

République Algérienne Démocratique Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique

Université des Sciences et de la Technologie d'Oran « Mohamed Boudiaf »



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Génétique Moléculaire Appliquée

Spécialité : Génétique moléculaire et cellulaire **Option :** Biologie moléculaire

THESE

Présentée par

Mademoiselle MOGHTIT Fatima Zohra

En vue de l'obtention du

Diplôme de DOCTORAT

Thème

Etude de l'implication des polymorphismes des gènes de réparation de l'ADN dans la survenue du cancer colorectal dans la population de l'Ouest Algérien

Soutenue le 30 /11 / 2014 devant la commission d'examen composée de:

<u>Qualité</u>	<u>Nom et Prénom</u>	<u>Grade</u>	<u>Etablissement d'origine</u>
Présidente	Mme SAIDI-MEHTAR Nadhira	Professeur	USTOMB (Oran)
Examineur	Mr BOUDJEMA Abdallah	Professeur	USTOMB(Oran)
Examineur	Mr BOUROUBA Mehdi	Maître de conf. A	USTHB(Alger)
Examineur	Mr CHEBA Benamar	Maître de conf. A	USTOMB (Oran)
Directrice de thèse	Mme ABERKANE Meriem Samia	Maître de conf. A	Université d'Oran

Remerciements

*J'adresse mes vifs remerciements au **Pr. SAÏDI-MEHTAR Nadhira** ; professeur en biologie moléculaire à l'université des sciences et de la technologie d'Oran-Mohamed Boudiaf- (USTO-MB) ; qui a eu la bonté d'accepter d'être présidente de ce jury. Assurée de l'intérêt que vous portez à ce travail, je reste convaincue que votre présence m'assurera de la valorisation et de la teneur de notre projet .Veuillez croire en mon éternel respect et ma sincère gratitude.*

*Mes remerciements au **Pr. BOUDJEMA Abdallah** ; professeur en biologie moléculaire à l'université des sciences et de la technologie d'Oran-Mohamed Boudiaf- (USTO-MB) ; pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant d'examiner ce travail et de l'enrichir de ses éminentes compétences scientifiques dont son enseignement et sa passion resteront des exemples pour moi. Veuillez accepter ce travail, en gage de mon grand respect et ma profonde reconnaissance.*

*Je remercie également **Dr. BOUROUBA Mehdi** ; maître de conférences classe A à l'université des sciences et de la technologie Houari Boumediene d'Alger (USTHB) ; d'avoir accepté avec une grande amabilité de faire partie de ce jury pour examiner cette thèse et pour m'avoir fait l'honneur de votre présence à ma soutenance. Soyez assuré de ma profonde reconnaissance et de ma considération respectueuse.*

*Mes remerciements les plus respectueux vont au **Dr. CHEBA Benamar** ; maître de conférences classe A à l'université des sciences et de la technologie d'Oran-Mohamed Boudiaf- (USTO-MB) ; qui a accepté d'examiner ce travail. Veuillez accepter Monsieur le témoignage de ma reconnaissance et de mon respectueux hommage.*

*Je remercie tout particulièrement ma directrice de thèse **Dr. ABERKANE Meriem Samia** ; maître de conférences classe A à l'Université d'Oran ; pour la confiance qu'elle m'a accordée en acceptant d'encadrer ce travail doctoral. Je lui suis reconnaissante pour sa patience, ses encouragements, sa sympathie et sa disponibilité à tout moment. Ses conseils, ses commentaires, ses corrections et ses qualités scientifiques ont été très précieux pour mener à bien ce travail. Enfin, j'ai été extrêmement sensible à ses qualités humaines, à sa rigueur, à son professionnalisme et à son ouverture d'esprit. Je suis infiniment heureuse et honorée d'avoir fait ma thèse sous sa direction. Aucune expression de gratitude ne sera suffisante pour vous exprimer mon respect et ma reconnaissance.*

*Je tiens à exprimer mes remerciements les plus sincères à **Mr. LOUHIBI Lotfi** ; maître assistant classe A à l'université des sciences et de la technologie d'Oran-Mohamed Boudiaf- (USTO-MB) ; de m'avoir orienté et m'encouragé au cours de mon travail, également pour sa gentillesse, sa grande compétence et sa disponibilité continue. Malgré toutes ses journées surchargées, merci d'avoir toujours trouvé un moment pour discuter quand je frappais à sa porte. Il a su me faire partager ses nombreuses connaissances, sa vision toujours claire et synthétique. Ma sincère gratitude et un grand respect vous sont personnellement adressés, pour m'avoir fait confiance, pour m'avoir beaucoup appris.*

J'aimerais remercier également :

Tous les patients qui ont accepté de participer à cette étude.

Le staff hospitalier qui a contribué à la réalisation de cette étude. Je pense plus particulièrement à :

*Monsieur, le professeur **BOUSAHBA Abdelkader**, chef de service d'oncologie adulte au CAC de Misserghine.*

*Madame, le docteur **MEGAIZ Ahlem**, service d'oncologie adulte au CAC de Misserghine.*

*Monsieur, le professeur **LARBAOUI Blaha**, service d'oncologie médicale de CHU d'Oran.*

*Ce travail est le résultat d'une collaboration avec le laboratoire de Pharmacologie des Agents anticancéreux, Institut Bergonié, Bordeaux (France). Je tiens à remercier vivement **Pr. ROBERT Jacques** pour m'avoir permis de réaliser la majeure partie expérimentale de génotypage dans son laboratoire et pour m'avoir conseillée et guidée avec bienveillance. Je remercie chaleureusement tous les membres de son équipe pour leur grande disponibilité et l'ambiance décontractée qui m'a facilité le travail, et tout particulièrement **Dr. LE MORVAN Valérie** et **Mr BELLOT Ricardo** pour m'avoir formée à l'utilisation du pyroséquenceur, pour leur simplicité, leurs précieux conseils et pour leur suivi et l'aide précieuse qu'ils m'ont apporté tout au long de mon stage.*

*Je souhaite remercier également **Pr.MEDIENE-BENCHEKOR Sounnia** ; professeur en biologie moléculaire à l'université d'Oran ; et **Mr.FODIL Fayçal** ; maître assistant classe A à l'université des sciences et de la technologie d'Oran-Mohamed Boudiaf (USTO-MB); d'avoir mis à ma disposition leurs banques d'ADN des témoins. Trouvez ici le témoignage de ma gratitude et de ma profonde considération.*

Mes remerciements les plus sincères vont également à l'équipe du laboratoire de Génétique Moléculaire appliquée, Université des Sciences et de la Technologie d'Oran (Mohamed BOUDIAF), ainsi que mes amis, je ne saurais de les nommer de peur d'en oublier. Vous m'avez apporté beaucoup de joie et de soutien. Vous avez été une équipe formidable avec laquelle j'ai partagé des moments extraordinaires.

Je remercie tous ceux qui par leurs encouragements, leur aide, leurs conseils ou leurs critiques, ont contribué à la réalisation de ce travail.

A toutes et tous, un grand merci !

Merci 

Résumé

En Algérie, le cancer colorectal (CCR) représente un réel problème de santé publique. Celui-ci combine l'implication de facteurs génétiques et environnementaux. De nombreux gènes sont associés au risque de survenue de cette pathologie dont certains codent pour des protéines intervenant dans les mécanismes de réparation de l'ADN.

Afin de rechercher une éventuelle association entre les polymorphismes des gènes de réparation et la survenue du CCR sporadique dans la population de l'Ouest Algérien, nous avons développé une étude d'association cas/témoins portant sur les variants génétiques suivants : le SNP c.1196G>A du gène *XRCC1* (p.Arg399Gln, [rs25487](#)), le SNP c.722C>T du gène *XRCC3* (p.Thr241Met, [rs861539](#)), le SNP c.354C>T du gène *ERCC1* (p.Asn118=, [rs11615](#)) et le SNP c.2251A>C du gène *ERCC2* (p.Lys751Gln, [rs13181](#)). Cette étude préliminaire est la première du genre sur une population algérienne.

Cette étude de type cas/témoins a concerné 129 sujets atteints de CCR et 148 sujets normaux non apparentés. Le génotypage des différents polymorphismes a été réalisé par pyroséquençage. La comparaison des fréquences alléliques, génotypiques et haplotypiques entre les deux groupes a été établie par le calcul de l'odds ratio avec un intervalle de confiance à 95%.

L'analyse statistique a montré qu'il n'existait aucune différence significative de distribution des fréquences alléliques et génotypiques des polymorphismes explorés entre les cas et les contrôles ($p > 0,05$). Par ailleurs, nous avons noté une association significative entre le génotype combiné *XRCC3* (CT) et *ERCC2* (CC) avec le risque du CCR (OR = 7,33, $p = 0,02$).

En conclusion, il serait intéressant d'explorer d'autres polymorphismes des gènes de réparation de l'ADN afin de caractériser d'une manière plus précise le déterminisme génétique du CCR dans notre population. De plus, des études ultérieures sur l'implication des facteurs environnementaux au sein d'une population à effectif plus large seront nécessaires afin de proposer les stratégies de prévention du CCR les mieux adaptées à notre population.

Mots clés : CCR- *XRCC1*- *XRCC3*- *ERCC1*- *ERCC2*- polymorphisme- association- Ouest Algérien.

Abstract

In Algeria, colorectal cancer (CRC) constitutes a real problem of public health. Both genetic and environmental factors are involved in the etiology of CRC. Several genes have been associated with increased risk of CRC; such as those encoding DNA repair proteins.

To search for a possible association between DNA repair genes polymorphisms and the occurrence of sporadic CRC in the West Algerian population, a case/control study was conducted exploring the following genetic variants: SNP c.1196G> A of the *XRCC1* gene (p.Arg399Gln, [rs25487](#)) SNP c.722C>T gene *XRCC3* (p.Thr241Met, [rs861539](#)) SNP c.354C>T of the *ERCC1* gene (p.Asn118=, [rs11615](#)) and SNP c.2251A> C *ERCC2* gene (p.Lys751Gln, [rs13181](#)). This preliminary study is the first of its kind conducted on an Algerian population.

A total of 129 patients with CRC and 148 unrelated normal subjects were enrolled in our case/control study. The genotyping was performed by pyrosequencing method. The allele, genotype and haplotype distributions were compared between cases and controls by the calculation of the odds ratio with a confidence interval of 95%.

Statistical analysis showed that there were no significant differences in the distribution of allele and genotype frequencies between cases and controls ($p > 0.05$). Furthermore, a significant association was found between the combined heterozygous of *XRCC3* and homozygous variant of *ERCC2* gene and CRC (OR = 7.33, $p = 0.02$).

In conclusion, it would be very interesting to explore other polymorphisms of DNA repair genes in order to fully characterize the genetic determinism of the CRC in our population. In addition, further studies examining the role of environmental factors on a larger sample size will be needed to propose the best preventive strategies for CRC in our population.

Keywords: CRC- *XRCC1*- *XRCC3*- *ERCC1*- *ERCC2*- polymorphism- association- West Algerian.

الملخص

مرض سرطان القولون مشكلة صحية عمومية واسعة الانتشار في الجزائر ويحدث بسبب تألف عدد من العوامل الجينية والبيئية. العديد من الجينات ارتبطت بخطر الإصابة بالسرطان من بينها تلك التي ترمز لبروتينات مشاركة في اصلاح الحمض النووي.

لتقييم العلاقة بين تعدد أشكال النيوكليوتيدة لجينات اصلاح الحمض النووي و سرطان القولون في المجتمع الجزائري أجرينا في هذا البحث دراسة حالة/شاهد على سكان غرب الجزائر و قد تم دراسة تعدد أشكال النيوكليوتيدة التالية:

(p.Arg399Gln, rs25487) *XRCC1* c.1196G>A

(p.Thr241Met, rs861539) *XRCC3* c.722C>T

(p.Asn118=, rs11615) *ERCC1* c.354C>T

(p.Lys751Gln, rs13181) *ERCC2* c.2251A>C

لعلمنا أن هذه الدراسة هي الأولى من نوعها على الجزائريين.

شملت هذه الدراسة 129 مريض مصابين بسرطان القولون و 148 شخص عادي. تم تحديد النمط الجيني باستخدام تقنية pyrosequencing. تم تحديد مقارنة الترددات الأليلية، الأنماط الجينية والأنماط الفردانية بين المجموعتين عن طريق حساب نسبة الأرجحية (OR) مع مجال الثقة 95%.

أظهر التحليل الإحصائي أنه لا يوجد فرق في توزيع ترددات الأليلات و الأنماط الجينية بين الحالات و العاديين ($p > 0.05$). من ناحية أخرى، وجدنا علاقة وثيقة بين النمط الجيني المتشكل من *XRCC3* (CT) و *ERCC2* (CC) و خطر سرطان القولون ($p = 0.02$, OR = 7.33).

في الختام، سيكون من المثير للاهتمام استكشاف تعدد أشكال النيوكليوتيدة الأخرى لجينات اصلاح الحمض النووي من أجل توصيف وراثي أكثر دقة لسرطان القولون في مجتمعنا. بالإضافة إلى ذلك، هناك حاجة إلى مزيد من الدراسات مع إشراك العوامل البيئية على عدد أكبر من السكان لاتخاذ التدابير اللازمة والأنسب لسكاننا للوقاية من هذا المرض.

الكلمات المفتاحية: سرطان القولون- *ERCC1- ERCC2- XRCC1- XRCC3* - تعدد أشكال النيوكليوتيدة-العلاقة- الغرب الجزائري.

Production scientifique

Ce travail de thèse a fait l'objet d'une publication et des communications suivantes :

Publication

- **MOGHTIT F.Z.**, ABERKANE MS., LE MORVAN V., LOUHIBI L., BELLOT R., BOUSAHBA A., MEGAIZ A., FODIL M., MEDIENE-BENCHEKOR S., ZEMANI-FODIL F., BOUDJEMA A., ROBERT J., SAIDI-MEHTAR N. *No association between XRCC3 Thr241Met and XPD Lys751Gln polymorphisms and the risk of colorectal cancer in West Algerian population: a case-control study.* Medical oncology (Northwood, London, England) 2014, 31: 942-942.

Communications

Orales

- **MOGHTIT F.Z.**, ABERKANE MS., LOUHIBI L., LARBAOUI B., MEHTAR N. *Polymorphismes des gènes de réparation de l'ADN et risque du cancer colorectal.* 1er Congrès International de Biotechnologie : Challenges & Perspectives. Annaba (ALGERIE), 19 et 20 novembre 2011 .

Affichées

- **MOGHTIT F.Z.**, ABERKANE M., LOUHIBI L., LARBAOUI B., MEHTAR N. « *Polymorphismes des gènes de réparation de l'ADN et risque du cancer colorectal dans la population de l'Ouest Algérien* ». Premières Journées de Génétique Moléculaire Appliquée organisées à Oran (ALGERIE), les 4 et 5 Décembre 2011.
- **MOGHTIT F.Z.**, LOUHIBI L., JACQUES R., LEMORVAN V., BELLOT R., BOUSAHBA A.K., MEGAIZ A., ABDERRAHMANE R., BENSENOUCI S., BOUBEKEUR A., SAIDI-MEHTAR N., ABERKANE M. « *No association between ERCC2 Lys751Gln polymorphism and colorectal cancer risk in an Algerian population* ». Second ESPT Conference " Pharmacogenomics: From Cell to Clinic " Lisbon (Portugal), September 26–28, 2013.
- **MOGHTIT F.Z.**, LOUHIBI L., JACQUES R., LEMORVAN V., BELLOT R., BOUSAHBA A.K., MEGAIZ A., ABDERRAHMANE R., BENSENOUCI S., BOUBEKEUR A., SAIDI-MEHTAR N., ABERKANE M. « *ERCC2 Lys751Gln polymorphism and colorectal cancer risk in a West Algerian population* ». UAE Cancer congress 2013, Dubai (UAE), 3-5 October 2013.
- **MOGHTIT F.Z.**, LOUHIBI L., ROBERT J., LEMORVAN V., BELLOT R., BOUSHABA A., MEGAIZ A., SAIDI-MEHTAR N., ABERKANE M. « *Polymorphism Thr241Met of the XRCC3 gene and lack of association with colorectal cancer risk in West Algerian population* ». 5th Pan Arab Human Genetics Conference, Dubai (UAE), 17-19 November 2013.
- **MOGHTIT F.Z.**, LOUHIBI L., ROBERT J., LEMORVAN V., BELLOT R., BOUSHABA A., MEGAIZ A., SAIDI-MEHTAR N., ABERKANE M. « *Recherche d'une éventuelle association entre le polymorphisme génétique Asn118Asn du gène ERCC1 et le cancer colorectal chez une population algérienne* ». 7èmes Assises de Génétique Humaine et Médicale – Bordeaux, 23, 30 et 31 janvier 2014.

Table des matières

Liste des figures	I
Liste des tableaux	III
Liste des annexes	IV
Liste des abréviations	V
Introduction	2
Revue bibliographique	5
I- Introduction à l'épidémiologie génétique.....	5
1- Notions générales.....	5
1-1- Maladies multifactorielles.....	5
1-2- Notion de facteur de risque.....	6
1-3- Diversité génétique et polymorphisme.....	6
1-3-1- Séquences répétées en tandem.....	6
1-3-2- Insertions/ délétions (Indel).....	7
1-3-3- Variations du nombre de copies.....	7
1-3-4- Polymorphismes nucléotidiques simples.....	7
1-4- Haplotype et déséquilibre de liaison.....	8
2- Epidémiologie génétique.....	9
2-1- Définition.....	9
2-2- Types d'études.....	9
2-2-1- Enquête de cohorte.....	9
2-2-2- Enquête cas-témoins.....	9
2-3- Méthodes d'analyse.....	10
2-3-1- Analyse de liaison génétique.....	10
2-3-2- Etude d'association.....	10
2-3-2-1- Approche gène candidat.....	10
2-3-2-2- Approche génome candidat.....	11
II- Généralités sur le cancer colorectal.....	12
1- Données épidémiologiques.....	13
2- Aspect anatomopathologique et prise en charge des cancers colorectaux...	14
2-1- Carcinogénèse colique.....	14
2-2- Eléments d'anatomopathologie.....	15
2-3- Traitement.....	17
2-3-1- Chirurgie.....	17
2-3-2- Chimiothérapie.....	17
2-3-3- Radiothérapie.....	18
2-3-4- Thérapie ciblée.....	18
3- Classification des cancers colorectaux.....	19
3-1- Cancers colorectaux héréditaires.....	19
3-2- Cancers colorectaux sporadiques.....	21
4- Etiologie du cancer colorectal.....	21

4-1- Facteurs environnementaux.....	21
4-1-1- Facteurs alimentaires.....	21
4-1-2- Tabagisme et alcool.....	22
4-1-3- Syndrome métabolique.....	22
4-2- Antécédents personnels.....	22
4-3- Facteurs héréditaires et génétiques.....	22
5- Génétique des cancers colorectaux.....	23
5-1- Les mécanismes moléculaires de la cancérogénèse colorectale.....	23
5-1-1- Les différents types d'instabilité génétique.....	24
5-1-1-1- Instabilité microsatellitaire.....	24
5-1-1-2- Instabilité chromosomique.....	24
5-1-1-3- Instabilité épigénétique « Hyperméthylation ».....	25
5-1-2- Gènes de prédisposition génétique.....	25
5-1-2-1- Oncogènes.....	25
5-1-2-2- Anti-oncogènes.....	26
5-1-2-3- Gènes du métabolisme des xénobiotiques.....	26
5-1-2-4- Gènes de réparation de l'ADN.....	26
5-2- Les voies moléculaires impliquées dans la transformation maligne....	27
5-2-1- La voie Wnt ou voie APC/ β caténine.....	27
5-2-2- La voie TGF- β	28
5-2-3- La voie Ras.....	30
5-2-4- La voie p53.....	31
III- Réparation de l'ADN et cancérogénèse.....	33
1- Dommages de l'ADN.....	33
2- Les mécanismes de réparation de l'ADN.....	36
2-1- Système de réparation des cassures double-brin de l'ADN.....	36
2-2- Système de réparation des mésappariements de l'ADN.....	38
2-3- Système de réparation par excision de nucléotides.....	39
2-4- Système de réparation par excision de base.....	41
2-5- Système de réparation des agents pontant l'ADN.....	42
3- Gène <i>XRCC1</i>	44
3-1- La structure du gène.....	44
3-2- La protéine XRCC1.....	44
3-3- Polymorphismes du gène <i>XRCC1</i> et cancers.....	46
4- Gène <i>XRCC3</i>	48
4-1- La structure du gène.....	48
4-2- La protéine XRCC3.....	48
4-3- Polymorphismes du gène <i>XRCC3</i> et cancers.....	49
5- Gène <i>ERCC1</i>	50
5-1- La structure du gène.....	50
5-2- La protéine ERCC1.....	50
5-3- Polymorphismes du gène <i>ERCC1</i> et cancers.....	50
6- Gène <i>ERCC2</i>	51
6-1- La structure du gène.....	51

6-2- La protéine ERCC2.....	51
6-3- Polymorphismes du gène <i>ERCC2</i> et cancers.....	52
Problématique et objectifs.....	55
Population d'étude et méthodes.....	58
I- Population d'étude.....	58
I-1- Groupe des cas.....	58
I-2- Groupe des témoins.....	58
II- Méthodes.....	59
II-1- Extraction d'ADN génomique et dosage.....	59
II-2- Analyse génétique.....	59
II-2-1- Principe des techniques de biologie moléculaire.....	60
II-2-1-1- Principe de la PCR.....	60
II-2-1-2- principe du pyroséquençage.....	61
II-2-2- Choix des oligonucléotides de PCR et de pyroséquençage.....	62
II-2-3- Conditions pratiques de l'amplification.....	63
II-2-4- Protocole expérimental du pyroséquençage.....	64
II-3- Analyse statistique.....	65
Résultats et discussion.....	68
I- Résultats.....	68
I-1- Description de la population d'étude.....	68
I-2- Résultats d'amplification.....	69
I-3- Résultat du génotypage par pyroséquençage.....	70
I-4- Impact du polymorphisme c.1196G>A du gène <i>XRCC1</i> sur le risque de survenue du CCR.....	71
I-5- Impact du polymorphisme c.722C>T du gène <i>XRCC3</i> sur le risque de survenue du CCR.....	72
I-6- Impact du polymorphisme c.354C>T du gène <i>ERCC1</i> sur le risque de survenue du CCR.....	73
I-7- Impact du polymorphisme c.2251A>C du gène <i>ERCC2</i> sur le risque de survenue de CCR.....	74
I-8- Impact des génotypes combinés des polymorphismes et risque de survenue de CCR.....	75
I-9- Etude de l'impact des haplotypes des polymorphismes rs25487, rs11615 et rs13181 sur le risque de survenue de CCR.....	75
II- Discussion.....	85
Conclusion et perspectives.....	98
Annexes.....	101
Références bibliographiques.....	107

Liste des figures

Figure 01: Les différentes parties du gros intestin.....	12
Figure 02: La structure histologique du côlon normal... ..	14
Figure 03: Evolution du cancer colorectal dans le temps	15
Figure 04: Représentation schématique des différents stades du cancer colorectal.....	16
Figure 05: Modèle génétique de la cancérogénèse colorectale selon Fearon et Vogelstein...	23
Figure 06: Représentation schématique de la voie Wnt.....	27
Figure 07: Représentation schématique de la voie TGF- β	29
Figure 08: Représentation schématique de la voie Ras	30
Figure 09: Représentation schématique de la voie P53.....	32
Figure 10: Exemple d'une désamination d'une cytosine en uracile.....	34
Figure 11: Dimère de pyrimidines formé sous l'action des rayons UV.....	35
Figure 12: Représentation schématique du système de réparation DSBR.....	37
Figure 13: Représentation schématique du système de réparation « MMR » chez l'homme..	39
Figure 14: Représentation schématique du système de réparation NER.....	40
Figure 15: Représentation schématique du système de réparation BER.....	42
Figure 16: Représentation schématique du système de réparation CLR.....	43
Figure 17: Représentation schématique des domaines de la protéine XRCC1.....	45
Figure 18 : Structure du domaine BRCT de la protéine XRCC1.....	46
Figure 19: Principe de la PCR.....	60
Figure 20: Principe du pyroséquençage.....	62
Figure 21: Tests d'amplification obtenus pour quelques échantillons.....	69

