkbox"/> Colectomie angulaire G |   |

#### Chimiothérapie

Type de chimiothérapie Adjuvant ▼

Protocole suivi

#### Radiothérapie

Radiothérapie

Durée thérapeutique

# **B-COMMUNICATIONS**

Rechreche H, **Abbes A**. Evaluation de l'état du stress oxydatif hépatique et pulmonaire induit par le Benzo(a)pyrène chez le rat. Mise en évidence des effets antioxydant et prooxydant, Séminaire international sur les plantes médicinales (SIPM), **2018**, El-Oued, Algérie.

**Abbes A**, Rechreche H et Benali M. Etude phyto-chimique et évaluation des activités antiulcéreuse et antioxydante de l'extrait brut aqueux des racines de la plante *Urtica pilulifera L* chez le rat. Séminaire National 'Biologie et Santé', **2017**, Sidi Bel Abbès, Algérie.

**Abbes A**, Rechreche H et Benali M. Effet gastroprotecteur et antioxydant de l'extrait brut éthanolique de la plante *Ranunculus repens L* chez le rat intoxiqué par l'éthanol. Séminaire National 'Biologie et Santé', **2017**, Sidi Bel Abbès, Algérie.

Rechreche H, **Abbes A** et Benali M. Effet hepatoprotecteur et antioxydant de l'extrait brut méthanolique de la plante *urtica dioica* chez un rat intoxiqué par le chlorpyrifos. Séminaire National 'Biologie et Santé', **2015**, Sidi Bel Abbès, Algérie.

**Abbes A**, Rechreche H et Benali M. Caractérisation phyto-chimique et mise en évidence de l'effet gastro-préventif et antioxydant de l'extrait brut aqueux des racines de la plante *berbérus vulgaris* chez le rat. Séminaire National 'Biologie et Santé', **2015**, Sidi Bel Abbès, Algérie.

Rechreche H, **Abbes A**, Boukhouba I, Bouchelaghem A et Lahouel M. Assessment of the state of liver and lung oxidative stress induced by B(a)P. Demonstration of antioxidant and pro-oxidant effects of gallic acid. 4<sup>ème</sup> congrès International de Physiologie et de Bio-surveillance de l'environnement. 20-23 décembre **2015**, Tabarka, Tunisie.

**Abbes A**, Rechreche H, Kribeche A, Effet hépatoprotecteur de l'extrait méthanolique de la propolis contre la toxicité induite par le benzo(a)pyrène. 1<sup>er</sup> SNBMBPC, **2013**, Batna, Algérie.

Rechreche H, Kribeche A et **Abbes A**. Effet antioxydant de l'extrait brut méthanolique des graines de *Lepidium Sativum* au cours d'une toxicité hépato-pulmonaire induite par le benzo(a)pyrène. 1<sup>er</sup> SNBMBPC, **2013**, Batna, Algérie.

Rechreche H, Benhamada N et **Abbes A**. Effet gastroprotecteur de l'extrait méthanolique des racines de la plante *Petasites fragrans* contre la gastrite induite par l'éthanol chez le rat. *Séminaire International : Cancer, Stress Cellulaire et Substances Bioactives*, 23-24 Sep. **2012**, Jijel, Algérie.

Rechreche H, Kribeche A et **Abbes A**. Effet antioxydant de l'extrait brut méthanolique des graines de *Lepidium Sativum* au cours d'une toxicité hépato-pulmonaire induite par le chlorpyrifos chez le rat. *Séminaire International : Cancer, Stress Cellulaire et Substances Bioactives*, 23-24 Sep. **2012**, Jijel, Algérie.

Rechreche H et **Abbes A.** Caractérisations et isolement des ligands glycoprotéiques de la lectine endogène CSL dans la lignée érythroblastode humaine K562. *Séminaire International : Cancer, Stress Cellulaire et Substances Bioactives*, 23-24 Sep. **2012**, Jijel, Algérie.