Figure 22: Exemple d'un pyrogramme obtenu pour le SNP rs11615 du gène ERCC1.....	70
Figure 23: Les structures des acides aminés arginine et glutamine.....	86
Figure 24: Structure tridimensionnelle du domaine BRCT1 de la protéine XRCC1obtenue par simulation de dynamique moléculaire.....	87
Figure 25: Les structures des acides aminés : thréonine et méthionine.....	89
Figure 26: Les structures des acides aminés : lysine et glutamine.....	93

Liste des tableaux

Tableau I: Classification TNM des cancers colorectaux.....	15
Tableau II: Liste des oligonucléotides.....	63
Tableau III: Répartition des sujets témoins et malades CCR selon l'âge et le sexe.....	68
Tableau IV: Distribution des fréquences alléliques et génotypiques du SNP <i>XRCC1</i> c.1196G>A chez les témoins et les patients CCR.....	71
Tableau V: Distribution des fréquences alléliques et génotypiques du SNP <i>XRCC3</i> c.722C>T chez les témoins et les patients CCR.....	72
Tableau VI: Distribution des fréquences alléliques et génotypiques du SNP <i>ERCC1</i> c.354C>T chez les témoins et les patients CCR.....	73
Tableau VII: Distribution des fréquences alléliques et génotypiques du SNP <i>ERCC2</i> c.2251A>C chez les témoins et les patients CCR.....	74
Tableau VIII: Analyse des génotypes combinés.....	76
Tableau IX: Etude haplotypique	77

Liste des annexes

Annexe 01: Fiche Patient.....	101
Annexe 02: Formulaire de consentement pour participation à une étude scientifique.....	104
Annexe 03: Le protocole d'extraction d'ADN à partir du sang total par la technique NaCl « Salting Out ».....	105

Liste des abréviations

%: Pourcentage
°C: Celsius
µl : Microlitre
µM: Micromolaire
5-FU: 5-Fluorouracile
A: Adénine
ADN: Acide DésoxyriboNucléotide
AP : Site apurique ou apyrimidique
AP1: Activating Protein 1
APE1: AP Endonucléases 1
APS: Adénosine 5'-Phosphosulfate
ARNm: ARN messenger
ARN_t: ARN de transfert
ATM: Ataxia Telangiectasia Mutated
ATP: Adénosine TriPhosphate
ATR: Ataxia Telangiectasia Related
bcl-2: B-Cell/Lymphoma 2
BER: Base Excision Repair
BET: Bromure d'Éthidium
BRCTI: BReast Cancer susceptibility protein homology C Terminus I
C: Cytosine
CAC: Centre Anti-Cancer
CCD: Charge Coupled Device
CCR: Cancer ColoRectal
CHUO: Centre Hospitalo-Universitaire d'Oran
CIMP: CpG Island Methylator Phenotype
CIN : Chromosomal INstability
CIRC: Centre International de Recherche sur le Cancer
CKI : Cyclin Dependent Kinase Inhibitors
CLR: Cross-Link Repair:
c-Myc: Cellular-MYeloCytose
CNV: Copy Number Variations
CSA et CSB : Cockayne Syndrome group A et B
CYP450: CYtochromes P450
DCC: Deleted in Colorectal Carcinoma
dNTP : DésoxyNucléotides TriPhosphates
DO : Densité Optique
DPYD : DihydroPYrimidine Dehydrogenase
DS: Déviation Standard
DSBR: Double Strand Break Repair
Dsh : DiSHevelled
dTMP : DésoxyThymidine MonoPhosphate
dUMP: DésoxyUridine MonoPhosphate
EDTA: Ethylène Diamine Tétra Acétique
EGF: Epidermal Growth Factor
EGFR: Epidermal Growth Factor Receptor

Elk1: Ets-like gene 1
ERCC: Excision Repair Cross Complementation group
Erk1/2: Extracellular signal-Regulated Kinases 1 et 2
FAP: Familial Adenomatous Polyposis
FEN1: Flap Endonuclease 1
Frz: Frizzled
G: Guanine
GAPs: GTPase Activating *Protein*
GDP: Guanosine DiPhosphate
GG-NER: Global Genome-NER
GSK3-β: Glycogen Synthase Kinase 3-béta
GST: Glutathion-S Transférases
GTP: Guanosine TriPhosphate
GWAS: Genome Wide Association Study
hHR23B: Rad23 homolog B
HNPCC: Hereditary Non Polyposis Colorectal Cancer
HRR : Homologous Recombination Repair
IC : Intervalle de Confiance
Indel: INsertion DELétion
ISOR : InSulino-résistance à ORan
kb: KiloBase
kDa: KiloDalton
LD: Linkage of Desequilibrium
LGMC: Laboratoire de Génétique Moléculaire et Cellulaire
LOH: Loss of Heterozygosity
M: Molaire
MAF: Minor Allele Frequency
MDR1: Multi Drug Resistance
MEK1/2 : Mitogen-activated protein kinase 1 et 2
MgCl₂ : Chlorure de Magnésium
ml : Millilitre
MLH1: MutL Homolog 1
mM: MiliMolaire
MMP-7 : Matrix MetalloProtein 7
MMR : Mismatch Repair
Mre11 : Meiotic recombination 11
MSH2: MutS Homolog 2
MSH6: MutS Homolog 6
MSI: MicroSatellite Instability
MT: Marqueur de Taille
n: Nombre
NaOH : Hydroxyde de sodium
NaCl : Chlorure de sodium
NCBI: National Center of Biotechnology Information
NER: Nucleotid Excision Repair :
ng: NanoGramme
NHEJ: Non-Homologous End-Joining
NLS : Nuclear Localization Signal
nm: NanoMètre
OGG1: Human 8-OxoGuanine DNA Glycosylase

- OR** : Odds Ratio
p: signification statistique
PAF : Polypose Adénomateuse Familiale
PAM : Polypose Adénomateuse associée aux mutations de MUTYH
PARP1: Poly ADP ribose Polymérase 1
pb: Paires de Base
PCNA: Proliferating Cell Nuclear Antigen
PCR: Polymerase Chain Reaction
PI3K: Phosphatidylinositol 3-Kinase
PJF: Polypose Juvénile Familiale
PMS1 /2: Postmeiotic Segregation 1/2
PNK: Polynucléotide kinase
PPi : PyroPhosphate
Ras : Rat Sarcoma
RER : Replication ERror
RPA : Réplicative Protein A
rpm : Revolutions per minute
rs : Reference SNP
SC : Syndrome de Cowden
SF2: SuperFamille 2
SNP: Single Nucleotide Polymorphism
SPJ: Syndrome de Peutz- Jeghers
STR: Short Tandem Repeats
T: Thymine
Taq: Thermus Aquaticus
TCF/LEF: T-Cell Factor/ Lymphoid Enhancer Factor
TC-NER: Transcription-Coupled-NER
TFIIH : Transcription Factor II H
TGF-β: Transforming Growth Factor β
Thesias: Testing Haplotype EffectS In Association Studies
TNM: Tumor Node Metastasis
tp53: Tumor protein 53
TS : Thymidylate Synthase
U: Unité
UGTA1 : UDP GlucuronosylTransferase 1 family
UICC: Union Internationale Contre le Cancer
USTO-MB : Université des Sciences et de la Technologie d'Oran-Mohamed BOUDIAF-
UV: Ultra violet
V: Volts
VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor
VEGFR: Vascular Endothelial Growth Factor Receptor
VNTR: Variable Number of Tandem Repeat
Wnt: Wingless site
X²: Khi2
XP: Xeroderma Pigmentosum
XRCC: X-ray Repair Complementing defective repair in Chinese hamster cells
- Nomenclature :**
- Les gènes sont indiqués en italique
 - Les protéines produites par ces gènes sont indiquées en lettres droites

Introduction



Le terme de cancer recouvre un ensemble de maladies caractérisées par la prolifération rapide et incontrôlée des cellules anormales capables d'échapper à une mort cellulaire programmée. Ces cellules peuvent se propager de l'emplacement où elles ont pris naissance jusqu'à d'autres parties de l'organisme, formant ce qu'on appelle des métastases. En détruisant son environnement, le cancer peut devenir un réel danger pour la survie de l'être vivant. A travers le monde, plus de 10 millions de personnes décèdent d'un cancer, plus de 20 millions en sont atteintes et 14 millions de nouveaux cas sont diagnostiqués chaque année (Organisation mondiale de la santé, 2014).

Le cancer colorectal (CCR) se situe parmi les cancers digestifs les plus fréquents par sa fréquence et sa gravité et atteint le côlon ou le rectum. Les cancers du côlon et du rectum étant assez semblables, ils sont regroupés sous le terme de cancer colorectal. C'est une tumeur maligne qui se développe sur la paroi intestinale, conduisant à la transformation de cellules épithéliales coliques normales en cellules adénomateuses et enfin en un carcinome glandulaire ou adénocarcinome. En dépit des progrès thérapeutiques réalisés ces dernières années et des études visant à la compréhension des mécanismes responsables de la transformation maligne, la mortalité due à ce cancer reste toujours importante.

L'incidence du CCR se trouve élevée dans les pays occidentaux par rapport aux pays en voie de développement où le taux est relativement bas. Cependant, au cours de ces dernières décennies, on a enregistré dans ces pays une augmentation alarmante du CCR et l'Algérie n'a malheureusement pas échappé à cette hausse.

Dans les CCR, on distingue les formes familiales et les formes sporadiques. Les formes familiales sont héréditaires et souvent liées à une prédisposition génétique contrairement aux cancers sporadiques qui seraient dus à une combinaison de facteurs aussi bien génétiques qu'environnementaux.

L'existence d'une composante multigénique des CCR a été démontrée par différentes études depuis longtemps et aide désormais à mieux comprendre les déterminants génétiques de l'apparition du CCR et leur interaction avec les facteurs de risque environnementaux. Dès lors, il est devenu incontournable de développer des outils performants pour l'investigation de la pléthore de polymorphismes génétiques de type SNP « *Single Nucleotide Polymorphism* » et de choisir des modèles épidémiologiques adéquats pour, avant tout, comprendre et expliquer les associations observées avec les risques d'émergence de nombreux cancers.



Les gènes considérés comme ayant une implication significative dans la mise en place du processus de cancérisation sont les oncogènes, les anti-oncogènes, les gènes du métabolisme des xénobiotiques et les gènes de réparation de l'ADN. S'agissant de ces derniers, de nombreuses études épidémiologiques ont souligné l'association existant entre les polymorphismes de nombreux d'entre eux, et la survenue du CCR. C'est dans l'optique d'une contribution modeste à ces études que nous avons envisagé cette présente œuvre ; de plus, celle-ci représente la première étude entreprise sur ces gènes en rapport avec le risque de survenue du CCR en Algérie.

De ce fait, ce présent travail consistera à explorer des polymorphismes de type SNP de certains gènes impliqués dans la réparation de l'ADN : le SNP c.1196G>A du gène *XRCC1* (p.Arg399Gln, [rs25487](#)), le SNP c.722C>T du gène *XRCC3* (p.Thr241Met, [rs861539](#)), le SNP c.354C>T du gène *ERCC1* (p.Asn118=, [rs11615](#)) et le SNP c.2251A >C du gène *ERCC2* (p.Lys751Gln, [rs13181](#)), dans une population comprenant des malades atteints de CCR et des sujets sains tous originaires de l'Ouest Algérien. L'étude de l'implication de ces gènes dans la survenue du CCR, réalisée dans des populations d'origine ethniques différentes à travers le monde, a montré des résultats parfois contradictoires quant à l'association ou non de ces polymorphismes avec le risque de CCR ; il est donc plausible d'envisager que des associations de ces SNP avec le CCR puissent caractériser notre population d'où la nécessité de mener cette étude dans notre contexte. Une partie des résultats obtenus a fait l'objet d'un article publié dans la revue *Medical oncology* (Moghtit et al, 2014).

Dans la revue bibliographique de ce manuscrit, nous rappellerons tout d'abord quelques généralités sur l'épidémiologie génétique. Puis, nous évoquerons les données essentielles sur le CCR : ses données épidémiologies, sa description clinique et son étiologie. Après, nous décrirons les différents mécanismes moléculaires impliqués dans la cancérogénèse colorectale, à la suite de quoi seront passées en revue les thérapies envisagées dans le traitement de cette maladie. Et pour finir, nous aborderons les différents systèmes de réparations de l'ADN et les différents gènes explorés dans ce travail.

La partie expérimentale consistera à évaluer la distribution des fréquences alléliques, génotypiques et haplotypiques des polymorphismes des gènes du système de réparation de l'ADN suscités et d'estimer l'impact de ces derniers sur le risque de la survenue du CCR dans l'Ouest Algérien. L'ensemble des observations sera ensuite discuté au regard des connaissances actuelles et nos conclusions mettront en évidence les perspectives de recherche à envisager à l'avenir.

*Revue
bibliographique*



I

Introduction à l'épidémiologie génétique

L'épidémiologie est la science qui étudie la fréquence et la répartition des maladies dans le temps et dans l'espace au sein des populations humaines, ainsi que le rôle des facteurs qui les déterminent (Goldberg, 1991). Les études épidémiologiques se divisent en deux grandes catégories: l'épidémiologie descriptive, dont l'objectif est d'estimer la fréquence d'une pathologie au sein d'une population, et l'épidémiologie analytique qui consiste à rechercher les facteurs de risque d'une pathologie au sein d'une population, et éventuellement de quantifier une relation entre le niveau d'exposition à ces facteurs de risque et la fréquence de la pathologie.

On sait aujourd'hui que la majorité des maladies sont multifactorielles car des facteurs génétiques et environnementaux agissent conjointement dans leur survenue. Un des enjeux actuels de la recherche est d'identifier les facteurs de risque génétiques impliqués dans ces pathologies. En effet, c'est l'épidémiologie génétique qui s'intéresse à la description et la compréhension de ces facteurs génétiques. Elle repose sur le développement de méthodes statistiques qui intègrent, principalement, les marqueurs génétiques. En conséquence, cette discipline évolue en parallèle avec les progrès des techniques de biologie moléculaire. Dans ce chapitre, les principes de base de l'épidémiologie génétiques seront décrits.

1- Notions générales

1-1- Maladies multifactorielles

Par définition, les maladies multifactorielles sont des pathologies dont l'apparition et l'expression sont contrôlées par un ensemble complexe de facteurs (Jeanpierre et al, 2004). Elles présentent à la fois une composante génétique et environnementale et résultent généralement d'interactions entre ces deux facteurs. Leur développement est facilité par la présence simultanée de nombreux allèles de prédisposition ayant un impact individuel modéré (Lander & Schork, 1994). Ces maladies sont généralement des maladies fréquentes (maladies cardiovasculaires, diabète, maladies auto-immunes, cancer,.. etc).



1-2- Notion de facteur de risque

Un facteur de risque est une variable qui augmente ou diminue la probabilité de survenue d'une maladie dans une population (Goldberg, 1991). Il peut être défini comme un état physiologique (âge, sexe, hérédité), un état pathologique (hypertension artérielle, diabète, hypercholestérolémie) ou une habitude de vie (tabac, alimentation, sédentarité). Un facteur de risque contribue à développer une maladie mais sa présence ne génère pas systématiquement la maladie. La probabilité d'apparition de la maladie est plus grande chez les sujets exposés au facteur de risque que chez les sujets non exposés.

1-3- Diversité génétique et polymorphisme

Le génome de l'espèce humaine fut considéré pendant longtemps comme le plus complexe du monde vivant. Des variations fréquentes dans la séquence nucléotidique sont rencontrées tout au long du génome et sont responsables de la grande diversité de l'espèce humaine: ce sont les polymorphismes génétiques. Un polymorphisme génétique est le produit d'un événement de mutation transmissible d'une génération à l'autre de manière mendélienne et détectable chez au moins 1% des individus d'une population (Feuk et al, 2006). Ces variations sont liées à l'existence de différentes versions d'un gène qui sont appelées « allèles ». Le séquençage du génome humain a permis d'avoir une vision globale sur l'organisation du génome et l'identification initiale d'environ 3 millions de différences nucléotidiques (Lander et al, 2001; Venter et al, 2001).

Les polymorphismes génétiques sont le support de variations phénotypiques mineures mais peuvent aussi expliquer les différences entre les individus dans la prédisposition héréditaire à certaines pathologies ou la sensibilité à certains médicaments. La variabilité génétique peut être présente sous multiples formes, incluant les séquences répétées en tandem, les insertions/délétions, les variations du nombre de copies et les polymorphismes mono-nucléotidiques (Frazer et al, 2009; Robert, 2010).

1-3-1- Séquences répétées en tandem

L'ADN humain est constitué d'environ 50% de séquences nucléotidiques répétées disposées en tandem (VNTR) « *Variable Number of Tandem Repeat* » dans le génome. Les séquences répétées correspondent à la répétition d'un motif unitaire de nombre variable et elles sont de taille également variable. Selon la taille du motif et le nombre de la répétition, on distingue :



- **ADN satellites** : Ils sont constitués de grands motifs (de 150 à 350 paires de bases « pb ») répétés plusieurs fois (de l'ordre de 500 000 à 1 000 000) (Csink & Henikoff, 1998).
- **ADN minisatellites** : Ce sont des motifs de quelques dizaines de nucléotides répétés jusqu'à quelques centaines de fois pour une taille totale entre 1 et 5 kilobase « kb » (Jarman & Wells, 1989). Les minisatellites sont hypervariables tant du point de vue du nombre de répétitions que de la taille des unités répétées, une telle variabilité permet de les utiliser pour réaliser les empreintes d'ADN spécifiques d'individu.
- **ADN microsatellites (STR)** : Les STR « *Short Tandem Repeats* » sont constitués de motifs de 1 à 5 nucléotides répétées de 2 à 50 fois associés en tandem 10 à 50 fois pour une taille totale inférieure à 300 pb (Karlin & Burge, 1995; Pryde et al, 1997). Les dinucléotides sont les plus nombreux dans le génome.

1-3-2- Insertions/délétions (Indel)

Elles correspondent à une insertion ou une délétion d'un ou plusieurs nucléotides. Les indels, bien que susceptibles de se produire tout le long du génome, sont particulièrement fréquentes dans les séquences répétées. Elles s'étendent de 1pb à 1kb. En général, lorsqu'elles sont présentes dans la séquence codante, elles entraînent un décalage du cadre de lecture entraînant la synthèse d'une protéine totalement différente de l'originale.

1-3-3- Variations du nombre de copies

Les variations du nombre de copies, ou plus communément appelées CNV « *Copy Number Variations* », se définissent comme étant des séquences supérieures à 1kb et qui sont présentes en un nombre variable de copies dans le génome. Contrairement aux satellites, elles ne sont pas répétées en tandem mais elles sont dispersées dans tout le génome. Les CNV sont issus d'évènements d'insertion, de délétion ou de duplication, et peuvent influencer sur le niveau d'expression des gènes (Feuk et al, 2006; Freeman et al, 2006).

Cette forme de polymorphisme découverte récemment connaît un intérêt croissant et ouvre de nouvelles perspectives dans la recherche de prédisposition ou de susceptibilité à des maladies.



1-3-4- Polymorphismes nucléotidiques simples

Les polymorphismes nucléotidiques simples, appelés SNP, correspondent à des variations à l'échelle nucléotidique. Ils constituent la plus petite forme de polymorphisme car ils n'affectent qu'une seule paire de bases et le type le plus commun de variation génétique intervenant dans la variabilité interindividuelle. Les SNP ont des fonctions potentielles qui perturbent l'information génétique et peuvent entraîner des modifications de la structure, de l'expression, de la stabilité et de l'activité de la protéine codée. Ils sont distribués uniformément dans tout le génome et surviennent tous les mille paires de bases (Bentley, 2000; Brookes, 1999; Frazer et al, 2009).

Le séquençage du génome humain et les progrès des techniques de biologie moléculaire ont permis de répertorier plus de 10 millions de SNP dans des bases de données publiques, notamment la banque de données dbSNP [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>] géré par NCBI « *National Center of Biotechnology Information* » (Sherry et al, 2001) et celle du projet « HapMap » [<http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/>]. Le projet HapMap (2003) a pour objectif de créer une base de données publique détaillée des variations génétiques les plus fréquentes chez l'humain. Il a permis d'établir un catalogue des SNP chez les individus provenant d'Afrique, d'Europe et d'Asie. Plus récemment, le projet « 1000 génomes » [<http://www.1000genomes.org/>] (Abecasis et al, 2010), basé sur un séquençage de nouvelle génération, ont apporté une contribution énorme à l'identification et la caractérisation des SNP pour les populations du monde entier. C'est ainsi que ces ressources bioinformatiques constituent un outil précieux pour la recherche en génétique. En fait, chaque SNP est référencé par un numéro « rs : Reference SNP ». Un SNP se caractérise également par la fréquence de ses deux allèles dans une population donnée. Ces fréquences s'estiment à partir des génotypes observés chez des individus non apparentés, et leur précision dépend de la taille de l'échantillon. La fréquence de l'allèle le plus rare, ou mineur, est appelée MAF « *Minor Allele Frequency* ». Le travail mené au cours de cette thèse s'est focalisé sur ce type de marqueur.

1-4- Haplotype et déséquilibre de liaison

Un haplotype est une combinaison allélique de plusieurs marqueurs polymorphes sur un même chromosome à différents loci. L'ensemble de ces allèles sont localisés à une distance très proche et ségrégent en bloc comme un seul marqueur. Au sein d'un même bloc, la probabilité de recombinaison est très faible, ce qui traduit la présence d'un déséquilibre de liaison (LD) « *Linkage of Disequilibrium* ». Ce terme a été proposé en 1960 par Lewontin et



Kojim (Lewontin & Kojima, 1960). En effet, le déséquilibre de liaison est inversement proportionnel à la probabilité de recombinaison entre les marqueurs polymorphes et donc à leur éloignement physique sur un même chromosome (Gabriel et al, 2002). Le concept d'haplotype revêt une importance capitale dans le domaine de la génétique. Il permet de mieux étudier le comportement des SNP entre eux. De plus, ils permettent de renseigner les variabilités d'origine génétique des populations humaines.

2- Epidémiologie génétique

2-1- Définition

L'épidémiologie génétique est une branche de l'épidémiologie qui consiste à analyser la contribution des facteurs de risque génétiques et leurs interactions avec les facteurs de risque environnementaux dans la survenue des pathologies. Les études d'épidémiologie génétique constituent aujourd'hui un nouvel outil dans l'étude des maladies multifactorielles. Cette discipline hybride a pour objectif d'identifier de nouveaux gènes et des interactions gènes-environnement impliqués dans ces pathologies ce qui va permettre de mieux comprendre les mécanismes moléculaires et physiopathologiques. De plus, elle peut contribuer à prédire le risque pour mieux prévenir. Différentes stratégies d'analyse ont été développées pour mettre en évidence les facteurs génétiques intervenant dans la susceptibilité d'une maladie.

2-2- Types d'études

Les facteurs de risque génétiques sont principalement recherchés par deux types d'enquêtes épidémiologiques d'observation: les études prospectives, ou de cohorte, et les études rétrospectives, ou cas/témoins.

2-2-1- Enquête de cohorte

Le terme de cohorte est utilisé pour désigner un groupe de sujet ayant une caractéristique commune. En épidémiologie génétique, l'évaluation de l'interaction gène-environnement requiert des enquêtes de cohortes. Dans une étude de cohorte, des sujets malades porteurs d'un marqueur génétique sont répartis en groupes en fonction de leur exposition à un éventuel facteur étiologique de la maladie. L'ensemble de la cohorte est suivi au cours du temps, afin de comparer l'incidence de la maladie entre les individus exposés et non exposés (Bouyer, 2009). Dans ce type d'enquête, le facteur d'exposition est dit contrôlé alors que la maladie est le facteur aléatoire.



2-2-2- Enquête cas/témoins

En épidémiologie génétique, une étude cas/témoins cherche à déceler une différence de distribution des fréquences des variants génétiques entre une population de cas, constituée d'individus diagnostiqués avec la maladie d'intérêt, et une population de sujets indemnes de cette maladie (témoins) sélectionnés dans la population dont sont issus les cas (Bouyer, 2009).

2-3- Méthodes d'analyse

Deux approches principales peuvent être menées en épidémiologie génétique pour établir un lien entre les variations génétiques et le risque de développer une maladie : les études de liaison et les études d'association.

2-3-1- Analyse de liaison génétique

Les études de liaison sont les premières études à avoir vu le jour. Ce type d'étude consiste à rechercher dans les familles la présence d'une co-ségrégation entre la maladie et les marqueurs génétiques polymorphes distribués tout le long du génome. Cette co-transmission traduit une liaison génétique permettant d'impliquer une région particulière du génome dans le déterminisme de la maladie. En d'autres termes, cette analyse vise à localiser un ou des gènes de susceptibilité à la maladie. En revanche, cette approche est limitée et moins puissante pour la détection des facteurs génétiques impliqués dans les maladies complexes où des effets familiaux sont moins évidents: ces pathologies ne touchent pas nécessairement plusieurs membres d'une même famille et les gènes prédisposant interagissent entre eux et avec l'environnement.

2-3-2- Etude d'association

Les études d'association cherchent à identifier le ou les variants génétiques dont les différentes formes alléliques pourraient jouer un rôle dans la survenue d'une maladie multifactorielle. Le principe consiste à comparer la distribution des allèles ou des génotypes de marqueurs génétiques chez des individus malades et témoins d'une population de sujets non apparentés. Plus la répartition est différente, plus le variant est susceptible d'être impliqué dans la maladie étudiée. Si un allèle est significativement plus fréquent dans la population des cas, on parlera d'effet délétère de cet allèle; dans le cas contraire on parlera d'effet protecteur. Deux méthodologies majeures existent pour l'identification des gènes de prédisposition aux maladies multifactorielles : l'approche « gène candidat » et l'approche « génome candidat ».



2-3-2-1- Approche gène candidat

Cette stratégie consiste à sélectionner un ensemble de variants génétiques dans des gènes dont les fonctions pourraient intervenir dans l'étiologie de la pathologie étudiée. Cette approche est fondée sur des propriétés particulières du produit du gène candidat, évocatrices de son implication dans la pathogénie (Tabor et al, 2002). Elle nécessite donc une bonne connaissance de la physiopathologie de la maladie et des mécanismes moléculaires associés.

2-3-2-2- Approche génome candidat

L'ère des études d'association a pris de l'importance sur les analyses de liaison à la fin des années 1990 avec la publication de Risch et Merikangas (Risch & Merikangas, 1996). Ces auteurs ont suggéré que l'avenir des études génétiques des traits complexes serait l'analyse d'association systématique tout au long du génome. L'étude d'association génome entier (GWAS) « *Genome Wide Association Study* » consiste à rechercher des polymorphismes génétiques prédisposant au développement d'une maladie en balayant l'ensemble du génome afin d'identifier un locus de prédisposition. L'objectif n'est plus de confirmer l'implication d'un gène connu dans une maladie mais de trouver de nouveaux gènes de prédisposition à la maladie sans aucune hypothèse à priori (McCarthy et al, 2008; Zhu & Zhao, 2007). L'avancement des technologies de génotypage et la mise en place du projet HapMap a permis d'effectuer des études d'associations pan-génomiques à grande échelle à l'aide des puces commerciales. A ce jour, des centaines d'études d'association pangénomiques ont été réalisées dans plus de 80 maladies et traits. Les études publiées sont répertoriées dans un catalogue en ligne mis à jour en continu : [<http://www.genome.gov/gwastudies/>].

Dans le cadre du présent projet de recherche, nous proposons de faire une analyse d'association de type cas/témoin dans la population de l'Ouest Algérien pour évaluer l'impact des polymorphismes des gènes de réparation de l'ADN sur le risque de survenue du cancer colorectal.



II

Généralités sur le cancer colorectal

Le gros intestin est la partie terminale du tractus gastro-intestinal. Il se compose de trois segments: le cæcum, le côlon et le rectum (Figure 01). Le côlon se dispose en cadre dans la cavité abdominale et mesure environ 1,5 mètre avec un diamètre initial de 8 centimètre. C'est dans le côlon que se produit l'ultime digestion des nutriments notamment grâce à la microflore colique. L'épithélium colique est un système dynamique en constant équilibre, doté de capacités de prolifération et de différenciation lui permettant d'assurer ses fonctions physiologiques d'absorption d'eau et d'ions, et de sécrétion de mucus.

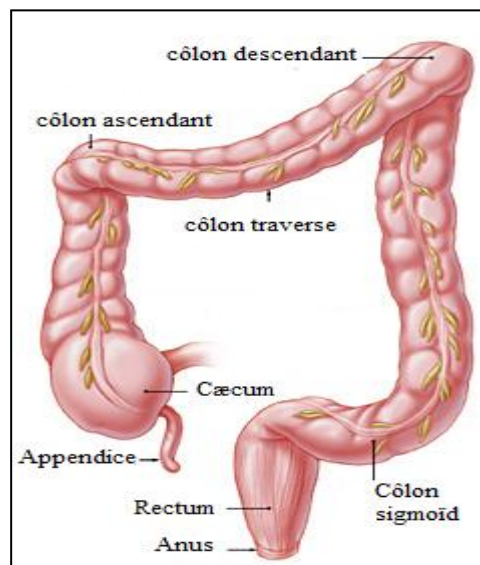


Figure 01 : Les différentes parties du gros intestin. Adaptée du site :

[\[http://www.colorectal-cancer.ca/fr\]](http://www.colorectal-cancer.ca/fr) (Association canadienne du cancer colorectal)

De part ses caractéristiques, l'épithélium colique est particulièrement vulnérable aux agressions extérieures qui engendrent des hyperproliférations cellulaires pouvant évoluer vers le cancer. Les tumeurs malignes du côlon se développent dans la plupart des cas dans la partie terminale du côlon ou le rectum constituant ainsi les cancers colorectaux.

Dans ce chapitre, nous rappellerons les généralités sur le CCR et nous aborderons ses aspects moléculaires du développement.



1- Données épidémiologiques

Le CCR est une préoccupation majeure de santé publique dans le monde. Il occupe le troisième rang à l'échelle mondiale chez les deux sexes confondus et il représente 8,9% de toutes les tumeurs malignes. Selon un rapport du Globocan 2012, une base du centre international de recherche sur le cancer « CIRC », son incidence annuelle est de 1,2 millions de nouveaux cas et la mortalité a atteint 608 700 cas/an (Ferlay et al, 2012).

L'incidence du CCR varie considérablement entre les pays selon la région géographique, elle est très élevée dans les pays industrialisés (Australie, Nouvelle-Zélande, Amérique du Nord, Europe de l'Est, l'Europe centrale et de façon récente le Japon) contrairement aux pays moins développés comme les pays africains, les pays d'Amérique du Sud et les pays d'Amérique centrale où ce cancer est moins fréquent (Center et al, 2009). Ceci a permis de définir le CCR comme étant le cancer des pays riches.

Dans les pays industrialisés, le CCR représente 12,6% de tous les cancers chez l'homme et 14,1% chez la femme. Les taux de mortalité les plus élevés dans les deux sexes sont estimés dans la région d'Europe à 75 et 51 décès pour 100 000 chez les hommes et les femmes, respectivement. Aux États-Unis (Amérique du Nord), le CCR occupe le troisième rang de tous les cancers avec un taux de 9.5% et représente la deuxième cause de décès chez les deux sexes (Ferlay et al, 2012).

Dans les pays moins développés, il représente 7,7 et 7,9% de tous les cancers chez l'homme et chez la femme respectivement. Les taux les plus bas sont estimés en Afrique centrale (10 et 9 cas pour 100 000 représenté respectivement chez l'homme et chez la femme). En Égypte, le CCR représente 6,5% de tous les cancers (El-Bolkainy et al, 2006). En Tunisie, l'incidence standardisée est de 6,5/100 000 habitants par an chez l'homme et de 6,1/100 000 chez la femme (Gharbi et al, 2010).

En Algérie, l'incidence du CCR est en augmentation constante ces dernières années avec un taux de mortalité de 10%, ce qui le rapproche progressivement des chiffres occidentaux (Meddah et al, 2009). Il représente par sa fréquence, la 3^{ème} pathologie cancéreuse après celui du sein et du col utérin chez la femme, et après celui du poumon et de la vessie chez l'homme (Ferlay et al, 2012).

Le taux d'incidence du CCR basé sur les données des registres du cancer dans les pays les moins développés du monde peut encore s'élever en 2030, si ces pays poursuivent leurs tendances vers un mode de vie plus occidental, avec une augmentation de l'obésité ainsi que d'autres facteurs comme l'inactivité physique, le tabagisme et la consommation d'alcool.



La fréquence d'apparition de ce type de cancer augmente avec l'âge et son incidence double ensuite à chaque décennie. En effet, il est rare avant 50 ans, mais au delà son incidence augmente très rapidement. L'incidence maximale se situe entre 50 et 70 ans avec un âge moyen de diagnostic d'environ 70 ans (Faivre, 2001).

2- Aspect anatomopathologique et prise en charge des cancers colorectaux

2-1 - Carcinogénèse colique

Le côlon présente sur sa paroi colique quatre couches: la muqueuse, la sous-muqueuse, la musculuse et la séreuse (Figure 02). La muqueuse est composée d'un épithélium monostratifié qui pénètre à l'intérieur des cryptes qui sont nombreuses et régulièrement espacées (Phillips et al, 1991).

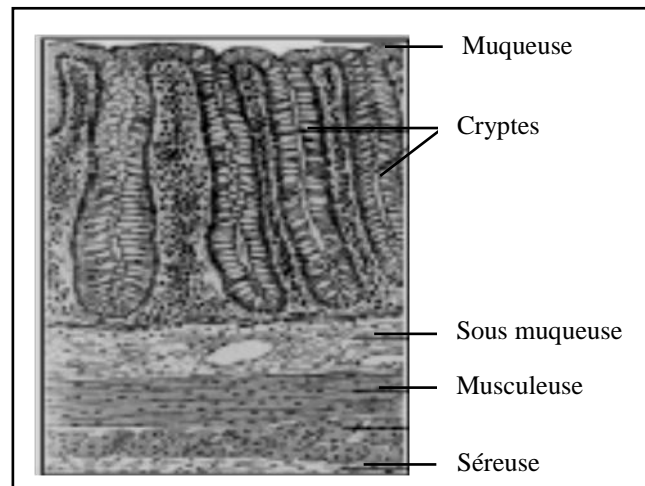


Figure 02 : La structure histologique du côlon normal. Tirée de (Morère & Rainfray, 2001)

Le CCR est un adénocarcinome glandulaire qui se développe au niveau de la muqueuse colique. Le processus de carcinogénèse s'étend sur plusieurs années et donne lieu à une transformation cellulaire passant d'un aspect normal à un aspect néoplasique (Cadi, 2010).

Lors de la cancérogénèse colique, une hyper prolifération de l'épithélium colique apparaît au niveau des cryptes. Les cellules des cryptes aberrantes s'accumulent au-dessus de la muqueuse ce qui aboutit à la formation d'un polype adénomateux, macroscopiquement visible (Goldman & Masson, 2013). Le franchissement et l'infiltration des différentes couches de la paroi du côlon ou du rectum définit l'étape de la transformation adénocarcinomateuse (Figure 03).

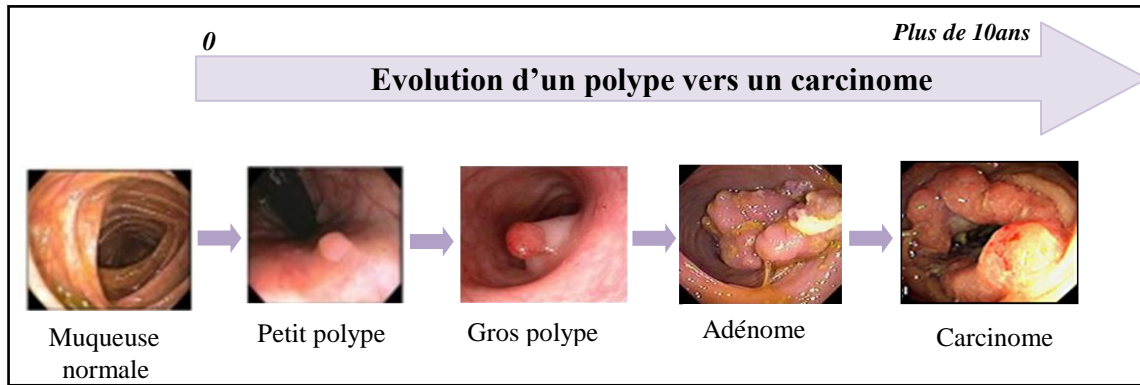


Figure 03 : Evolution du cancer colorectal dans le temps.

2-2 - Eléments d'anatomopathologie

Les facteurs pronostiques comme notamment le degré d'envahissement tumoral trans pariétal et ganglionnaire et la présence ou non de métastases ont été intégrés dans des classifications. La classification TNM « *Tumor Node Metastasis* », de l'union internationale contre le cancer (UICC), est le système international actuel de référence qui classe les cancers selon leur extension anatomique. Elle a été proposée initialement par le chirurgien français Pierre Denoix (Denoix, 1946) et elle est continuellement mise à jour. La dernière édition est celle de 2010 (Scoazec & Sabourin, 2010) (Tableau I). Dans son principe, cette classification considère seulement les données cliniques et ne s'applique qu'à des cancers qui n'ont pas encore été traités.

Tableau I : Classification TNM des CCR.

Stade	Signification
Tumeur primitive (T)	
Tis	Carcinome <i>in situ</i>
T1	La tumeur envahit la sous muqueuse
T2	La tumeur envahit la musculuse
T3	La tumeur envahit la sous séreuse
T4	La tumeur perfore le péritoine viscéral et/ou envahit les organes voisins
Tx	Renseignements insuffisants pour classer la tumeur primitive
Ganglions régionaux (N)	
N0	Pas de métastase ganglionnaire
N1	Atteinte de 1 à 3 ganglions lymphatiques régionaux
N2	Atteinte de 4 ou plus ganglions lymphatiques régionaux
Nx	Ganglions non évalués
Métastases (M)	
M0	Absence de métastase
M1	Métastases à distance
Mx	Statut métastatique inconnu



La lettre **T** symbolise la tumeur initiale, et la profondeur des tissus envahis. Elle est affectée d'un coefficient : de T0 (quand la lésion primitive n'est pas retrouvée) à T4 pour les tumeurs les plus étendues. Cette cotation dépend du volume tumoral, représenté par le diamètre maximum de la lésion, et de l'extension aux organes voisins (peau, vaisseaux, nerfs, os, etc.). La lettre **N**, de N0 à N3, dépend du territoire ganglionnaire, plus ou moins proche de la tumeur, de l'importance des adénopathies, du nombre de ganglions envahis. La lettre **M** est cotée M0 en l'absence de métastases connues ou M1 en leur présence, quel que soit leur siège, unique ou multiple. Ces différentes informations permettent de classer les cancers du côlon en cinq stades (Compton et al, 2000) (Figure 04) :

- **Stade 0** – Tis, N0, M0 : le cancer est localisé dans la paroi interne du côlon ou du rectum.
- **Stade I** – T1, T2, N0, M0 : le cancer s'est propagé de la paroi interne aux couches intermédiaires de la membrane du côlon ou du rectum.
- **Stade II** – T3, T4, N0, M0 : le cancer s'est propagé au-delà du côlon ou du rectum jusqu'aux tissus environnants.
- **Stade III** – Tous les stades T, N1, N2, M0 : le cancer s'est propagé au-delà du côlon ou du rectum jusqu'aux ganglions lymphatiques environnants.
- **Stade IV**- Tous les stades T et N, M1 : le cancer s'est propagé au-delà du côlon ou du rectum dans une autre partie du corps.

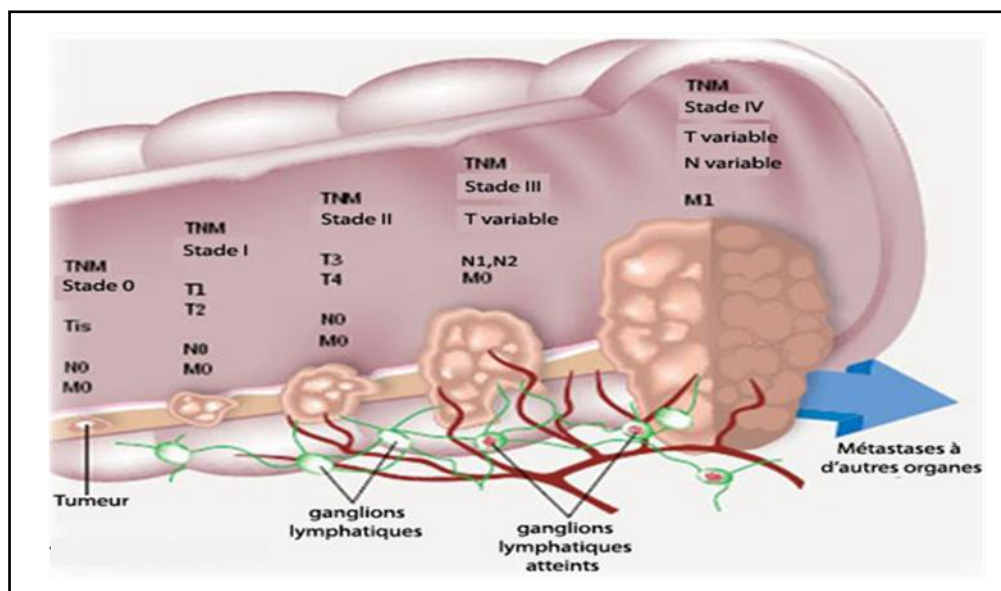


Figure 04 : Représentation schématique des différents stades du cancer colorectal. Tirée du site : <http://www.colorectal-cancer.ca/fr> (Association canadienne du cancer colorectal).



2-3 -Traitement

Plusieurs techniques sont employées dans le traitement du CCR telles que : la chirurgie, qui est toujours pratiquée pour retirer la tumeur primaire, la radiothérapie, la chimiothérapie et depuis de récentes années les thérapies ciblées.

Les données cliniques et l'histoire du patient permettent de décider des meilleures options thérapeutiques. Le choix du traitement va dépendre de la localisation du cancer et de son étendue.

2-3-1- Chirurgie

La chirurgie est le traitement de première intention 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. La possibilité de rétablir la continuité de l'intestin dépend de la localisation et de l'extension de la tumeur (Piard & Monges., 1998).

2-3-2- Chimiothérapie

La chimiothérapie, quant à elle, est utilisée pour prévenir ou traiter les cancers métastatiques. Cette thérapie consiste à administrer au malade un médicament cytotoxique ciblant les cellules tumorales. C'est un traitement adjuvant effectué en plus de l'opération chirurgicale pour diminuer les risques de récurrence et améliorer la survie, en éliminant les cellules cancéreuses résiduelles que l'examen clinique n'aurait pu détecter. La chimiothérapie est principalement utilisée dans les stades avancés avec présence de métastases. Ce traitement, quand il est efficace, peut éliminer les métastases ou empêcher leur apparition et/ou diminuer la taille des tumeurs ou ralentir leur croissance (Jean-Charles et al, 2012). Quand la chirurgie est impossible, le traitement est palliatif où peut diminuer la taille de la tumeur et permettre l'opération (néo-adjuvant).

Actuellement les protocoles de chimiothérapie font appel à trois médicaments anticancéreux :

- **5-Fluorouracile (5-FU)** : C'est la molécule de référence en cancérologie intestinale. Il s'agit d'un dérivé fluoré de l'uracile, synthétisé en 1957 par Heidelberger et al. (Duschinsky et al, 1957; Heidelberger et al, 1960). Le 5-FU est un antimétabolite actif qui inhibe la fonction de la thymidilate synthase. Celle-ci a pour fonction la méthylation d'une désoxyuridine monophosphate (dUMP) en désoxythymidine monophosphate (dTMP). Cette dernière étant une des quatre bases essentielles de



l'ADN, elle est indispensable à la synthèse de l'ADN. Les processus de réplication vont donc se retrouver bloqués au niveau de la cellule (Diasio & Harris, 1989; Pinedo & Peters, 1988; Santi et al, 1974).

- **L'Irinotécan** : C'est un dérivé de la camptothécine dont le métabolite actif est le SN38 (Kawato et al, 1991). Il s'agit d'un inhibiteur de la topoisomérase I, enzyme indispensable à la relaxation de l'hélice d'ADN lors des processus de transcription et réplication. Il exerce son effet cytotoxique en formant un complexe ternaire avec la topoisomérase I et l'ADN, ce qui va entraîner des cassures double brins après rencontre avec la fourche de réplication.
- **L'oxaliplatine** : C'est la première molécule à base de platine ayant une activité clinique contre le CCR (Soulie et al, 1997). Elle possède une action alkylante inhibant la synthèse et la réplication de l'ADN par formation de ponts intrabrans entre deux guanines adjacentes. L'oxaliplatine forme des adduits de platine sur l'ADN, créant des lésions et induisant l'apoptose de la cellule (Raymond et al, 2002; Raymond et al, 1998).

2-3-3- Radiothérapie

La radiothérapie (connue également sous les noms radiation, thérapie par rayons X ou irradiation) fait appel à l'administration de rayons à puissance énergétique élevée pour détruire les cellules cancéreuses. Les rayons sont orientés très précisément sur la tumeur afin d'éviter d'endommager les autres parties du corps. Ils agissent de manière directe ou indirecte sur l'ADN (Morère et al, 2011). La radiothérapie sert souvent de complément au traitement chirurgical du cancer rectal pour éliminer le risque de cellules cancéreuses résiduelles et augmenter la survie globale des patients. Elle n'a en aucun cas une visée curative dans le traitement des CCR.

2-3-4- Thérapie ciblée

Plus récemment, devant l'échec relatif des traitements classiques, une nouvelle stratégie thérapeutique a été envisagée: la thérapie ciblée utilisant des anticorps monoclonaux ou des inhibiteurs enzymatiques (Finley, 2003). A la différence de la chimiothérapie, le concept des thérapies ciblées repose sur une connaissance approfondie des mécanismes moléculaires impliqués dans la cancérogenèse. D'une manière générale, ces nouvelles thérapeutiques sont des médicaments qui utilisent trois stratégies différentes: bloquer les



ligands des récepteurs membranaires, bloquer les récepteurs membranaires ou empêcher l'activation des voies de signalisation induites par les récepteurs à activité tyrosine kinase.

Actuellement, deux médicaments spécifiques sont utilisés dans le traitement du CCR en phase métastatique :

- **Le bevacizumab** (Avastin®), dirigé contre le VEGF « *Vascular Endothelial Growth Factor* », est un médicament qui bloque la néo-vascularisation empêchant l'augmentation de l'apport sanguin à la tumeur, donc son développement (Ferrara et al, 2004).
- **Le cetuximab** (Erbix®) est un autre anticorps monoclonal qui bloque l'action du récepteur à l'EGF « *Epidermal Growth Factor* » des cellules cancéreuses et améliore significativement le pronostic de certains cancers du côlon (Ciardiello & Tortora, 2001).

Le traitement par thérapie ciblée repose sur l'identification préalable des altérations moléculaires chez les patients susceptibles de bénéficier de ces traitements. En fait, la caractérisation moléculaire de la tumeur est devenue un élément déterminant dans le choix de la stratégie thérapeutique qui ne repose plus seulement sur le type et le stade de la maladie. En Algérie, les médicaments de la thérapie ciblée sont utilisés d'une manière anarchique à cause du manque des plateformes de biologie moléculaire pour réaliser les tests d'identifications des mutations génétiques. De même, ils restent moins prescrits à cause de leur coût très élevé.

3- Classification des cancers colorectaux

Les CCR se divisent en deux grandes catégories : les cancers héréditaires et les cancers sporadiques, qui représentent, respectivement, 5 à 10% et 80 à 90% de l'ensemble des cancers colorectaux.

3-1- Cancers colorectaux héréditaires

Les principaux syndromes de prédisposition au CCR sont : la polypose adénomateuse familiale (PAF) ou FAP « *Familial Adenomatous Polyposis* » et le syndrome de Lynch ou syndrome HNPCC « *Hereditary Non Polyposis Colorectal Cancer* »:



a- La polypose adénomateuse familiale

La polypose adénomateuse familiale (OMIM#175100) est une affection génétique rare qui se transmet selon le mode autosomique dominant (Gardner, 1951; Iida et al, 1988). Son incidence est estimée à 1/8 000 à 1/14 000 naissances (Jasperson et al, 2010). Elle représente près de 1% des CCR et se caractérise par l'apparition, surtout après la puberté, de multiples polypes adénomateux qui se développent le plus souvent dans la partie distale du côlon. Chez les patients non traités, ces polypes peuvent évoluer en CCR vers l'âge de 40 ans (Jarvinate, 1985).