**Abbes A** et Benali M. Caractérisation biochimique des gluténines de quelques variétés de blé tendre. Identification génétique et étude immunochimique d'un marqueur de qualité. Journées Internationales de Biotechnologie, **2010**, Hammamet, Tunisie.

**Abbes A** et Benali M. Caractéristiques biochimiques et technologiques. Etude électrophorétique de quelques variétés de blé tendre cultivées en Algérie. Colloque International Biotech world, **2010**, Oran, Algérie.

**Abbes A** et Benali M. Caractérisations biochimique, technologique et électrophorétique des gluténines de quelques variétés de blé tendre, Séminaire International sur l'alimentation et la qualité nutritionnelle, 14-15décembre **2009**, Tlemcen, Algérie.

**Abbes A** et Benali M. Etude comparative de cinq variétés d'huile d'olive commercialisées dans la région ouest de l'Algérie. Séminaire National «Alimentation et Santé», Mai **2008**, Sidi Bel Abbès, Algérie.

# **C-PUBLICATIONS**

**I. Publications issues de la thèse**

1. **Abbes A**, Rechreche H, Brinet R, Boulkhiout S, Souilah N, Benali N. Retrospective study of epidemiological, clinicopathological and biological profiles of 62 colorectal cancers cases in Jijel province (algeria). (2018) *Journal of Fundamental and Applied Sciences* <http://www.jfas.info/index.php/jfas>.
2. **Abbes A**, Rechreche H, Iovanna JL and Benali M. Up-regulation of the ATPase Inhibitory Factor 1 (IF1) of the Mitochondrial H<sup>+</sup>-ATP Synthase and GAPDH in colorectal cancer. *In preparation*.

**II. Publications non issues de la thèse**

1. Rechreche H, **Abbes A** and Iovanna JL. Induction of antioxidant mechanisms in lung during experimental pancreatitis in rats. (2020) *Indian Journal of Experimental Biology*, 58(5):297-305.
2. Rechreche H, Benchouib I, **Abbes A**, Boukhouba A, Bouchelaghem A and Lahouel M. Assessment of the state of benzo(a)pyrene-induced oxidative stress in the liver and the lungs of mice. Demonstration of anti-oxidant and pro-oxidant effects of gallic acid. Springer chapter Book, *in press*
3. **Abbes A**, Rechreche H and Benali A. Technological and biochemical characterization of Five Algerian wheat's varieties. Evaluation of their quality by analyzing the glutenins as the allelic markers. *Submitted to Spanish Journal of Agriculture*.

---

## De l'épidémiologie à la transcriptomique, une contribution à l'étude des cancers colorectaux : isolement et surexpression de deux ARNm codant deux gènes régulateurs de l'énergie cellulaire