L'altération génétique responsable de la PAF est une mutation qui survient dans le gène suppresseur de la tumeur *APC* « *Adenomatous Polyposis Coli* » situé sur le chromosome 5 (Grodén et al, 1991; Nagase et al, 1992). Le nombre de mutations différentes sur ce gène peut atteindre 300 menant toutes à l'expression d'une forme tronquée inactive de la protéine (Powell et al, 1992). Le rôle d'APC sera abordé dans la partie des voies de signalisation (5-2).

b- Le syndrome de Lynch

Le syndrome HNPCC (OMIM#120435) représente la forme la plus fréquente de CCR héréditaire et participe pour environ 5% de l'ensemble des CCR avec une incidence estimée à 1/5 000 naissances (Hampel et al, 2008; Jasperson et al, 2010). Le HNPCC représente la forme non polyposique de CCR, c'est une maladie génétique à transmission autosomique dominante (Lynch et al, 1991; Lynch & Lynch, 1979). La pathogenèse de ce cancer est caractérisée par la présence des mutations germinales au niveau des gènes impliqués dans la réparation des mésappariements de l'ADN ou MMR « *Mismatch Repair* » (Fishel et al, 1993; Manceau et al, 2011). Ces mutations conduiraient à une instabilité génétique menant à de multiples altérations de courtes séquences répétées de l'ADN, et à des mutations dans les oncogènes qui accélèrent la cancérogenèse.

En outre, il existe d'autres syndromes de prédisposition héréditaire au CCR qui sont moins fréquents comme le syndrome de Li-Fraumeni, le syndrome de Peutz- Jeghers (SPJ), le syndrome de Turcot, la polypose juvénile familiale (PJF), la polypose adénomateuse associée aux mutations de *MUTYH* (PAM) et le syndrome de Cowden (SC) (Lynch & Lynch, 1998; Weitz et al, 2005).



3-2- Cancers colorectaux sporadiques

Par opposition aux formes familiales, on définit les formes sporadiques qui représentent la majorité des CCR (soit 85% des cas). Cette catégorie de cancer est représentée par tous les CCR isolés pour lesquels il n'existe pas d'histoire familiale. Ils sont caractérisés par une apparition nettement plus tardive et sont peu fréquentes avant 50ans avec une augmentation sensible après 60ans (Weitz et al, 2005). Même si les cancers sporadiques représentent la plus grande proportion de tous les CCR, leur cause est beaucoup moins bien définie que celle des cancers familiaux. Ces formes sporadiques sont liées à une prédisposition génétique couplée à des facteurs environnementaux. Une description plus détaillée des gènes de susceptibilité du cancer colorectal sporadique sera discutée dans la section 5 (Génétique des cancers colorectaux).

4- Etiologie du cancer colorectal

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

4-1- Facteurs environnementaux

La responsabilité de l'environnement dans le développement des CCR est maintenant un fait établi. Les facteurs considérés comme les plus importants sont : les critères diététiques, l'obésité, l'alcoolisme, et le tabagisme.

4-1-1- Facteurs alimentaires

Il est aujourd'hui incontestable que l'alimentation joue un rôle dans l'apparition et l'évolution du CCR. De nombreux travaux ont suggéré que les régimes alimentaires riches en protéines animales (graisses et viandes), en acides gras saturés et pauvres en fibres végétales favoriseraient le CCR (Bingham et al, 2002; Fung et al, 2003). Ce type d'alimentation augmenterait la concentration intra colique en stérols et en acides biliaires secondaires qui stimuleraient la prolifération de l'épithélium colique. D'autres études ont montré que les sucres étaient un facteur de risque important de CCR (Bostick et al, 1994).

Inversement, la consommation de légumes verts, de fibres alimentaires, de fruits crus (qui possèdent des agents anticancéreux : glucosinolates et flavonoïdes) ou de poissons serait associée à une diminution du risque de CCR (Miller et al, 2010). De même, les aliments riches en calcium, en vitamines (Vitamines A, C, D, E) et en folates ont un effet protecteur (Bonithon-Kopp et al, 2000).



4-1-2- Tabagisme et alcool

De nombreuses études ont mis l'accent sur l'association entre le tabagisme et l'augmentation du risque de tous les cancers dont le CCR (Giovannucci & Martinez, 1996).

Le tabac augmente le risque de formation d'adénomes. L'effet du tabac serait limité à la phase de genèse de l'adénome avec une relation dose-effet, les sujets ayant fumé plus de 40 paquets/année auront un risque multiplié par 4 par rapport aux non-fumeurs (Cross et al, 2014; Liang et al, 2009).

Par ailleurs, différentes études suggèrent que la consommation d'au moins 80 gramme d'alcool par semaine augmente le risque de développement des adénomes et favorise l'augmentation de leur taille (Fedirko et al, 2011).

4-1-3- Syndrome métabolique

L'obésité et le taux de cholestérol sont incriminés dans une étude canadienne comme facteurs de risque du CCR (Goy et al, 2008). Les patients souffrant de diabète ont un risque trois fois supérieur à la population générale de développer un CCR. En revanche, l'activité physique a montré un effet protecteur dans la survenue du CCR (Boutron-Ruault et al, 2001; Colditz et al, 1997).

4-2- Antécédents personnels

Les personnes présentant un adénome villositaire ou de plus de 1 cm de diamètre ont un risque de développer un CCR multiplié par 3,6 et par 6,6 si les adénomes sont multiples (Durand G, 1992; Hall et al, 1996). Ce risque est également plus élevé pour les personnes souffrant d'une maladie inflammatoire chronique de l'intestin telle que : La pancolite, la maladie de Crohn ou la rectocolite ulcéro-hémorragique (Bernstein & Rogers, 1996; Ekblom et al, 1990; Gillen et al, 1994; Palli et al, 2000).

Les femmes ayant un cancer de l'ovaire ou du col de l'utérus ont un risque de développer le CCR un peu plus élevé que celles de la population générale. Chez les femmes atteintes d'un cancer du sein diagnostiqué avant l'âge de 45 ans et évoluant depuis au moins 10 ans, le risque de CCR est multiplié par deux (Schoen et al, 1994).

4-3- Facteurs héréditaires et génétiques

En plus des facteurs environnementaux influençant le risque de survenue d'un CCR, des facteurs génétiques peuvent également être à l'origine de l'émergence de ce type de cancer, autant dans les cancers colorectaux héréditaires que dans les formes sporadiques.



Ainsi, le cancer colique peut survenir dans un contexte d'agrégation familiale, évoquant le rôle d'un facteur génétique. En effet, les sujets ayant un ou plusieurs parents du premier degré (pères, mères, frères, sœurs, enfants) atteints d'un CCR ont un risque d'être atteint de ce cancer plus élevé que ceux de la population générale (Carstensen et al, 1996). En fait, les deux affections héréditaires, précédemment décrites, la PAF et le HNPCC prédisposent fortement au risque du CCR. Par ailleurs, plusieurs polymorphismes génétiques ont été associés à un risque individuel accru de CCR et pourraient expliquer les importantes variations d'incidence.

5- Génétique des cancers colorectaux

L'étude des formes héréditaires de cancers du côlon a permis de mieux comprendre les mécanismes responsables du développement des CCR sporadiques. Il est maintenant reconnu que les CCR sporadiques progressent par étape depuis une hyperprolifération du tissu épithélial jusqu'à la formation d'un adénome invasif. Cette évolution est connue sous le nom de séquence « adénome-carcinome ». En effet, la bonne connaissance de l'évolution phénotypique des CCR a conduit Vogelstein et Fearon à proposer, pour la première fois en 1990, un modèle génétique de développement des CCR (Fearon & Vogelstein, 1990) (Figure 05). Ce modèle identifie les différents gènes dont les altérations se succèdent et s'accumulent dans un ordre chronologique déterminé en utilisant différentes voies de signalisation.

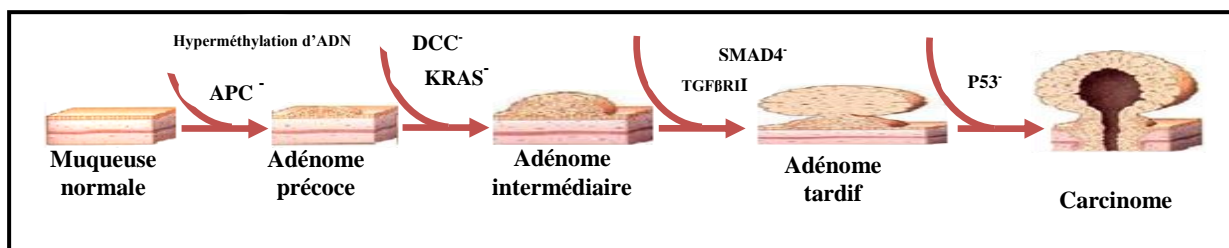


Figure 05 : Modèle génétique de la cancérogénèse colorectale selon Fearon et Vogelstein

A partir de l'épithélium vont se former des foyers de cryptes aberrantes. Certaines d'entre elles évolueront vers des adénomes et enfin des carcinomes. Le passage vers chaque stade est associé à des modifications génétiques.

5-1- Les mécanismes moléculaires de la cancérogénèse colorectale

Les récents progrès de la biologie moléculaire ont permis d'identifier les différentes altérations et mécanismes moléculaires à l'origine de la cancérogénèse colorectale. Les deux mécanismes moléculaires fondamentaux sont : L'instabilité chromosomique (CIN) « *Chromosomal instability* » et l'instabilité génétique (MSI) « *Microsatellite instability* » (Lengauer et al, 1998). Plus récemment, un troisième mécanisme d'instabilité a été identifié : l'hyperméthylation. Dans de nombreux cas ce sont d'autres gènes qui déterminent la



sensibilité au CCR. Ces gènes dits de prédisposition mineure sont des gènes de faible pénétrance.

5-1-1- Les différents types d'instabilité génétique

5-1-1-1- Instabilité microsatellitaire

En raison de la structure répétée des microsatellites, ceux-ci sont particulièrement disposés à des erreurs de réplication qui sont normalement réparées par le système de réparation des mésappariements de l'ADN (MMR). Ce système sera détaillé ultérieurement. La perte de l'une des fonctions des protéines du système MMR est responsable d'une déficience de la réparation conduisant à l'accumulation de mutations secondaires au niveau des séquences microsatellitaires, ce qui entraîne une instabilité génétique (Grady, 2004; Lamoril et al, 2006; Lengauer et al, 1998) . Les gènes mutés sont impliqués dans le système MMR ; il s'agit les gènes *MLH1* « *MutL Homolog 1* », *MSH2* « *MutS Homolog 2* », *MSH6* « *MutS Homolog 6* », *PMS1* « *Postmeiotic Segregation 1* » et *PMS2* « *Postmeiotic Segregation 2* » (Kinzler & Vogelstein, 1996; Laurent-Puig et al, 2010; Papadopoulos et al, 1994). Ces enzymes ont une grande importance dans le maintien du patrimoine génétique de la cellule épithéliale et par conséquent, dans le maintien de l'intégrité de l'épithélium colique. En effet, en cas de dommages à l'ADN, ces enzymes de réparation mutées ne peuvent assurer leur fonction de correction et les cellules deviennent alors capables d'acquérir des modifications génétiques supplémentaires qui les conduiront dans un processus irréversible et accéléré de cancérogenèse. Cette instabilité microsatellitaire confère aux cellules tumorales un phénotype dit MSI+ ou, anciennement, RER+ « *Replication Error* ». Ce mécanisme est présent dans 15 % des CCR sporadiques et dans le cas de syndrome de Lynch (Laurent-Puig et al, 2010).

5-1-1-2- Instabilité chromosomique

Ce mécanisme est caractérisé par des pertes récurrentes de certains segments chromosomiques traduisant ainsi la perte allélique ou la perte d'hétérozygotie (LOH) « *Loss of Heterozygosity* ». Les fragments chromosomiques les plus fréquemment perdus sont le bras court du chromosome 17 et le bras long des chromosomes 5 et 18. Des gènes impliqués dans le processus tumoral ont été identifiés sur ces fragments chromosomiques. Il s'agit essentiellement de gènes supresseurs de tumeur : le gène *APC* sur le chromosome 5, le gène *Tp53* « *Tumor protein 53* » sur le chromosome 17 et le gène *DCC* « *Deleted in Colorectal Carcinoma* » sur le chromosome 18 (Kern et al, 1989; Vogelstein et al, 1988).



Ce sont des gènes clés qui sont impliqués dans le contrôle de la croissance cellulaire, la différenciation cellulaire et l'apoptose. L'instabilité chromosomique intervient précocement dans la formation de la tumeur et en accélère la progression. Ce mécanisme est décelé dans la grande majorité des cas de CCR (PAF et 80% des cancers sporadiques). Dans ce type de cancer, les cellules tumorales présentent un contenu anormal en ADN (aneuploïdie) avec un phénotype CIN.

5-1-1-3- Instabilité épigénétique « Hyperméthylation »

La méthylation est l'ajout d'un groupement méthyl sur une base cytosine de l'ADN. C'est un phénomène de régulation transcriptionnelle importante dans la cellule. Plus récemment, des anomalies de la méthylation de l'ADN ont été mises en évidence dans les tumeurs colorectales (Issa, 2004). La caractéristique principale associée à ce groupe de CCR est l'hyperméthylation de la région promotrice de nombreux gènes. Ce dérèglement touche les cytosines des îlots CpG des régions régulatrices des gènes et entraîne leur inactivation transcriptionnelle aboutissant ainsi à l'abolition de leur expression. Dans le CCR, plusieurs gènes suppresseurs de tumeurs peuvent être inactivés à travers ce phénomène. Les tumeurs appartenant à ce groupe ont un phénotype appelé CIMP « *CpG island methylator phenotype* » (Cheng et al, 2008).

5-1-2- Gènes de prédisposition génétique

Les gènes considérés comme ayant une implication significative dans la mise en place du processus de cancérisation sont les oncogènes, les anti-oncogènes, les gènes du métabolisme des xénobiotiques et les gènes de réparation de l'ADN:

5-1-2-1- Oncogènes

Les oncogènes codent pour des protéines qui jouent un rôle dans la prolifération et la survie cellulaire et leurs expression est soumise à une régulation durant le cycle cellulaire. Ils sont exprimés de façon dérégulée lorsqu'ils subissent des altérations somatiques ou plus rarement constitutionnelles. Leur mode d'action est dominant car il suffit qu'un seul des deux allèles soit muté pour que leur action puisse s'exercer. Parmi ceux qui sont incriminés dans les CCR, les plus étudiés d'entre eux sont les oncogènes *Ras* « *Rat Sarcoma* » (Burns et al, 1993; Shirasawa et al, 1993) et *VEGFR* « *Vascular Endothelial Growth Factor Receptor* » (Ellis et al, 2000; Kuniyasu et al, 2000).



5-1-2-2- Anti-oncogènes

Les gènes suppresseurs de tumeurs au contraire des oncogènes, ont une action négative sur la prolifération cellulaire. Leur mode de fonctionnement est récessif au niveau cellulaire: c'est-à-dire que, pour que le cancer apparaisse, les deux allèles d'un même anti-oncogène doivent être inactivés pour qu'il perde sa fonction inhibitrice. Les gènes suppresseurs les plus souvent incriminés dans le CCR sont le gène *APC*, le gène *TP53* et le gène *DCC* (Baker et al, 1989; Ferron et al, 2005; Hamelin et al, 1994).

5-1-2-3- Gènes du métabolisme des xénobiotiques

Les xénobiotiques sont des molécules à faible poids moléculaire, étrangères à l'organisme dont font partie les médicaments, les polluants de l'eau ou de l'atmosphère, les additifs alimentaires et certains composés naturels des aliments. De nombreux xénobiotiques sont potentiellement carcinogènes et font l'objet d'une métabolisation dans l'organisme au cours de laquelle interviennent de nombreuses enzymes ; les représentants les plus importants de cette catégorie de gènes sont les gènes de la famille des *GST* « *Glutathion-S Transférases* », les gènes de la famille des *CYP* codants pour les *CYP450* « *Cytochromes P450* », le gène *MDR1* « *Multi Drug Resistance* », le gène *TS* « *Thymidylate Synthase* », le gène *DPYD* « *dihydropyrimidine dehydrogenase* » et le gène *UGT1A1* « *UDP glucuronosyltransferase 1 family* ». Plusieurs polymorphismes de ces gènes ont été largement étudiés par rapport à leur fonction dans la détoxification des xénobiotiques et leurs implications possibles dans la susceptibilité génétique à développer plusieurs cancers dont le CCR (Carreras & Santi, 1995; Hartmann et al, 2001; Watson et al, 1998).

5-1-2-4- Gènes de réparation de l'ADN

Les gènes de réparation de l'ADN jouent un rôle crucial dans la réparation de l'ADN endommagé afin d'éviter l'activation d'oncogènes ou l'inactivation des gènes suppresseurs de tumeurs au cours de la réplication cellulaire. Selon le type de lésion de l'ADN, il existe plusieurs mécanismes de réparation de l'ADN chez l'humain. Nous reviendrons plus en détail sur ces systèmes dans le chapitre suivant.

Au cours de ces dernières années, de nombreuses études ont mis en évidence le rôle du polymorphisme des gènes de la réparation de l'ADN dans la susceptibilité individuelle au risque de CCR. Parmi les polymorphismes les plus étudiés figurent ceux des gènes de la famille *XRCC* « *X-ray repair complementing defective repair in Chinese hamster cells* », de la famille *XP* « *Xeroderma Pigmentosum* » et la famille *ERCC* « *Excision repair cross*



complementation group » (Goode et al, 2002). La suite du manuscrit détaille plus les gènes : *XRCC1*, *XRCC3*, *ERCC1* et *ERCC2* car ils font l'objet de cette thèse.

5-2- Les voies moléculaires impliquées dans la transformation maligne

La description des altérations génétiques des CCR n'a de sens que si l'on identifie les voies de signalisation impliquées. Dans le cas du CCR quatre voies de signalisation sont fréquemment altérées : la voie Wingless site (Wnt), la voie Transforming Growth Factor β (TGF- β), la voie Ras et la voie p53.

5-2-1- La voie Wnt ou voie APC/ β caténine

La voie WNT est la voie de signalisation la plus importante dans le côlon. Elle est impliquée dans le développement de cet organe et pourrait jouer un rôle primordial dans la tumorigénèse colique (Gregorieff & Clevers, 2005) (Figure 06).

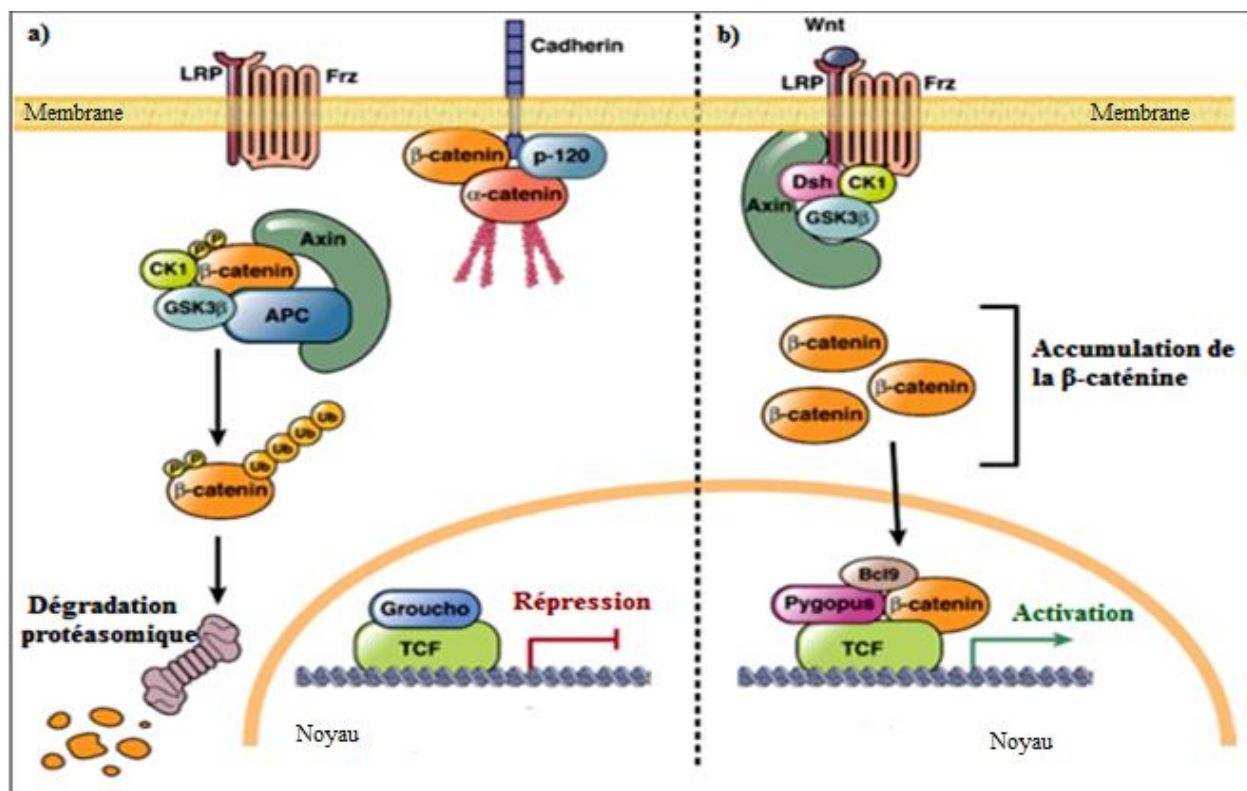


Figure 06 : Représentation schématique de la voie Wnt. Tirée de (Pino & Chung, 2010)

- a)-En absence du ligand Wnt : la β -caténine est complexée à l'axine. APC et GSK3 phosphorylent la β -caténine avant qu'elle soit dégradée par le protéasome.
- b)-En présence du ligand Wnt : la β -caténine est découplée de ce complexe et est transloquée dans le noyaux où elle va s'associer aux facteurs TCF-LEF pour activer la transcription génique.



Dans la cellule normale, en l'absence du ligand Wnt, la β -caténine est incluse dans un complexe protéique comprenant l'axine, l'APC et les kinases GSK3- β « *Glycogen Synthase Kinase 3 β* ». La β -caténine est phosphorylée par la GSK3- β et elle est prise en charge par le système protéolytique ubiquitine/protéasome, ce qui empêche son accumulation dans le cytoplasme des cellules. En revanche, l'activation des récepteurs Frizzled (Frz) par la fixation du ligand WNT conduit à la phosphorylation de la protéine Dishevelled (Dsh) qui par son association à l'axine, empêche la GSK3 β de phosphoryler la β -caténine et par conséquent sa dégradation par le protéasome. La β -caténine ainsi non dégradée, s'accumule dans le cytoplasme des cellules activées. Ensuite, elle sera transloquée dans le noyau où elle s'associe aux facteurs de transcription TCF/LEF « *T-cell factor/ Lymphoid enhancer factor* » qui vont moduler la transcription des gènes cibles impliqués dans le contrôle de la prolifération cellulaire et de l'apoptose (Polakis, 1999; Robert, 2011).

Dans la cellule tumorale, indépendamment de toute activation du récepteur Frz par le ligand WNT, c'est l'inactivation ou l'activation des gènes codant des protéines impliquées dans le complexe phosphorylant de la β -caténine qui bloque sa dégradation. Il s'agit le plus souvent d'une mutation inactivatrice du gène *APC* retrouvée dans 60% à 80% des cancers colorectaux. La très grande majorité de ces mutations conduit à une protéine tronquée qui n'est plus capable de dégrader la β -caténine; ces mutations aboutissent donc à une accumulation de β -caténine libre capable d'émettre un signal de prolifération continu (Korinek et al, 1997). Un des gènes cibles de la transcription induite par le complexe β -caténine-TCF/LEF est l'oncogène *c-MYC* « *cellular-Myelocytose* » qui a été trouvé surexprimé dans le CCR où il induit une prolifération des cellules épithéliales coliques migrant vers la surface des cryptes intestinales participant ainsi à la formation des cryptes aberrantes, premières lésions pré-néoplasiques visibles sur le plan histologique (He et al, 1998). De plus, dans les cas de CCR où *APC* n'est pas muté, des mutations activatrices du gène de la β -caténine ont été fréquemment observées qui concernent toutes le domaine de phosphorylation par la GSK3 (Samowitz et al, 1999).

5-2-2- La voie TGF- β

La voie TGF- β est impliquée dans un grand nombre de fonctions cellulaires telles que la prolifération, la différenciation, l'apoptose, la mobilité ou encore l'adhésion des cellules. Dans le côlon, l'inactivation de la voie TGF- β constitue une étape importante de la tumorigénèse.



Le TGF- β et les membres de sa famille sont des facteurs de croissance dont une de leurs fonctions essentielles est l'inhibition de la prolifération par ralentissement du cycle en G1 (Heldin et al, 1997). Dans cette voie, le TGF- β activé se lie au récepteur TGF- β de type II en formant un complexe protéique avec le récepteur TGF- β de type I. Ce complexe activé phosphoryle la protéine codée par le gène *SMAD2*. Cette dernière forme un hétérodimère avec la protéine *SMAD4*. Ce complexe protéique est transloqué au noyau où il va réguler la transcription des gènes cibles dont des régulateurs majeurs du cycle cellulaire comme les *CKI* « *Cyclin Dependent Kinase Inhibitors* » (Robert, 2011) (Figure 07).

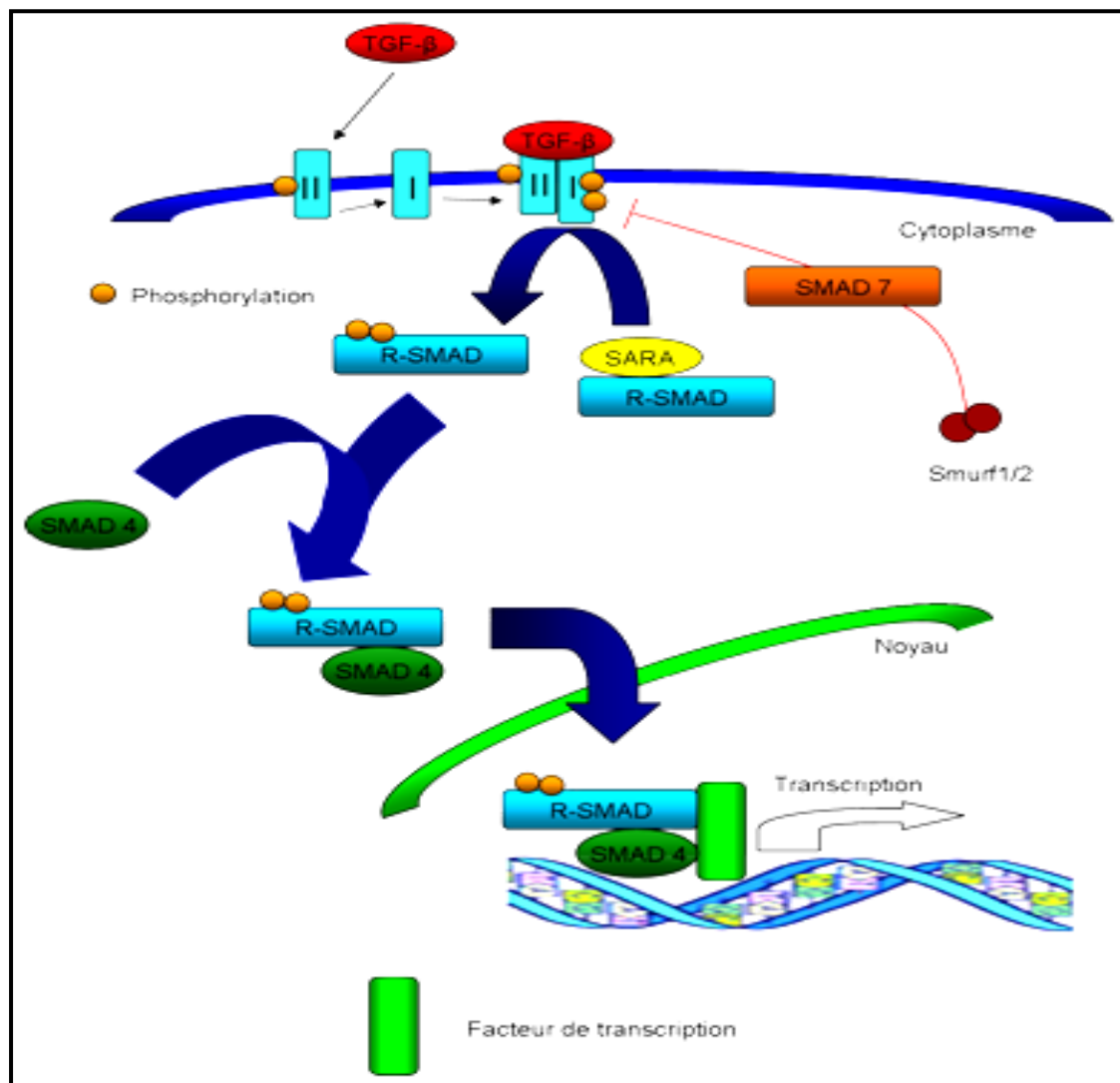


Figure 07 : Représentation schématique de la voie TGF- β . Adaptée de (Schiller et al, 2004)



Cette voie de signalisation est impliquée dans les cancers colorectaux par plusieurs mécanismes : le gène codant le récepteur TGF- β RII est retrouvée muté en cas de phénotype MSI+ dans 60 à 90% des cas (Grady et al, 1999; Markowitz et al, 1995), les gènes *SMAD4* et *SMAD2* présentent des mutations inactivatrices dans 20 à 30% des CCR de type LOH+ et prédisposent aux polyposes juvéniles (Eppert et al, 1996; Miyaki et al, 1999), enfin des mutations touchants le gène TGF- β R1 ont été décrites comme prédisposant au CCR (Houlston et al, 2008).

5-2-3- La voie Ras

La voie Ras appartient avec la voie de la PI3K à la voie de l'EGFR « *Epidermal Growth Factor Receptor* » qui est impliquée dans le contrôle de l'apoptose et la prolifération cellulaire (Figure 08).

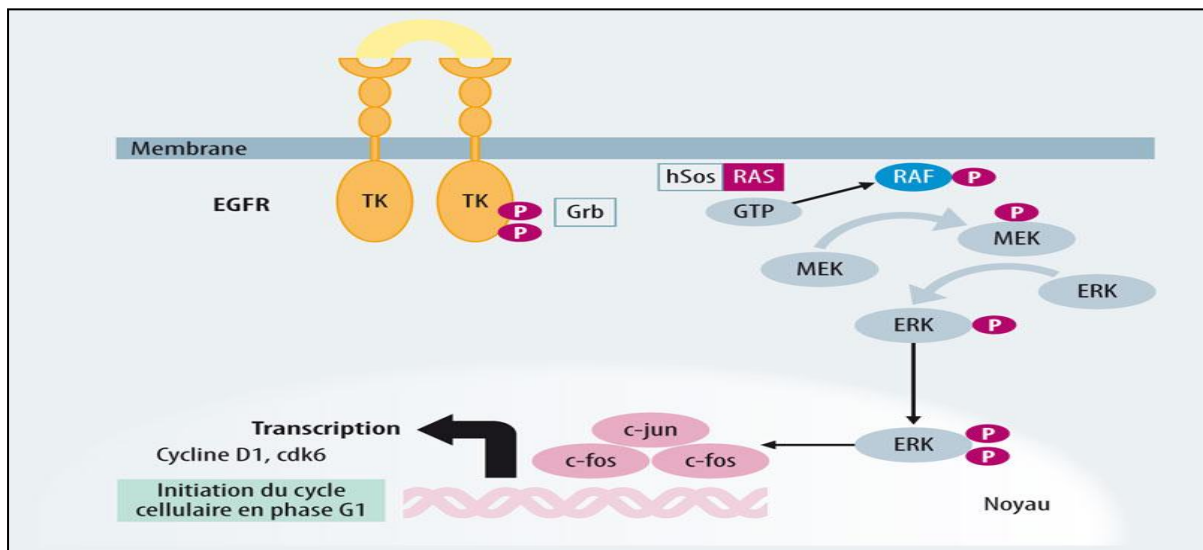


Figure 08 : Représentation schématique de la voie Ras. Tirée de (Lièvre & Laurent-Puig, 2010)

Les protéines Ras (HRAS, KRAS et NRAS) font partie de la superfamille des petites protéines G. Lorsque Ras est activée sous la forme Ras-GTP, elle entraîne une cascade de phosphorylations/activations successives de Raf1, des MEK1/2 « *Mitogen-activated protein kinase 1 et 2* », puis des Erk1/2 « *extracellular signal-regulated kinases 1 et 2* » sont finalement transloquées dans le noyau où elles activent des facteurs, tels que Elk1 « *Ets-like gene 1* » et c-Myc, qui régulent la transcription de gènes stimulant la prolifération cellulaire ou ayant des propriétés anti-apoptotiques, comme *bcl-2* (*B-cell CLL/lymphoma 2*). D'autre part,



Erk1/2 phosphoryle également c-Jun qui active le facteur de transcription AP1 « *Activating protein 1* ». Ce dernier stimule l'expression de gènes contrôlant le cycle cellulaire, comme la cycline D1 connue pour promouvoir la division cellulaire, ainsi que celle des gènes de métalloprotéinases, notamment la MMP-7 « *Matrix metalloprotein 7* », qui sont des facteurs favorisant l'angiogenèse. Par ailleurs, RAS peut interagir directement avec la phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) et active ainsi la voie anti-apoptotique de Akt qui favorise la survie cellulaire (Downward, 1996; Lacave et al, 2005; Robert, 2011).

Dans les tumeurs, lorsqu'une mutation intervient dans les gènes RAS, les protéines GAP « *GTPase activating protein* » ne peuvent plus hydrolyser la forme GTP « *Guanosine triphosphate* » en GDP « *Guanosine diphosphate* » ce qui donne une forme RAS-GTP activée de manière constitutive. Cette forme induit une dérégulation de la prolifération cellulaire et de l'apoptose, qui peut aboutir à la transformation tumorale, et favoriser l'invasion cellulaire et la formation de métastases.

Les mutations du gène KRAS sont parmi les altérations les plus précoces au cours de la carcinogenèse colorectale et ils sont observés dans environ 40 % des tumeurs essentiellement dans le phénotype LOH+ (Andreyev et al, 2001; Bos, 1988). Récemment, une protéine appartenant à la cascade RAS a été montrée activée par des mutations ponctuelles, il s'agit d'une sérine-thréonine-kinase codée par le gène *BRAF2*. Ces mutations ponctuelles ont été décrites dans environ 20% des CCR et elles surviennent significativement plus fréquemment dans les CCR de phénotype MSI+ que dans les cancers LOH+ (31 % versus 7%) (Davies et al, 2002; Roberts & Der, 2007).

5-2-4- La voie p53

Le gène suppresseur de tumeurs *Tp53* est le siège fréquent de délétions chromosomiques dans les CCR. Ces altérations surviennent dans 60 à 80 % des CCR de type LOH (Baker et al, 1989; Iacopetta, 2003).

La protéine p53 assure dans la cellule un rôle fondamental de protection. C'est un facteur de transcription qui intervient de manière complexe dans la régulation du cycle cellulaire et de l'apoptose. En réponse à de nombreux stress, tels que les lésions à l'ADN, les défauts de métabolisme cellulaire ou de division, la protéine p53 bloque les cellules en phase G1 (G1-S checkpoint) par l'activation de protéines inhibitrices de transcription telle que la p21. Cet arrêt permet la réparation de l'ADN avant la phase S (Slee et al, 2004). Toutefois, si les altérations sont trop importantes pour être réparées, la p53 induit l'apoptose en stimulant



l'expression des gènes pro-apoptotiques comme le gène *BAX* (*Bcl-2 associated X protein*) (Robert, 2011) (Figure 09).

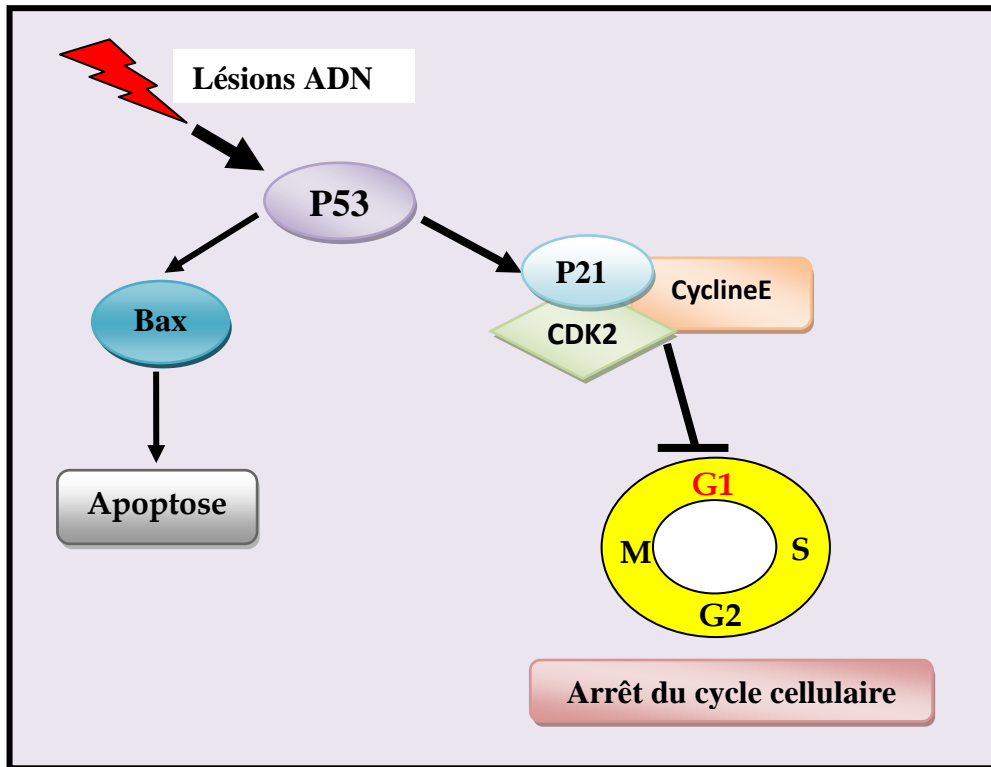


Figure 09 : Représentation schématique de la voie P53

Alors la perte de fonction de p53 conduit à une instabilité génomique, à une dérégulation du cycle cellulaire et à l'inhibition de l'apoptose et donc joue un rôle très important dans le processus de cancérisation (Rodrigues et al, 1990). Plusieurs études ont montré que les mutations de ce gène suppresseur de tumeur interviennent tardivement dans la cancérogenèse colique et semblent être nécessaires à la transition de l'adénome vers le carcinome (Clarke et al, 1995; Donehower et al, 1992; Jacks et al, 1994).



III

Réparation de l'ADN et cancérogénèse

La survenue de lésions génotoxiques ou de structures instables dans l'ADN sont des évènements relativement fréquents dans la vie d'une cellule. Ces altérations vont conduire au dérèglement, voire à l'inactivation des systèmes qui permettent en temps normal le contrôle de la division cellulaire. La cellule devient alors capable de proliférer de manière anarchique pour conduire à la formation d'une tumeur. En réponse à ces lésions, la cellule active un ensemble de systèmes de réparation qui permettent aux êtres vivants de maintenir en partie l'intégrité de leur génome et empêcher ainsi la cellule d'enclencher les étapes de la cancérisation. Pour chaque voie de réparation, un grand nombre de protéines interviennent successivement ou simultanément pour reconnaître et réparer la lésion. Ainsi, des variations d'activité ou d'expression de ces protéines, liées ou non à des polymorphismes génétiques, auront pour effet d'accroître le risque de cancer. Ce chapitre s'intéressera en premier aux lésions qui peuvent affecter la structure de la molécule d'ADN et les différents processus de réparation de celui-ci puis abordera les gènes explorés dans cette étude.

1- Dommages de l'ADN

L'intégrité de la structure de l'ADN est constamment menacée par des dommages génotoxiques. Une lésion ou un dommage de l'ADN correspond à une modification chimique de l'ADN susceptible de perturber le bon fonctionnement de la cellule. En effet, différents types de lésions peuvent être retrouvés sur la structure de la molécule d'ADN et les principales d'entre elles sont :

a- Les mésappariements de bases

Il arrive que les bases puriques ou pyrimidiques soient mal incorporées au moment de la réplication. Une adénine (A) peut alors être associée à une cytosine (C) ou une thymine (T) à une guanine (G) (Lewin & Sanlaville, 1998).



b- La dépurination / Dépyrimidation

A pH acide, la liaison N-Glycosidique qui relie une base et un sucre peut se rompre. Une base est alors manquante, le site vacant est dit site « AP », site apurique ou apyrimidique (Cooper & François, 1999).

c- La désamination

Les désaminations correspondent à une perte de groupement amine (NH_2) sur une base C, A ou G. Les désaminations sont dues à des excès de chaleur endogène ou exogène. L'adénine est transformée en hypoxanthine, la 5-méthylcytosine en thymine, la guanine en xanthine et la cytosine en uracile (Cooper & François, 1999) (Figure 10).

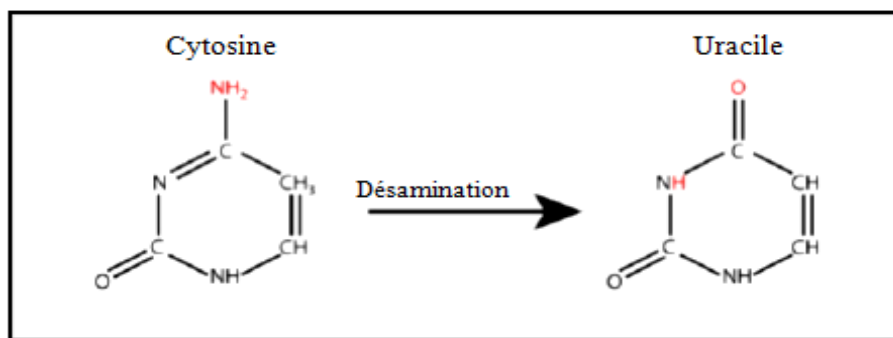


Figure 10 : Exemple d'une désamination d'une cytosine en uracile.

d- Les réactions d'addition de molécules exogènes

Les réactions d'addition de molécules exogènes sont des lésions dues à des mutagènes chimiques exogènes qui peuvent conduire à des distorsions et cassures de l'ADN. Parmi les agents incriminés on trouve notamment, les aflatoxines, les benzantracènes, les agents alkylants, les agents intercalants et le cis-platine (Robert, 2011).

e- Les erreurs de méthylation

La méthylation de l'ADN est une modification de l'une des quatre bases azotées (la cytosine le plus souvent) de l'ADN. Cette modification consiste en l'ajout d'un groupement méthyle ($-\text{CH}_3$) à la place d'un atome d'hydrogène. Ceci est un phénomène épigénétique normal et indispensable au bon fonctionnement cellulaire. Cependant une erreur de méthylation, également appelée « méthylation adduit », peut entraîner une distorsion de la double hélice voire une cassure de l'ADN. Des erreurs de méthylation se réalisent souvent au niveau des îlots CpG et participent ainsi à la régulation de l'expression du gène (Lewin & Sanlaville, 1998; Lodish et al, 1997).



f- La formation de liaisons covalentes (formation de dimères de pyrimidines)

La formation de dimères de pyrimidines (par exemple thymine-thymine ou thymine-cytosine) correspond à la génération de liaisons covalentes entre deux bases pyrimidiques adjacentes suite à une exposition à des agents mutagènes type UV « Ultra violet ». Ces dimères de pyrimidines créent des distorsions de l'hélice d'ADN qui peuvent être fixées par l'action des UV et qui perturbent les mécanismes de transcription (Cooper & François, 1999) (Figure 11).

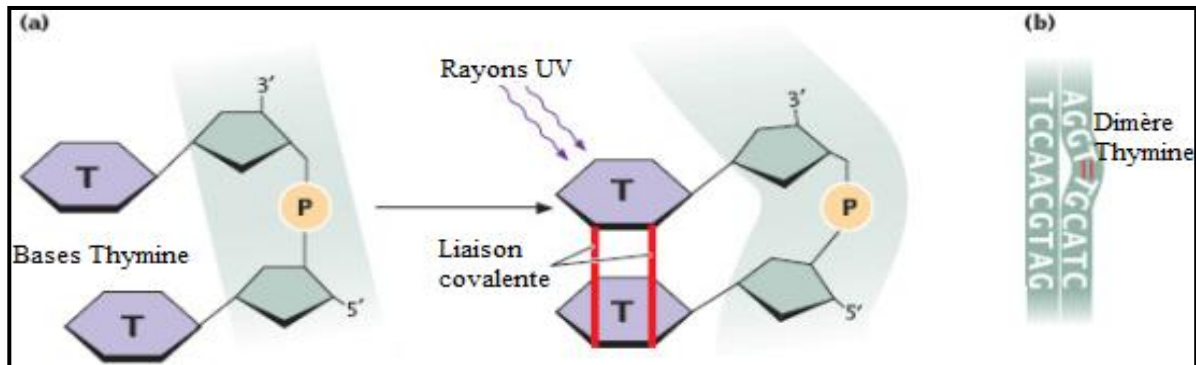


Figure 11 : Dimère de pyrimidines formé sous l'action des rayons UV.

(a) Formation du dimère de thymines

(b) ADN déformé par la dimérisation de thymines

g- Les lésions oxydatives

Les espèces réactives oxygénées (O_2 , H_2O_2 et OH), qui peuvent être exogènes ou endogènes, sont susceptibles de provoquer des oxydations de bases. L'oxydation de la guanine conduit à la formation d'un super oxydant très réactif, rarement à l'état libre. Ces altérations participent au vieillissement cellulaire (Cooper & François, 1999).

Deux types d'agents sont susceptibles de provoquer des lésions sur l'ADN, les agents exogènes et les agents endogènes. La nature des lésions est dépendante de la nature de l'agent incriminé. De manière générale les agents endogènes entraînent des mésappariements de bases ou des changements de séquence si la réparation est incorrecte. Les lésions provoquées par des agents exogènes peuvent également être retrouvées sous la forme de mésappariement de bases mais on les retrouve aussi sous la forme de perte de matériel génétique, liaison covalente, addition de molécules exogènes, lésions oxydatives, coupures, cassures, désaminations ou encore pontages covalents (Lacave et al, 2005).



Toutes ces modifications sont fort heureusement prises en charge plus ou moins rapidement par des systèmes de réparation dont est dotée la cellule afin de prévenir leur fixation définitive pouvant générer des dysfonctionnements importants de la cellule.

2- Les mécanismes de réparation de l'ADN

Un ensemble de mécanismes de réparation complexes permet à la cellule de détecter et réparer les dommages afin de sauvegarder l'intégrité de son génome et d'assurer sa survie. Chez l'humain, il existe cinq mécanismes majeurs de réparation de l'ADN : la réparation par excision de base « *Base Excision Repair: BER* », la réparation par excision de nucléotide « *Nucleotid Excision Repair: NER* », la réparation des mésappariements (MMR), la réparation des cassures double brin « *Double Strand Break Repair: DSB* » et la réparation des agents pontant l'ADN « *Cross-Link Repair: CLR* ».

2-1- Système de réparation des cassures double-brin de l'ADN

Les cassures double-brin de l'ADN sont la principale lésion létale induite par les rayonnements ionisants. Deux voies de réparation de l'ADN distinctes sont responsables de la correction de ces lésions : la réparation par recombinaison homologue « *Homologous Recombination Repair: HRR* » et la réparation par ligature d'extrémités d'ADN non homologues « *Non-Homologous End-Joining: NHEJ* ». Au cours de la réparation par recombinaison, la détection des cassures se fait grâce aux protéines ATM « *Ataxia Telangiectasia Mutated* » et ATR « *Ataxia Telangiectasia Related* ».

a- La réparation par recombinaison homologue

Cette voie de recombinaison consiste à utiliser la séquence homologue sur le chromosome non endommagé comme modèle pour la synthèse du nouveau brin. Elle implique le recrutement du complexe MRN constitué des trois molécules Mre11 « *Meiotic recombination 11* », Rad50 et Nbs1 au niveau des extrémités de la cassure (Cromie et al, 2001). La phosphorylation de ce complexe par ATM stimule son activité 5'-3' exonucléasique et permet la formation de deux extrémités simple brin 3' qui seront protégées par la protéine de réplication RPA « *Réplivative Protein A* ». La RPA facilite aussi l'assemblage d'une série de protéines, Rad51, Rad52, Rad54, XRCC2 et XRCC3 qui vont permettre la digestion partielle des deux extrémités 5' de la cassure afin de générer deux extrémités 3' (Shiloh, 2003). Par son activité recombinase, Rad51 a la propriété d'échanger un brin d'ADN simple contre une séquence homologue située sur un ADN double brin. Le positionnement correct des 2 chromatides sœurs fait intervenir des cohésines et Rad54, et génère une structure



intermédiaire appelée « *Jonction de Holliday* » (Fu et al, 1994). Après identification de la séquence homologue, la copie intacte située sur l'ADN double brin est utilisée comme matrice pour la réparation du brin endommagé. Cette étape fait intervenir plusieurs enzymes : une ADN polymérase qui est chargée de synthétiser le brin complémentaire, une ligase pour souder la liaison phosphodiester et des résolvases (qui sont des nucléases) pour séparer les deux ADN double brin homologues (Aravind et al, 2000; Moussard & Mougins, 2005) (Figure 12).