---

**Résumé.** Le CCR est un véritable problème de santé public, sa fréquence est en constante augmentation en Algérie. C'est une pathologie génétique complexe, caractérisée par l'altération qualitative et quantitative de l'expression de nombreux gènes. Certains de ces gènes sont des cibles thérapeutiques potentielles, alors que d'autres sont des marqueurs tumoraux probables. L'objectif majeur de ce travail de thèse était de chercher des gènes d'intérêts, cependant, il nous a été très judicieux et utile de le précéder par une étude rétrospective multifactorielle et une enquête nutritionnelle. Nous avons établi les profils épidémiologique et clinique de 62 cas de CCR dans la Wilaya de Jijel. Les données collectées ont permis de confirmer un état des lieux très sombre : progression accélérée, diagnostic tardif et traitement par chimiothérapie. La prédominance de l'adénome lieberkühnien bien différencié (98%) et de localisation colique droite a été observée. La mutation du gène KRAS était associée à des stades avancés et métastatiques (72,58%). Une enquête nutritionnelle de type cas-témoins (68 cas) a révélé des corrélations entre l'évolution des CCR et la situation socioéconomique, le tabagisme (RC=0,0751 ; p=0,0174) et les antécédents familiaux (OR=5,2500 ; p=0,0034). Un effet protecteur de la consommation de produits laitiers (OR=0,9808 ; p=0,0437) et des céréales (RC=0,9865 ; p=0,0100) a été démontré. Les tumeurs proximales du côlon étaient associées à une faible consommation de fruits, de légumes, de céréales et de produits laitiers, alors que, la consommation de viande rouge n'a eu aucun effet. La transcriptomique est devenue de plus en plus une approche efficace et pertinente. Ainsi, nous avons employé le criblage différentiel sur filtres HD pour chercher des ARNm dont l'expression est altérée et qui peuvent constituer un réservoir de gènes candidats pour développer des stratégies thérapeutique et/ou diagnostique. Nos résultats ont permis de présélectionner deux clones codant deux gènes régulateurs de l'énergie cellulaire comme étant potentiellement surexprimés. Il s'agissait d'IF1 et de la GAPDH. En particulier, l'expression de ces deux gènes a été analysée par Northern blot et la séquence complète de l'ARNm d'IF1 a été obtenue. Nous avons suggéré que la formation excessive de l'ATP pourrait être, du moins partiellement, due à l'expression accrue d'IF1 et de la GAPDH dans les cellules malignes, ce qui inhiberait leur activité de dégradation de l'ATP. L'accumulation d'IF1 et de la GAPDH dans la tumeur colorectale pourrait participer dans la promotion du cancer, par l'amélioration du métabolisme énergétique. Cette hypothèse, si elle est confirmée, fournirait une thérapeutique contre le CCR, en utilisant une stratégie anti-sens basée sur les régulateurs de l'énergie cellulaire.

**Mots clés :** CCR ; profils épidémiologique, biologique, clinique et nutritionnel, KRAS, transcriptome, criblage différentiel, surexpression, ARNm, IF1, GAPDH, métabolisme énergétique

---

**Abstract.** The CRC is a real public health problem; its frequency is constantly increasing in Algeria. It is a complex genetic pathology characterized by qualitative and quantitative alteration of the expression of many genes. Some of these genes are potential therapeutic targets, while others are likely tumor markers. The main objective of my thesis work was to look for genes with therapeutic and/or diagnostic interest; however, it was very judicious and useful to precede it by a multifactorial retrospective study and a nutritional investigation. We have established the epidemiological, pathological and clinical profiles of 62 cases of CRC in the Wilaya of Jijel. The data collected allowed us to confirm a very dark state of the CRC: accelerated progression, late diagnosis and chemotherapy treatment. The predominance of well-differentiated adenomas of Lieberkühn (98%) and right colic localization was observed. The KRAS gene mutation was associated with advanced and metastatic stages (72.58%). A case-control nutrition survey (68 cases) revealed correlations between CRC trends and socioeconomic status, smoking (RC=0.0751; p=0.0174) and family history (OR=5.2500; p=0.0034). A protective effect of the consumption of dairy products (OR=0.9808; p=0.0437) and cereals (RC=0.9865; p=0.0100) has been demonstrated. Proximal tumors of the colon were associated with low consumption of fruits, vegetables, cereals and dairy products, while consumption of red meat had no effect. The transcriptome alteration is becoming an original and useful approach. Thus, we have used differential screening on high-density filters to look for mRNAs whose expression is impaired and which can constitute a reservoir of candidate genes for developing therapeutic and/or diagnostic strategies. We preselected two clones, encoding two cell energy regulatory genes, as potentially overexpressed. These were IF1 and GAPDH. In particular, the expression of these two genes was analyzed by Northern blot, and the complete sequence of the IF1 mRNA has been obtained. We suggested that the excessive formation of ATP could be, at least partially, due to the increased expression of IF1 and GAPDH in malignant cells, which would inhibit their ATP hydrolysis activity. The accumulation of IF1 and GAPDH in the colorectal tumor could participate in the promotion of cancer by improving cellular energy metabolism. This hypothesis, if confirmed, will provide possible treatment against CRC, using an antisense strategy against the regulators of energy metabolism.

**Key words:** CRC; epidemiological, biological, clinical and nutritional profiles, KRAS, transcriptome, differential screening, overexpression, mRNA, IF1, GAPDH, energy metabolism

---