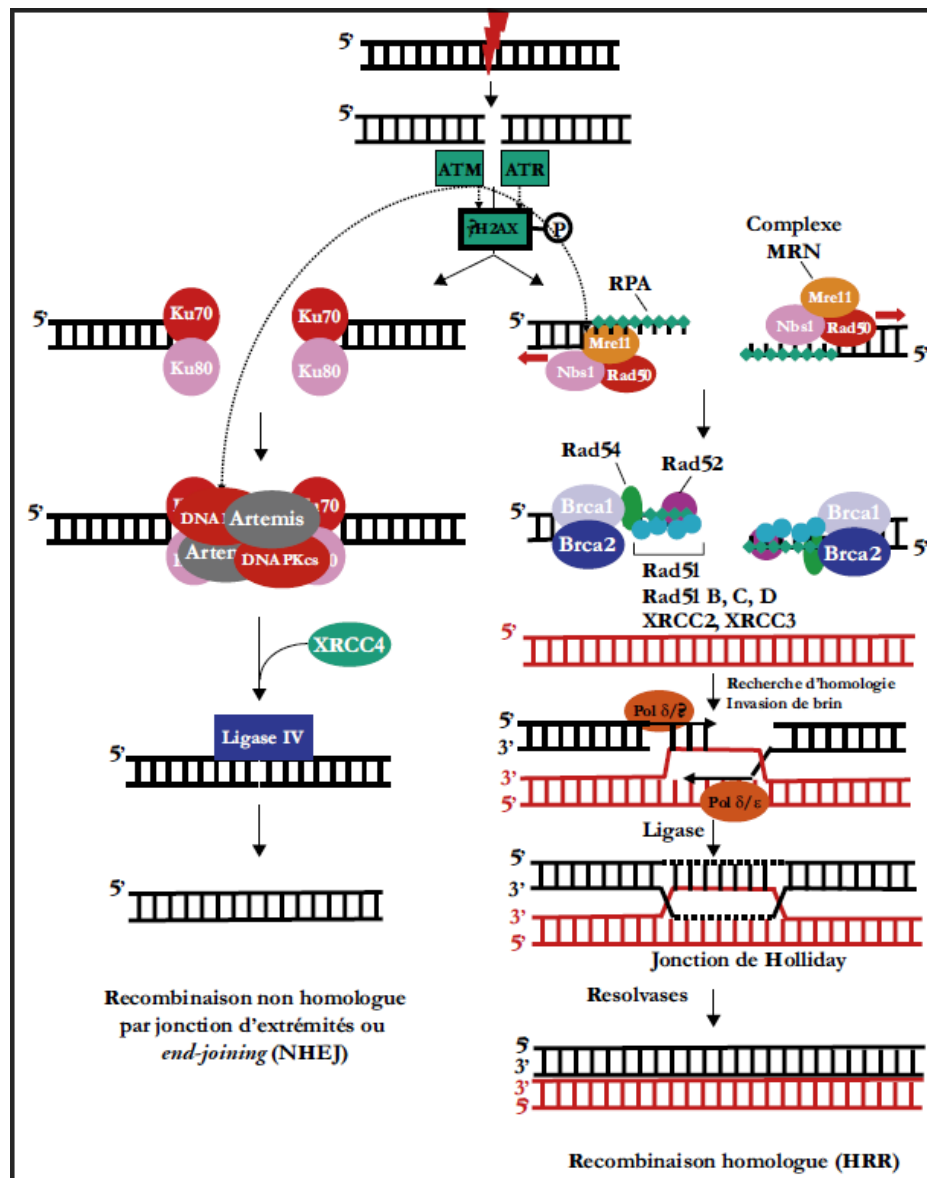


Figure 12 : Représentation schématique du système de réparation DSBR.

Tirée de (Pourquier, 2006)



b- La réparation par recombinaison non homologue

Ce mécanisme ; majoritaire chez l'homme ; consiste, après reconnaissance de la lésion, à rabouter les extrémités double brin de l'ADN générées par la cassure. Un complexe protéique se lie à la molécule d'ADN au niveau de ces extrémités, ce qui permet de maintenir la cohésion entre les deux brins qui doivent être joints. Ce complexe est constitué de l'ADN-protéine kinase ou DNA-PK comprenant une sous-unité catalytique (DNA-PKcs) appartenant à la même famille de sérine/thréonine kinase qu'ATM et ATR et les molécules Ku80 et Ku70, auquel vient se fixer le facteur Artemis (Jeggo, 1998). Le facteur Artemis est phosphorylé par la DNA-PKcs, ce qui active son activité 3'et 5' exonucléasique nécessaire à la préparation des extrémités d'ADN avant ligation par le complexe XRCC4-ligase IV qui est chargé de restaurer la continuité de la double hélice (Haber, 2000; Iliakis, 2009). Cette voie est plus rapide mais génère des erreurs d'insertion ou de délétion de quelques bases qui rendent la ligation d'extrémités non homologues très mutagène (Figure 12).

2-2- Système de réparation des mésappariements de l'ADN

La présence de bases mal appariées provient le plus souvent d'erreurs d'incorporation par les ADN polymérase répliquatives. Une partie de ces erreurs est corrigée par l'activité de relecture 3'-5' des polymérase, le reste est pris en charge par le système MMR.

Au cours de cette réparation, la reconnaissance des mésappariements est assurée par le complexe MSH2 et MSH6 et le complexe MSH2 et MSH3. Ces complexes recrutent les protéines MLH1 et PMS2 afin de dégrader et resynthétiser la région mésappariée en formant un tétramère avec les précédentes (Gradia et al, 1999) . Le complexe glisse en s'éloignant du mésappariement, puis procède à l'hydrolyse du brin présentant l'erreur tandis que l'autre brin est protégé de l'attaque des exonucléases par la protéine RPA (Lahue et al, 1989; Stojic et al, 2004). Une nouvelle synthèse de l'ADN est réalisée par une ADN polymérase et la continuité du brin est restaurée par une ligase (Figure 13).

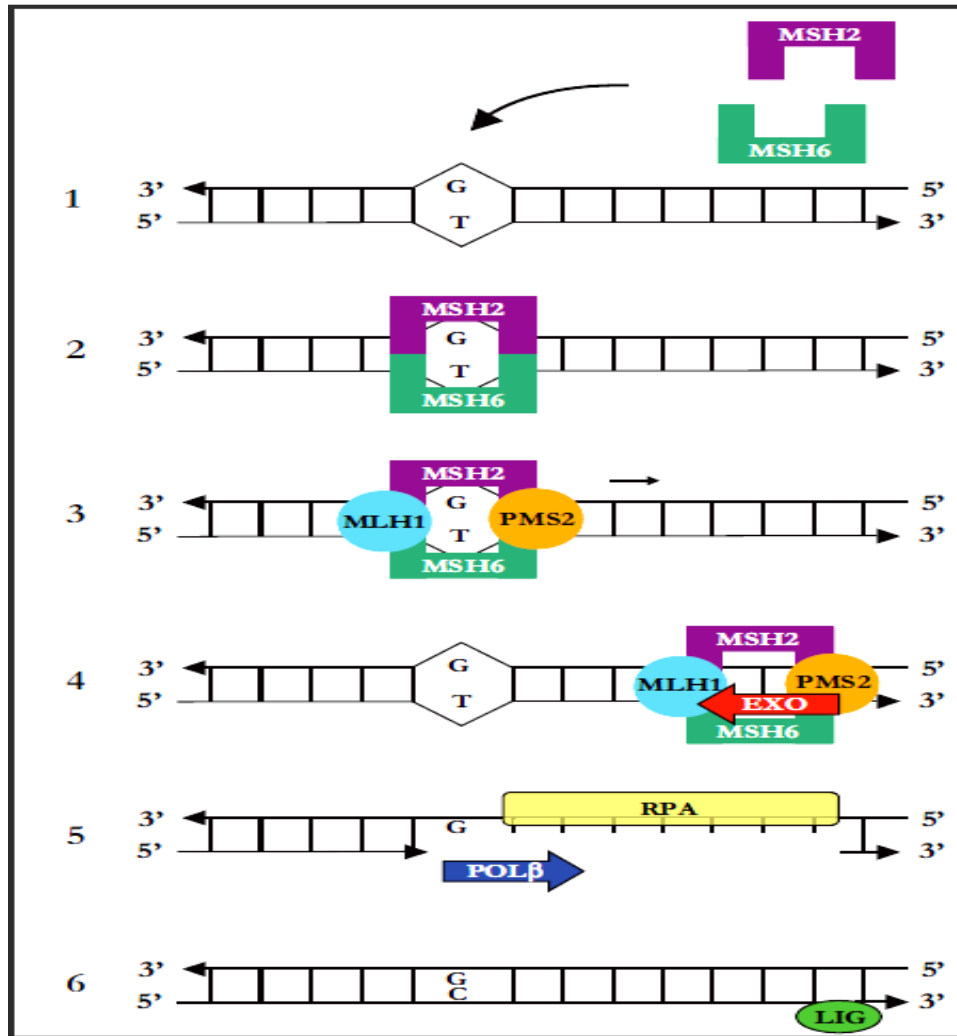


Figure 13 : Représentation schématique du système de réparation « MMR » chez l'homme.

Tirée de (Pourquier, 2006)

2-3- Système de réparation par excision de nucléotides

La voie de réparation par excision de nucléotides « NER » est le principal mécanisme de suppression des adduits volumineux de l'ADN, et est donc un élément important de la défense cellulaire contre une grande variété de lésions (Benhamou & Sarasin, 2005; Duell et al, 2000). Il existe deux voies du NER selon que la lésion se trouve dans l'ADN non transcrit GG-NER « *Global Genome-NER* » ou celui réparant les lésions bloquant la transcription, l'ADN transcrit TC-NER « *Transcription-Coupled-NER* » (Friedberg, 2003) (Figure 14).

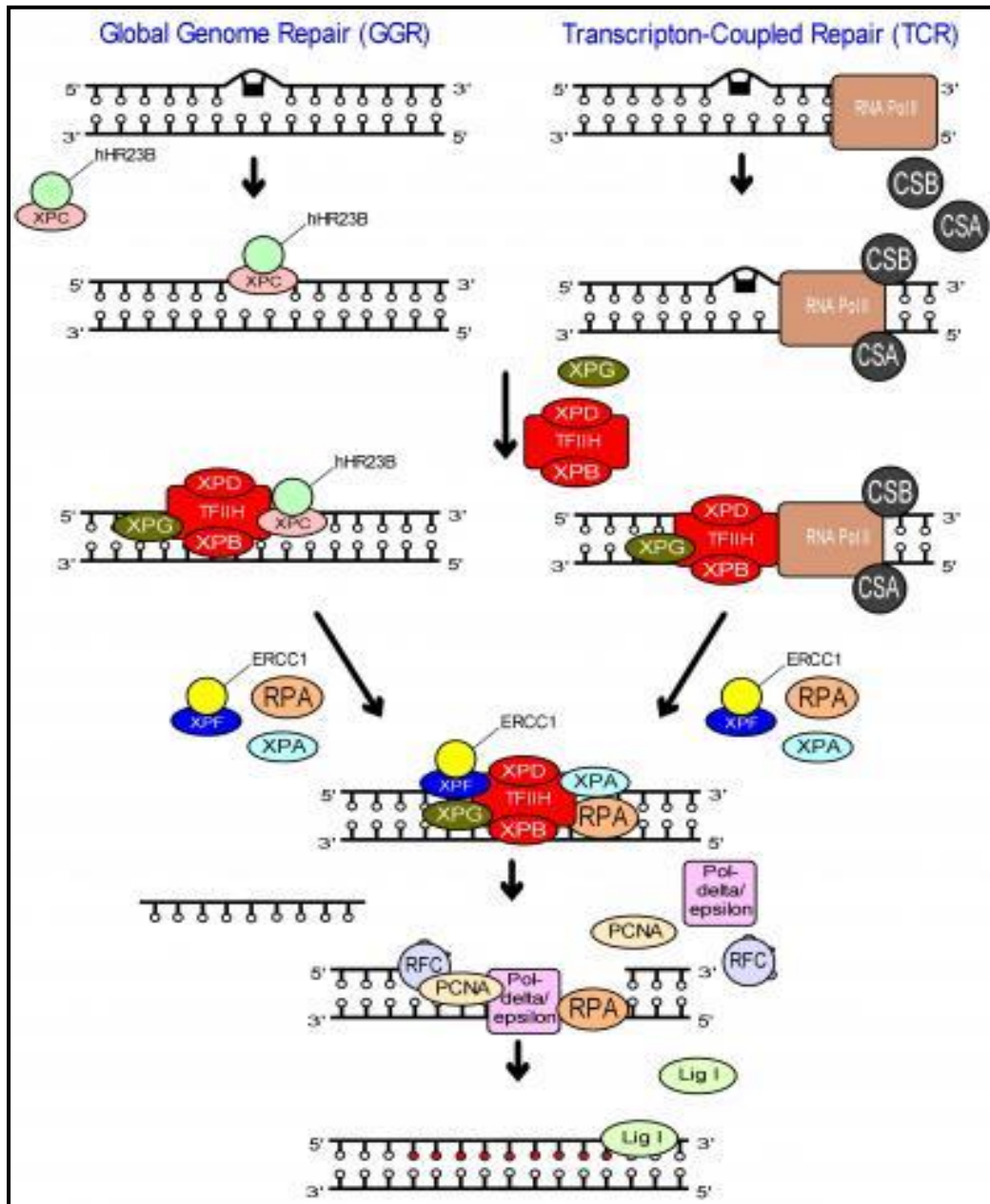


Figure 14 : Représentation schématique du système de réparation NER.

Tirée de (Fassihi, 2013).

Ces voies ne diffèrent que par le mode de détection de la lésion : par le complexe formé par XPC et hHR23B « *Rad23 homolog B* » dans le cas du GG-NER et par le blocage de la machinerie de transcription dans le cas du TC-NER (Sugasawa, 2006). Pour le TC-NER, les molécules CSA et CSB « *Cockayne Syndrome group A et B* » qui sont des sous-unités du facteur de transcription TFIIH « *Transcription Factor II H* » participent à la détection du dommage (Bohr et al, 1985; Mellon et al, 1987). Une fois détectée, la lésion est rendue accessible pour les autres protéines de la réparation par maintien de l'ouverture de la double hélice grâce aux deux hélicases XPB et XPD du complexe TFIIH. Les nucléases XPG et le



complexe formé par XPF et ERCC1 effectuent alors l'excision d'une partie du brin endommagé puis l'ADN polymérase procède à une nouvelle synthèse de brin et la ligature est assurée par l'ADN ligase. L'antigène nucléaire PCNA (*Proliferating Cell Nuclear Antigen*) aide l'ADN polymérase dans la réplication du brin endommagé et la protéine RPA (*Replication Protein A*) recouvre les simples brins et protège l'autre brin d'ADN contre la dégradation pendant le NER (Hoeijmakers, 2009; Pourquier, 2006).

2-4- Système de réparation par excision de base

La réparation par excision de base « BER » est un processus multienzymatique de réparation qui prend en charge les modifications de bases comme la méthylation, l'oxydation, la réduction ou l'endommagement de bases par les radiations ionisantes et le métabolisme oxydatif normal de la cellule (Seeberg et al, 1995; Yu et al, 1999).

Généralement, les bases modifiées de l'ADN sont excisées à l'aide des glycosylases spécialisées, qui produisent des sites AP. Ces sites AP sont des substrats pour les AP endonucléases 1 (APE1) qui hydrolysent la liaison phosphodiester et génèrent ainsi une coupure simple brin. Les protéines XRCC1 et PARP1 « *Poly ADP ribose Polymérase 1* » interviennent alors et recrutent une protéine PNK « *Polynucléotide kinase* » qui phosphoryle l'extrémité 5'OH et déphosphoryle l'extrémité 3'P au niveau de la coupure.

Le BER comprend 2 voies de réparation: le Short Patch Repair et le Long Patch Repair. Chez les mammifères le Short Patch Repair est dominant. Dans cette voie, la DNA polymérase Bêta (Pol β) remplace la base excisée et élimine le résidu terminal du pentose abasique grâce à son activité lyase. Ensuite, le complexe XRCC1-Ligase III joint la base nouvellement remplacée et le reste du brin d'ADN. Le Long Patch Repair nécessite la coopération des polymérases Pol β et Pol δ , et le facteur nucléaire PCNA « *Proliferating Cell Nuclear Antigen* » pour la synthèse réparatrice d'un patch de 2 à 10 bases, en utilisant le brin complémentaire non endommagé comme matrice, ce qui provoque un chevauchement (*flap*) qui devra être éliminé par FEN1 « *Flap Endonuclease 1* ». Enfin, une ligase I doit restaurer la continuité de l'ADN (Lindahl & Wood, 1999; Robertson et al, 2009; Spirio et al, 1993) (Figure 15).

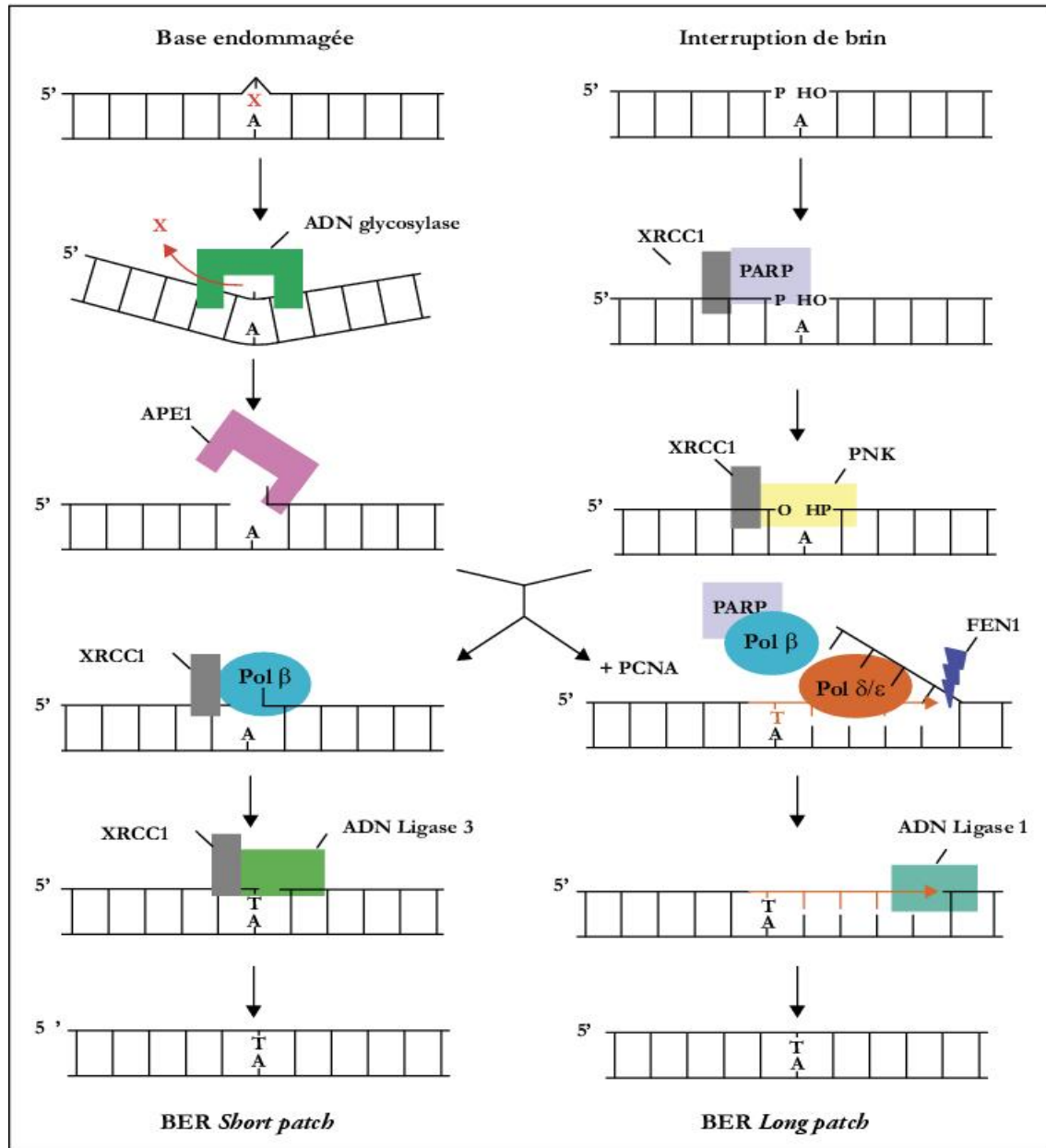


Figure 15 : Représentation schématique du système de réparation BER.

Tirée de (Pourquier, 2006)

2-5- Système de réparation des agents pontant l'ADN

Cette réparation est activée par de nombreuses drogues en chimiothérapie qui génèrent des liaisons covalentes entre les 2 brins de l'ADN. Ces liaisons entraînent l'apparition de lésions double brin lors de la réplication, par rupture des fourches de réplication ou attaque par les nucléases (Noll et al, 2006). En fait, deux voies parallèles sont impliquées dans le CLR (Muniandy et al, 2010) (Figure 16):

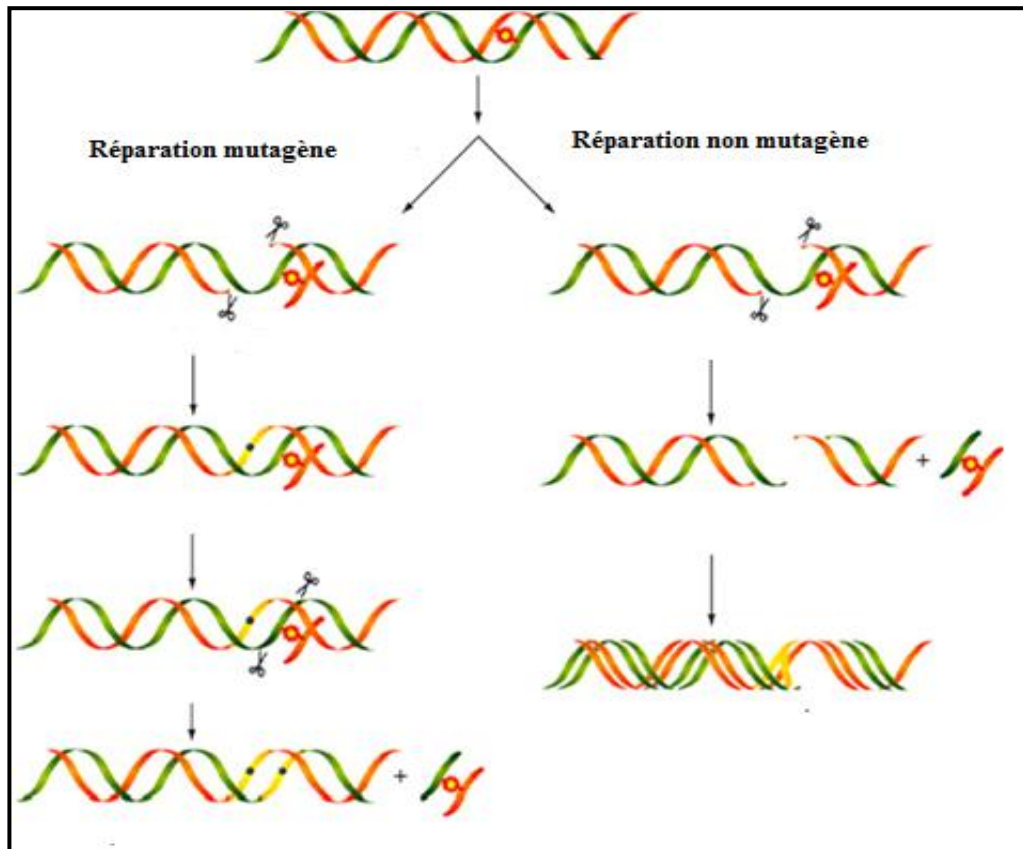


Figure 16 : Représentation schématique du système de réparation CLR.

Tirée de (Wu et al, 2005)

a- La voie de réparation non mutagène

Lorsqu'une fourche de réplication, bloquée par une liaison pontant l'ADN, se brise, elle génère une lésion double brin. Le complexe nucléase XPF-ERCC1, aidé par RPA, digère alors le duplexe de 3' en 5' en aval de la lésion en regard du brin direct, permettant la conversion d'une lésion pontante en une lésion n'affectant qu'un simple brin. Cette liaison pontante est ensuite éliminée par le NER et la structure d'ADN intermédiaire est réparée par recombinaison homologue (Dronkert & Kanaar, 2001; Noll et al, 2006).

b- La voie de réparation mutagène

Le NER incise l'ADN en 5' de la liaison pontante sur l'un ou l'autre des 2 brins d'ADN pour générer un gap de 26 nucléotides. Une polymérase reprend la synthèse de l'ADN en regard de la lésion et au-delà, ce qui génère une structure intermédiaire d'ADN à 3 brins. Cette structure constitue un substrat pour les endonucléases qui participent à l'excision de la lésion. Des ligases rétablissent la continuité de l'ADN réparé (Dronkert & Kanaar, 2001; Noll et al, 2006).



De nombreux polymorphismes génétiques importants pouvant donner lieu à des défauts de réparation de l'ADN ont été identifiés. Ces altérations peuvent être à l'origine d'un risque plus élevé de développer différents types de cancers (Brennan, 2002). Partant de ce principe, plusieurs études ont tenté de mettre en évidence un lien entre la survenue d'un CCR sporadique et des polymorphismes de gènes impliqués dans les différents mécanismes réparation. Parmi ces polymorphismes, ceux caractérisant les gènes *XRCC3*, *XRCC1*, *ERCC1* et *ERCC2* ont été particulièrement étudiés de part l'importance de leurs fonctions respectives. Dans cette étude nous allons nous intéresser à l'exploration d'une éventuelle relation d'association pouvant exister entre les polymorphismes : le SNP c.1196G>A du gène *XRCC1* ([rs25487](#)), le SNP c.722C>T du gène *XRCC3* ([rs861539](#)), le SNP c.354C>T du gène *ERCC1* ([rs11615](#)) et le SNP c.2251A >C du gène *ERCC2* ([rs13181](#)) et le risque de CCR sur un échantillon de la population Ouest Algérienne, sachant que ces variants n'ont jamais été étudiés auparavant dans notre contexte. A cet effet, la description de ces différents gènes est indispensable.

3- Gène *XRCC1*

3-1- La structure du gène

Le gène *XRCC1* humain ([MIM#194360](#)) est localisé sur le bras long du chromosome 19 en 19q13.2 (Thompson & West, 2000); il s'étend sur 33Kb et est composé de 17 exons (Lamerdin et al, 1995; Mohrenweiser et al, 1989). Il a été identifié en raison de sa capacité à restaurer l'activité de réparation de l'ADN dans une lignée cellulaire mutante provenant de l'ovaire d'hamster (Siciliano et al, 1987; Thompson et al, 1990). Le gène *XRCC1* est transcrit en un ARN messager (ARNm) de 2102pb.

3-2- La protéine *XRCC1*

XRCC1 est une protéine dépourvue d'activité enzymatique dont la séquence est fortement conservée au cours de l'évolution. Chez l'homme, *XRCC1* est un polypeptide de 70 kilodalton (kDa) comprenant 633 acides aminés qui est impliqué dans la réparation efficace des cassures simple brin formées par l'exposition aux rayonnements ionisants et les agents alkylants. Elle joue également un rôle dans la réparation de l'ADN pendant la méiose et la recombinaison dans les cellules germinales. Cette protéine comporte différents domaines structuraux et fonctionnels qui lui permettent d'organiser les différentes étapes du BER par recrutement et stimulation de différents facteurs de réparation (Figure 17) :

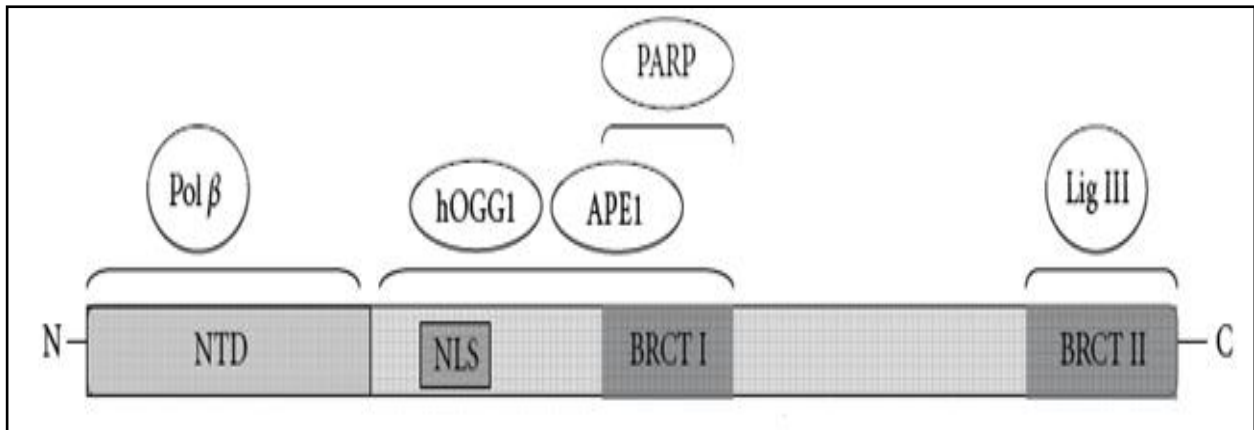


Figure 17 : Représentation schématique des domaines de la protéine XRCC1.

Tirée de (Sterpone & Cozzi, 2010)

NTD : domaine N-terminal ; NLS : signal de localisation nucléaire; BRCTI et II : Breast Cancer Susceptibility protein homology C terminus I et II.

➤ **Le domaine N-terminal**

Ce domaine s'étend entre les acides aminés 1 à 183 et assure l'interaction avec de nombreux partenaires des voies de réparation de l'ADN, tels que l'ADN polymérase β (Masson et al, 1998; Yoshiko et al, 1996).

➤ **Le domaine NLS**

Le domaine NLS « *Nuclear Localization Signal* » est localisé dans la partie N-terminale de la protéine, entre les résidus 239 et 266. Il est responsable de la localisation cellulaire de la protéine. Ce domaine interagit aussi avec les protéines de la machinerie de réplication au cours de la phase S (Fan et al, 2004).

➤ **Le domaine BRCTI (Breast cancer susceptibility protein homology C Terminus I)**

Celui-ci est compris entre les résidus 314 à 403 ; c'est le domaine d'interaction de XRCC1 avec les protéines PARP qui sont responsables de l'initiation de la réponse cellulaires aux cassures simple brin de l'ADN (Masson et al, 1998).

➤ **Le domaine BRCTII (Breast cancer susceptibility protein homology C Terminus II)**

Celui ci s'étend entre les acides aminés 538 et 633 et assure l'interaction entre XRCC1 et l'ADN ligase III. Il est indispensable à la réparation des cassures simple brin dans les cellules quiescentes, mais il n'opère aucune réparation des cellules après traitement par un agent alkylant ou pour la réparation des cassures au cours de la phase S du cycle cellulaire (Caldecott, 1994).



Ces deux domaines BRCTI et BRCTII ont une séquence généralement bien conservée au cours de l'évolution, et ils ont une structure secondaire commune constituée d'un feuillet de quatre brins β entouré de trois hélices α . Ce sont les domaines BRCT qui procurent à XRCC1 sa spécificité de fonction au sein des voies de réparation de l'ADN (Figure 18).

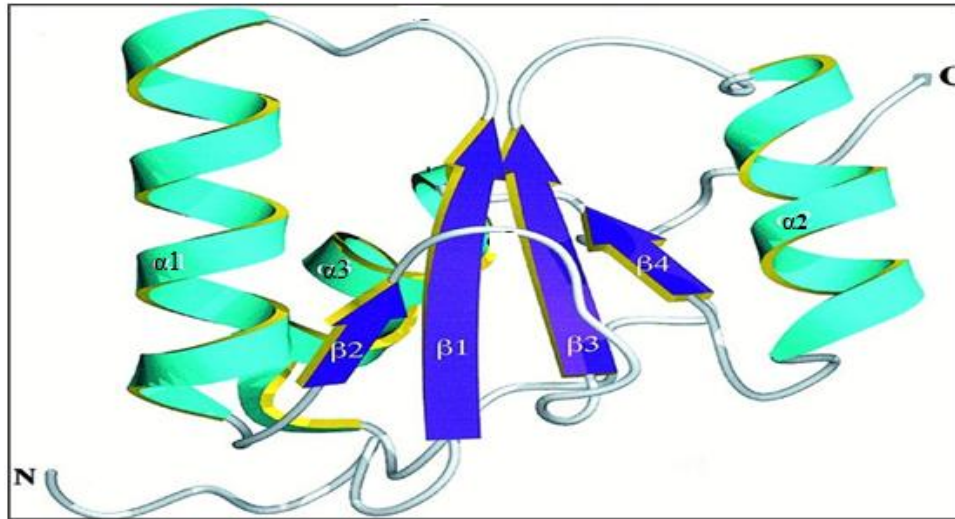


Figure 18 : Structure du domaine BRCTI de la protéine XRCC1.

Tirée de (Xiaodong Zhang, 1998).

Feuillets β (bleu), chaînes α (vert).

➤ **Le domaine intermédiaire « Linker »**

Situé entre les deux domaines BRCT, c'est le domaine d'interaction de la protéine XRCC1 avec PNK, OGG1 « *Human 8-Oxoguanine DNA Glycosylase* » et PCNA. Cette région contient des sites de phosphorylation par la caséine kinase 2 (CK2) qui assure la survie cellulaire (Litchfield, 2003; Yoshiko et al, 1996). La phosphorylation par CK2 favorise l'interaction avec PNK et il a déjà été démontré que cette dernière stimulait les activités de l'ADN kinase mais aussi de l'ADN phosphatase au niveau des sites de cassure de l'ADN ce qui stimule la réparation de ce dernier (Nicolas et al, 2006).

3-3- Polymorphismes du gène *XRCC1* et cancers

Plusieurs études se sont intéressées à l'analyse des polymorphismes de XRCC1, qui sont représentés essentiellement par des SNPs. Il en existe plus de 300, validés et répertoriés dans la liste de données dbSNP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP>). Parmi les SNP les plus étudiés chez l'homme : le SNP c.580 C>T dans l'exon 6 (p.Arg194Trp, [rs1799782](#)), le SNP c.839 G>A dans l'exon9 (p.Arg280His, [rs25489](#)) et le SNP c.1196G>A dans l'exon 10



(p.Arg399Gln, [rs25487](#)) (Hung et al, 2005b; Ladiges et al, 2003). Ces polymorphismes affectent la capacité de réparation de l'ADN en modifiant les interactions entre XRCC1 et d'autres protéines impliquées dans le système de réparation BER.

XRCC1 étant un acteur important dans certaines de ces réparations, de nombreuses études se sont penchées sur l'association des plus fréquents de ses polymorphismes avec le risque de survenue de différentes pathologies cancéreuses. Le polymorphisme *XRCC1* Arg194Trp est situé dans le domaine N-terminal de la protéine XRCC1 au niveau des zones d'interaction avec les protéines PCNA, OGG1 et APE1 (Ladiges, 2006). Une méta-analyse suggère que ce SNP est associé à un risque accru de cancer du poumon dans la population chinoise (Zhenqiang et al, 2013), tandis qu'une autre conclue à un rôle protecteur vis-à-vis de ce cancer et des cancers liés au tabac de manière générale (Hung et al, 2005b).

Le second variant Arg280His bien qu'ayant fait l'objet de moins d'études que le précédent, a été souvent également associé à la survenue du carcinome thyroïdien (Bao et al, 2013).

Le variant génétique *XRCC1* Arg399Gln est le plus étudié car le plus fréquent (Hung et al, 2005b) ; de plus, des études ont montré que ce polymorphisme entraîne une diminution de la capacité de réparation de l'ADN (Ginsberg et al, 2011). Ce variant survient dans le domaine BRCTI, siège de l'interaction avec PARP (Richard Shen et al, 1998) et sachant l'importance du rôle de BRCTI et PARP dans la réparation de l'ADN, on comprend aisément que le variant *XRCC1* Arg399Gln ait donc un impact sur ce système de réparation de l'ADN.

Un grand nombre d'études se sont focalisées sur la relation entre le polymorphisme Arg399Gln de *XRCC1* et la survenue de différents cancers en tant que facteur favorisant ou plutôt protecteur (Hung et al, 2005a; Iarmarcovai et al, 2005). Parmi celles-ci, les nombreuses études épidémiologiques qui ont reporté une association entre ce polymorphisme et le risque accru de survenue du cancer de la thyroïde (Ho et al, 2009; Ryu et al, 2011). Ce polymorphisme a été également incriminé dans la survenue du cancer du sein, en particulier chez les populations asiatiques et africaines (Wu et al, 2011). En revanche, une étude remet en question cette association dans la mesure où celle-ci ne la retrouve pas sur une autre population de femmes chinoises (Shu et al, 2003). Une méta-analyse de 6 études cas-témoins a montré qu'il y avait une association entre le polymorphisme Arg399Gln du gène *XRCC1* et le risque de carcinome hépatocellulaire dans la population Han chinoise (Duan et al, 2012). Inversement, d'autres ont plutôt démontré qu'il serait lié à une diminution du risque de l'estomac ou de la vessie (Goode et al, 2002).



Une étude chez les hommes de Han (région au sud de la Chine) conclue à l'existence d'une association entre ce polymorphisme et un risque accru du cancer de la prostate en particulier lorsque le paramètre tabagisme est pris en compte (Xu et al, 2007).

Cette association n'a pas été retrouvée avec le cancer du poumon chez les populations Européennes. En revanche, sur cette même population, en séparant les individus selon leur degré de tabagisme, ce SNP Arg399Gln semble protéger les gros fumeurs contre l'apparition de ce cancer, tandis qu'il semble plutôt favoriser l'apparition de ce cancer chez les fumeurs occasionnels (Hung et al, 2005a).

4- Gène XRCC3

4-1- La structure du gène

Le gène *XRCC3* ([MIM#600675](#)) a été identifié à partir d'une lignée de hamster « irs1SF » qui est sensible à des radiations ionisantes, aux radiations UV et à des agents induisant des pontages dans l'ADN (Tebbs et al, 1995). Par rapport à la lignée sauvage, les lignées cellulaires mutantes observées dans ces études montraient une sensibilité aux radiations ionisantes deux fois plus élevée, une sensibilité aux agents endommageant l'ADN qui introduisent des pontages, comme le cis-platine ou la mitomycine C, de 60 à 100 fois plus élevée et de hauts niveaux d'instabilité chromosomique. L'analyse de la séquence de ce gène a révélé une homologie significative avec le gène *Rad51* (Liu et al, 1998). Le gène *XRCC3* est situé sur le bras long du chromosome 14 (14q32.3), mesure 18 kb et comprend 10 exons (Tebbs et al, 1995).

4-2- La protéine XRCC3

Le gène *XRCC3* code pour une protéine de 346 acides aminés avec une masse moléculaire de 37850 Da. C'est un des membres de la large famille des protéines liées à Rad51 (Liu et al, 2002). La protéine XRCC3 est impliquée dans la réparation par recombinaison homologue de l'ADN, et elle est nécessaire pour la stabilité génétique. Elle intervient au niveau de l'initiation de la réparation en formant avec la protéine Rad51 un complexe qui est impliqué dans une étape cruciale de la recombinaison homologue (Bishop et al, 1998). XRCC3 contient des motifs ATPase constitués de Walker A et B, impliqués respectivement dans la fixation et l'hydrolyse de l'ATP « Adénosine triphosphate ». Par ailleurs, il est connu que la liaison et l'hydrolyse de l'ATP jouent des rôles importants au niveau de l'interaction XRCC3-RAD51 (Yamada et al, 2004). Mis à part une activité ATPase stimulée par l'ADN, les activités catalytiques sont toujours mal définies venant du fait que



cette protéine ne possède pas de domaines fonctionnels apparents autres que les motifs de Walker.

4-3- Les polymorphismes du gène *XRCC3* et cancers

Aucune maladie humaine n'a été liée à l'inactivation du gène *XRCC3*. Toutefois, sur la base de son rôle déterminant dans la réparation de l'ADN, les polymorphismes du *XRCC3* peuvent être associés à un risque accru de cancer. Selon la base de données NCBI, il possède 111 SNP. Le polymorphisme le plus important se trouve au niveau de l'exon 7 à la position 18067 ([rs861539](#)). Il est caractérisé par la substitution de la cytosine (C) par la thymine (T) au niveau du codon 241, ce qui conduit à un changement d'une thréonine (Thr) par une méthionine (Met). Certaines études ont montré que cet allèle variant Met²⁴¹ est associé à des niveaux relativement élevés d'adduits à l'ADN indiquant une capacité relativement faible de réparation d'ADN (Matullo et al, 2001; Shen et al, 1998).

A l'heure actuelle, des études récentes avec des résultats controversés ont étudié le rôle de ce polymorphisme sur le risque de prédisposition au développement des cancers. Une association significative a été trouvée entre ce SNP et l'augmentation du risque de survenue de mélanome (Winsey et al, 2000), du cancer de la vessie (Matullo et al, 2001), du cancer du sein (Smith et al, 2003) et du cancer des poumons (Jacobsen et al, 2004). Par ailleurs, les résultats de deux méta-analyses (Han et al, 2006; Manuguerra et al, 2006) ont rapporté que les individus porteurs du génotype (CC) ont plus de risque de développer un cancer du sein, mais aucune association avec les cancers de la tête, du cou, de la vessie, le cancer cutané non mélanome n'a été rapportée. Les résultats d'une méta analyse récente de 17 études cas-témoins montrent une absence d'association entre ce polymorphisme et le cancer des poumons (Xu et al, 2013).

Une étude a montré que ce SNP est lié à une prédisposition au CCR chez les chinois (Jin et al, 2005). Cependant, une autre observation concernant un échantillon de la population malaisienne a montré qu'il n'existait aucune association entre ce polymorphisme et le développement de ce cancer (Aizat et al, 2011). Plus récemment, une méta-analyse de 15 études publiées portant sur un total de 4475 cas et 6373 témoins a révélée une association significative entre ce polymorphisme et le risque accru au CCR et plus particulièrement chez les asiatiques (Wang & Zhang, 2013).

Deux autres SNP du gène *XRCC3* ont été également étudiés, ce sont : *XRCC3* A4541G ([rs1799794](#)) et *XRCC3* A17893G ([rs1799796](#)). L'allèle variant du SNP A17893G a été associé à une diminution du risque de cancer du sein et le cancer de l'ovaire (Auranen et al, 2005; He



et al, 2012b), mais aucune association significative n'a été établie pour le cancer du poumon (Jacobsen et al, 2004). *XRCC3* A4541G n'a pas été associé à un risque de cancer du sein ou à celui du cancer du poumon (He et al, 2012b; Jacobsen et al, 2004). Toutefois, les individus homozygotes pour l'allèle variant (G) ont un risque plus faible de cancer de l'ovaire (Auranen et al, 2005; Yuan et al, 2014).

5- Gène *ERCC1*

5-1- La structure du gène

Le gène *ERCC1* (MIM#126380) est situé sur le bras long du chromosome 19 en 19q13.32. Il s'étend sur près de 14kb répartis en 10 exons (van Duin et al, 1986; van Duin et al, 1987). Le gène est transcrit en ARN messager de 1,1kb.

5-2- La protéine *ERCC1*

La protéine *ERCC1* comporte 297 acides aminés totalisant un poids moléculaire proche de 32,5 kDa. Elle comporte deux domaines : un domaine central conservé dépourvu de l'activité nucléase et un domaine C-terminal (Li et al, 1994). Sur le plan fonctionnel, la protéine *ERCC1* joue un rôle important dans la voie de réparation NER. Le domaine C-terminal d'*ERCC1* interagit avec le domaine C-terminal de la protéine *ERCC4*, également connue sous le nom d'endonucléase XPF (Motycka et al, 2004). Ce complexe de réparation est capable d'identifier et d'éliminer les adduits d'ADN. Il catalyse le clivage en 5' de l'ADN endommagé libérant un fragment de 24 à 32 bases. Le domaine central semble être responsable de l'interaction avec XPA, cette interaction est requise pour le recrutement du complexe *ERCC1*-XPF (Li et al, 1994; Orelli et al, 2010). Jusqu'à présent, la protéine *ERCC1* n'a été que très peu caractérisée sur le plan cellulaire et moléculaire si bien que sa fonction précise demeure mal définie.

5-3- Les polymorphismes du gène *ERCC1* et cancers

Le gène *ERCC1* semble essentiel à la vie. Il est possiblement le gène le plus important du NER. Selon la base de données NCBI (dbSNP), cent neuf polymorphismes du gène *ERCC1* ont été recensés. Certains polymorphismes correspondent à des mutations aberrantes causant un changement d'acide aminé dans la séquence de la protéine tandis que la plupart de ces autres polymorphismes est silencieuse, n'impliquant aucun changement dans la séquence d'acides aminés de la protéine. Un des variants silencieux les plus étudiés de ce gène est situé



au niveau du codon 118 de l'exon 4 « Asn118= » (c.354C>T, [rs11615](#)) et semble influencer l'expression du gène.

Des études épidémiologiques ont examiné la relation entre ce polymorphisme et le risque d'apparition de certains cancers. Cependant, les résultats de ces études sont contradictoires. En effet, certaines d'entre elles ont montré que ce SNP serait lié à une prédisposition au CCR chez les chinois (Hou et al, 2014), au cancer de l'estomac dans un échantillon de l'Est de cette même population (He et al, 2012a) et cancer du sein chez les femmes danoises (Nexø et al, 2003). Paradoxalement, une étude italienne a montré que ce SNP est lié à une diminution du risque de développement de cancer de la vessie (Matullo et al, 2005). Enfin, aucune association n'a été détectée entre ce SNP et le CCR ou le cancer du poumon, chez la population danoise (Hansen et al, 2008) et la population chinoise (Yin et al, 2006) respectivement.

D'autre part, plusieurs études ont évalué l'impact de ce polymorphisme; en terme de réponse et de survie des patients traités avec des dérivés du platine. Dans le CCR, il a été associé à une efficacité de l'oxaliplatine (Viguier et al, 2005). De même, une étude coréenne portant sur 88 patients retrouve une amélioration de la survie chez les patients atteints du cancer du poumon porteurs de ce polymorphisme et traités par une bithérapie à base de platine (Ryu et al, 2004). Ce résultat a également été confirmé par l'étude prospective d'Isla sur 62 patients (Isla et al, 2004) qui a montré un bénéfice significatif en terme de survie globale et de survie sans progression chez les patients présentant le génotype homozygote (CC).

6- Gène *ERCC2*

6-1- La structure du gène

Le gène *ERCC2* ([MIM#278730](#)), appelé aussi *XPD*, est localisé dans la région q13.3 du bras long du chromosome 19 (Weber et al, 1990). Il est composé de 23 exons et il code pour un ARN messager de 2,3kb. Il s'étend sur au moins 54,000 paires de bases. Le gène *ERCC2* a 50% d'homologie avec le gène de levure *RAD3* dont le produit a, *in vitro*, une activité ADN/ ADN et ADN/ ARN hélicase à polarité 5'-3' dépendante de l'ATP (Weber et al, 1988; Weber et al, 1990).

6-2- La protéine *ERCC2*

Le gène *ERCC2* code pour une protéine de 86,9 kDa et de 760 acides aminés. La protéine *ERCC2* fait partie des hélicases de la superfamille 2 (SF2). Cette protéine, composée de 7 motifs, possède une activité ADN hélicase, de polarité 5'-3', dépendante de l'ATP (Sung



et al, 1993). L'activité hélicase reconnaît la présence d'une lésion changeant la structure secondaire de l'ADN et permet l'incision du brin endommagé en séparant les deux brins de l'ADN. En effet, elle est en charge du maintien de l'ouverture de la double hélice d'ADN pour permettre à la machinerie de réparation d'accomplir sa tâche.

La protéine ERCC2 fait partie du facteur de transcription TFIIF qui est à la fois impliqué dans la régulation de la transcription de l'ADN (synthèse de l'ARN) des gènes actifs mais également dans le mécanisme de réparation NER. L'ancrage du sous-complexe CDK « *Cyclin-activating kinase* » au cœur de TFIIF semble être une fonction importante de ERCC2 (Coin et al, 2008). Le domaine carboxy-terminal de la protéine ERCC2 est impliqué dans une interaction avec le domaine amino-terminal du facteur p44. Il s'agit d'une interaction fonctionnelle puisqu'elle est à l'origine d'une stimulation de l'activité hélicase de XPD (Coin et al, 1999; Seroz et al, 2000).

Malgré l'importance de cette protéine, très peu d'informations existent sur ses propriétés biochimiques.

6-3- Les polymorphismes du gène *ERCC2* et cancers

Plusieurs polymorphismes du gène *ERCC2* ont été identifiés, parmi lesquels deux mutations faux-sens au niveau des exons 10 et 23 (p.Asp312Asn, [rs1799793](#) et p.Lys751Gln, [rs13181](#)) (Shen et al, 1998) ont été bien étudiées. En premier, le polymorphisme [rs13181](#) qui semble être associé à une augmentation du risque de cancer mais ces résultats sont actuellement controversés.

En effet, certaines études ont révélé que ce SNP était lié à une prédisposition au cancer du sein chez les femmes égyptiennes (Hussien et al, 2012), au cancer de l'estomac et plus particulièrement chez les asiatiques (Xue et al, 2012) et au CCR chez les iraniens (Rezaei et al, 2013). Une faible augmentation du risque, de l'ordre de 10%, a été observée chez les sujets porteurs de l'allèle codant la glutamine (Gln) à la position 751 dans une méta-analyse (Manuguerra et al, 2006). En revanche, des méta-analyses récentes suggèrent que le polymorphisme Lys751Gln ne peut être associé à la susceptibilité de CCR et du cancer des poumons (Mei et al, 2011; Zhang et al, 2014).

Par ailleurs, deux études cliniques ont montré un effet des polymorphismes de *ERCC2* sur la survie de patients traités : la première (Park et al, 2001) a montré que les homozygotes variants pour le codon 751, traités en 3^{ème} ligne pour un CCR métastatique par une association 5-fluorouracile-oxaliplatine, avaient une survie médiane plus brève (3,3 mois) que les hétérozygotes (12,8 mois) et que les homozygotes sauvages (17,4 mois). La seconde étude



(Gurubhagavatula et al, 2004) a montré que les homozygotes variants pour le codon 312 et traités pour un cancer du poumon non à petites cellules avaient eux aussi une survie diminuée par rapport aux hétérozygotes et aux homozygotes communs.

S'agissant du CCR, les polymorphismes de ces gènes de réparation d'ADN semblent avoir des effets contradictoires selon les ethnies sur lesquelles les études ont été menées et de nombreuses études continuent d'être publiées raison pour laquelle nous nous sommes fixés pour objectif l'exploration de leurs éventuelles associations avec le risque du CCR dans notre population de l'Ouest Algérien.

*Problématique
et objectifs*



Le CCR est un réel problème de santé publique, il se situe parmi les cancers les plus fréquents. La grande majorité des CCR ne montre pas d'histoire familiale apparente et plusieurs facteurs génétiques et environnementaux pourraient exercer des effets très importants sur la susceptibilité à développer la maladie. En fait, de nombreuses études épidémiologiques ont permis de déterminer certains gènes dits de « susceptibilité mineure », c'est-à-dire des gènes de faible pénétrance, qui constituent la base de la prédisposition génétique aux CCR sporadiques.

Les gènes impliqués dans la réparation de l'ADN jouent un rôle important dans la stabilité et le maintien de l'intégrité du génome. Les variants alléliques de ces gènes sont impliqués dans la mise en place du processus de cancérogénèse et pourraient être associés à une augmentation du risque de CCR. En fait, les polymorphismes sur ces gènes semblent avoir des effets contradictoires selon les ethnies sur lesquelles les études ont été menées raison pour laquelle nous nous sommes fixés pour objectif l'exploration de leur éventuelle association avec le risque du CCR sur la population de l'Ouest Algérien et ce, à travers une étude cas/témoins. Ce projet s'inscrit dans la continuité d'une étude précédente réalisée dans notre laboratoire sur la population Ouest Algérienne et qui a permis d'évaluer l'implication de nombreux gènes du métabolisme des xénobiotiques dans le risque du développement du CCR (Aberkane, 2009).

Dans cette optique, le génotypage d'une sélection de quatre SNP caractérisant des gènes de réparation de l'ADN répertoriés dans la littérature sera réalisé afin de mener différentes analyses statistiques permettant de déceler l'existence d'une association entre un de ces SNP et la survenue du CCR sporadique dans notre population. Les SNP choisis sont le SNP c.1196G>A du gène *XRCC1* (p.Arg399Gln, [rs25487](#)), le SNP c.722C>T du gène *XRCC3* (p.Thr241Met, [rs861539](#)), le SNP c.354C>T du gène *ERCC1* (p.Asn118=, [rs11615](#)) et le SNP c.2251A >C du gène *ERCC2* (p.Lys751Gln, [rs13181](#)).

L'évaluation de la distribution des fréquences alléliques et génotypiques de ces différents variants dans notre population a pour objectif principal d'explorer une éventuelle association entre ceux-ci et le risque de CCR dans notre population mais également de la positionner par rapport aux différentes populations typées pour ces mêmes SNP à travers les fréquences de ces derniers chez les sujets normaux. A notre connaissance, aucune étude de ce type n'a été entreprise sur la population algérienne.



In fine, cette étude permettra la comparaison de nos résultats à ceux obtenus sur d'autres populations et de confirmer ou infirmer ce qui a été rapporté précédemment par la littérature.

*Population d'étude
et méthodes*



I- Population d'étude

L'étude que nous avons entreprise est de type cas/témoins et a concerné 277 individus non apparentés et appariés selon l'âge, le sexe et l'origine. Leur recrutement s'est fait entre 2006 et 2012. Cette population est subdivisée en deux groupes cas et témoins :

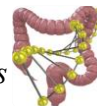
I-1- Groupe des cas

Le groupe des cas est composé de 129 patients souffrant d'un cancer colorectal sporadique diagnostiqué à différents grades de sévérité. Le recrutement a eu lieu au service d'oncologie médicale du centre hospitalo-universitaire d'Oran (CHUO) et au centre anti-cancer (CAC) Emir Abdelkader de Misserghine d'Oran. Au moment du recrutement, les patients étaient âgés entre 27 et 72 ans. L'ensemble des données a été recueilli au sein de ces centres et auprès des médecins traitants. Un volume de 10 millilitre (ml) de sang a été prélevé sur chacun des patients sur une solution d'EDTA « *Ethylène Diamine Tétra Acétique* » à 0,5 molaire (M). Les patients prélevés durant les années 2006, 2007 et 2008 ont fait l'objet du travail de thèse de M^{me} ABERKANE Meriem Samia intitulé « *Etude de l'implication des gènes du métabolisme des xénobiotiques: GST, MDR1, CYP3A5, UGT1A1 et TS dans la survenue du cancer colorectal dans la population de l'Ouest Algérien* » (Aberkane, 2009).

I-2- Groupe des témoins

Afin de réaliser la présente étude, nous avons disposé d'une bibliothèque constituée des ADN de 148 individus volontaires, d'âge compris entre 25 et 64 ans. Ces sujets sans histoire familiale de cancer, ne présentaient aucune maladie chronique. Ces témoins font partie d'une bibliothèque d'ADN constituée d'une part à l'occasion d'une thèse de magister (Fodil, 2008) et d'autre part à l'occasion d'un projet de recherche, le projet ISOR (InSulino-résistance à ORan) réalisé par des membres du Laboratoire de Génétique Moléculaire et Cellulaire (LGMC) de l'Université des Sciences et de la Technologie d'Oran-Mohamed BOUDIAF-(USTO-MB).

Les sujets dont le sang a été prélevé ont été soumis à un questionnaire retraçant les informations personnelles et les données utiles à notre étude (Annexe 01). Sur chaque questionnaire était mentionné le numéro du dossier et le lieu du prélèvement. Celui-ci était accompagné d'un formulaire de consentement éclairé signé par toutes les personnes participant à cette étude (Annexe 02). Tous les échantillons ont été étiquetés soigneusement portant la numérotation d'enregistrement. Les malades ont été désignés par la mention «CCR» et les témoins par la mention «T», suivie d'un numéro correspondant. Toutes les



précautions visant le respect de l'anonymat et la confidentialité des informations ont été rigoureusement respectées.

II- Méthodes

II-1- Extraction d'ADN génomique et dosage

Dans notre travail, l'extraction d'ADN génomique à partir du sang total a été réalisée par la technique de NaCl « Salting out » (Miller et al, 1988). Cette méthode nécessite au préalable l'élimination des globules rouges par une solution de lyse hypotonique, suivie d'un choc thermique dans la glace. Dans un second temps, l'ADN des lymphocytes est également libéré. Cet ADN est ensuite traité par la protéinase K qui le débarrasse de toutes les protéines auxquelles il est lié. Il est alors précipité par l'ajout de l'éthanol froid, sous forme de filaments qui se compactent rapidement en une masse blanchâtre appelée: *méduse*. Enfin, l'ADN pur sera dissout dans le tampon TE 10/1 (Tris/HCl: 10mM; EDTA:1mM; pH=8.0) (Annexe 03).

Pour éviter tout doute et réserve dans l'interprétation des résultats des manipulations requérant une homogénéisation du matériel biologique (ADN), il convient dès le départ de s'assurer de la pureté de l'ADN. Pour cela, il faut préalablement procéder au dosage de celui-ci par la méthode de spectrophotométrie basée sur la capacité de l'ADN à absorber des rayonnements UV à l'aide d'un spectrophotomètre Nanodrop (Labtech).

La concentration des ADN est déterminée par la mesure de l'absorbance à une longueur d'onde de 260nm « *nanomètre* ». Sachant qu'une unité de densité optique (DO) à 260nm correspond à une concentration de 50 µg/ml d'ADN double brin (Kaplan et Delpech, 1993). Un second dosage est effectué à 280nm afin de rechercher une éventuelle contamination par les protéines ou par les sels lors de l'extraction.

Avoir un ADN pur signifie que le rapport des densités optiques: $R = \frac{DO \text{ à } 260nm}{DO \text{ à } 280nm}$ doit être compris entre 1,5 et 2. Un rapport inférieur à 1,5 témoigne d'une contamination par les protéines. En revanche, s'il est supérieur à 2 on envisagera une contamination par les sels.

II-2- Analyse génétique

La caractérisation des polymorphismes a été réalisée par pyroséquençage sur l'appareil Pyromark® Q96 ID de Qiagen dans le laboratoire de pharmacologie des agents anticancéreux, de l'Institut Bergonié, -Bordeaux- (France). La technologie du pyroséquençage repose sur le principe d'un séquençage par synthèse. La séquence cible est préalablement amplifiée par une



réaction de polymérisation en chaîne (PCR pour «Polymerase Chain Reaction») avec un couple d'amorces dont une est biotinylée : marquée par une biotine.

II-2-1-Principe des techniques de biologie moléculaire

II-2-1-1-Principe de la PCR

Depuis sa description en 1985 par Karry Mullis et ses collaborateurs, la PCR a totalement révolutionné les méthodes d'analyse moléculaire (Mullis et al, 1986). La PCR permet d'amplifier, selon un mode exponentiel, un fragment d'ADN double brin. Cette technique consiste à utiliser de manière répétée l'activité polymérasique d'une ADN polymérase thermorésistante (Taq polymérase), extraite d'une bactérie thermophile «*Thermus aquaticus*», par un procédé d'extension de deux amorces spécifiques encadrant la séquence à amplifier. La taille des oligonucléotides utilisés comme amorces est généralement comprise entre 18 et 25 bases (Figure 19).

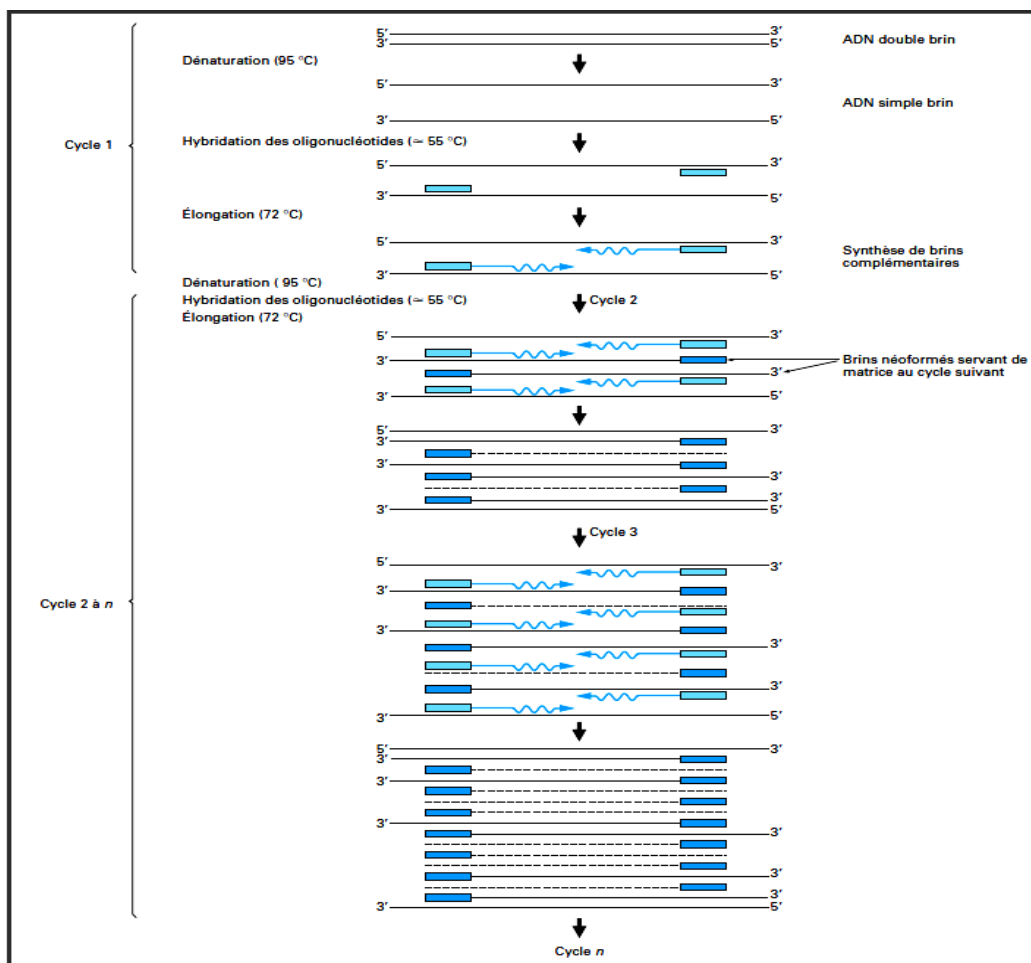
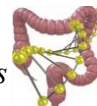


Figure 19: Principe de la PCR. Tirée de (Tagu & Moussard, 2003).



La PCR repose sur un processus cyclique de 3 étapes :

- **Première étape : Dénaturation thermique de l'ADN** (de 92°C à 94°C) :

Cette étape consiste à séparer par la chaleur les deux brins d'ADN en rompant les liaisons d'hydrogène. L'ADN passe sous forme de simple brin et les 2 brins peuvent alors servir de matrice.

- **Deuxième étape : Hybridation des amorces** (entre 45°C et 65°C) :

Les amorces, en large excès, s'hybrident à tout ADN comportant la séquence complémentaire.

- **Troisième étape : Elongation (ou extension) des amorces** (de 70 °C à 72°C) :

L'ADN polymérase (Taq polymérase) allonge les amorces en incorporant les dNTP « Désoxynucléotides triphosphates » complémentaires de la séquence de la matrice à laquelle elle est hybridée. La synthèse se fait dans le sens 5'→3'.

Le cycle est répété n fois dans un appareil appelé « Thermocycleur » qui permet de programmer les différentes températures, la durée de chaque étape et le nombre de cycle (n). Il en résulte à la fin de l'amplification un dédoublement par un facteur de 2^n de la quantité de l'ADN cible.

II-2-1-2-Principe du pyroséquençage

La technique de pyroséquençage est une technique de séquençage par synthèse qui permet de déterminer en temps réel l'enchaînement nucléotidique d'un fragment d'ADN simple brin. Cette méthode consiste à quantifier indirectement le pyrophosphate produit lors de la formation d'une liaison phosphodiester durant la synthèse du brin complémentaire (Ronaghi, 2001) (Figure 20).

La matrice génomique utilisée est un ADN simple brin. Pour cela, l'ADN double brin, préalablement amplifié, est séparé pour récupérer le brin biotinylé qui est capturé et fixé sur des billes recouvertes de streptavidine. Une amorce oligonucléotidique spécifique de la cible recherchée est utilisée pour le séquençage qui s'hybride avec le produit de PCR dénaturé. Ensuite, ce complexe, ADN/amorce est incubé avec les enzymes : ADN polymérase, ATP sulfurylase, luciférase et apyrase, et les substrats : APS « Adénosine 5'-Phosphosulfate » et luciférine. L'ADN polymérase catalyse l'incorporation des nucléotides complémentaires de la séquence matrice. Lorsque le dNTP ajouté est complémentaire au nucléotide situé sur le brin à séquencer, la partie triphosphate du nucléotide est clivée dans une réaction chimique libérant un pyrophosphate (PPi). Grâce à une ATP sulfurylase, ce pyrophosphate est transformé en ATP qui est utilisé par une luciférase pour oxyder la luciférine en oxyluciférine. Cette réaction va émettre un signal lumineux qui est capté ensuite par une



caméra CCD « *Charge Coupled Device* ». Ce signal est reproduit sous la forme d'un pic sur un pyrogramme. A chaque nucléotide incorporé correspond un pic lumineux et la séquence peut alors être déterminée. La hauteur de ce pic est en fonction de l'intensité du signal lumineux, elle-même proportionnelle au nombre de liaisons phosphodiester formées et donc au nombre de nucléotides incorporés. L'apyrase quant à elle dégrade continuellement les dNTP non incorporés et l'ATP. L'addition des dNTP est ainsi réalisée de manière séquentielle, dans un ordre déterminé par la séquence à analyser. Le brin d'ADN complémentaire de la matrice est de ce fait synthétisé et la séquence nucléotidique portant la variation de séquence SNP est déterminée sur les signaux de pics du tracé du pyrogramme.

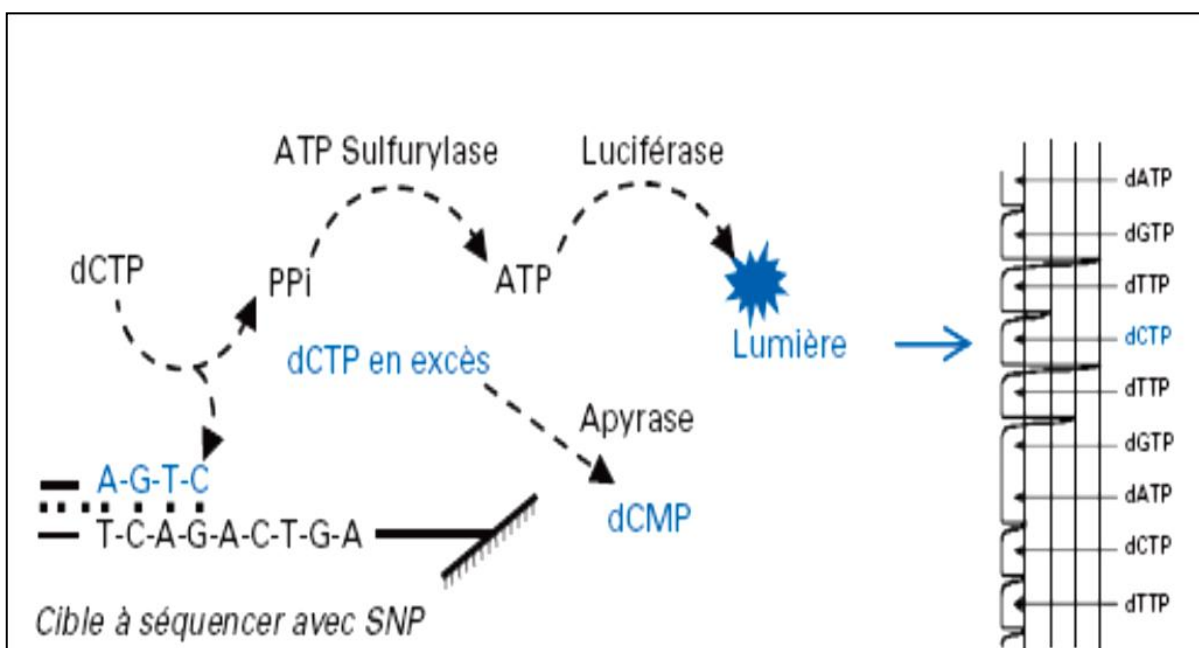


Figure 20: Principe du pyroséquençage. Tirée de (Le Morvan et al, 2005).

II-2-2- Choix des oligonucléotides de PCR et de pyroséquençage

Afin de pouvoir amplifier les séquences d'ADN contenant les polymorphismes recherchés, un couple d'amorces a été utilisé dont une des amorces est biotinylé en 5'. Pour le pyroséquençage, le brin d'ADN biotinylé est purifié et séquençé avec une amorce de pyroséquençage. Les amorces spécifiques pour la PCR et le pyroséquençage ont été conçues à l'aide du logiciel PSQ Software Version1.0 (Biotage) de l'appareil de pyroséquençage. Les séquences des amorces utilisées sont indiquées dans le tableau II :

**Tableau II** : Liste des oligonucléotides

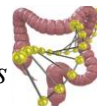
GENE	Polymorphisme (dbSNP)	Séquences des amorces	Température d'hybridation (°C)	Taille de l'amplicon (pb)
<i>XRCC3</i> , exon 7	C>T, Thr241Met (rs861539)	Sens: 5'-biotin-CGCCTGGTGGTCATCATCGACT3' Anti-sens: 5'ATACGAGCTCAGGGGTGCAAC3' Pyroseq: 5'TGCTCAGCTCACGCA3'	64	191
<i>XRCC1</i> , exon 10	A>G, Arg399Gln (rs25487)	Sens: 5'-biotin-AGGAGTGGGTGCTGGACTG3' Anti-sens: 5'CAGTCTGACTCCCCTCCAGATT3' Pyroseq: 5'CGTGTGAGGCCTTACC3'	60	127
<i>ERCC1</i> , exon 4	C>T, Asn118Asn (rs11615)	Sens: 5'-biotin-CCTGTGGTTATCAAGGGTCA3' Anti-sens: 5'AGCACATAGTCGGGAATTACG3' Pyroseq: 5'AATTCCCAGGGCAC3'	60	111
<i>ERCC2</i> , exon 23	A>C, Lys751Gln (rs13181)	Sens: 5'-biotin-TGGAGCAGCTAGAATCAGA3' Anti-sens: 5'CCTGCGATTAAGGCTGTGGA3' Pyroseq: 5'GCAATCTGCTCTATCCT3'	58	98

II-2-3- Conditions pratiques de l'amplification

L'amplification a été réalisée dans un mélange réactionnel de 50µl contenant 100ng d'ADN génomique, 1X du tampon de PCR, 3mM MgCl₂, 200 µM de chaque dNTP, 200µM de chaque amorce, une unité (U) de *Taq* DNA polymérase (Invitrogen).

Pour chaque série d'amplification, il est nécessaire de réaliser en parallèle un témoin négatif ne contenant pas d'ADN afin de vérifier l'absence de contamination éventuelle des réactifs utilisés. L'amplification a été réalisée dans un thermocycleur Veriti (Applied biosystem, MJ Research). Les conditions d'amplifications comportent successivement une étape de dénaturation initiale à 95°C pendant 5 minutes, suivie de 45 cycles comprenant chacun une dénaturation à 94°C pendant 20 secondes pour les gènes (*XRCC1*, *ERCC1*, *ERCC2*) ou 40 secondes pour le gène *XRCC3*, une étape d'hybridation à X°C (selon les amorces utilisées) durant 20 secondes pour les gènes (*XRCC1*, *ERCC1*, *ERCC2*) ou 40 secondes pour le gène *XRCC3* et une étape d'élongation de 20 secondes à 72°C. Après les 45 cycles d'amplification, la réaction se termine par une étape d'élongation à 72°C pendant 5 minutes permettant d'achever l'élongation de tous les brins d'ADN néo-synthétisés.

Afin de réaliser le contrôle de l'amplification du fragment cible, 5µl de chaque produit de PCR sont analysés sur un gel d'agarose à 2 % et soumis à une migration électrophorétique à 100 Volt (V) pendant 20 minutes en présence de bromure d'éthidium (BET) (0.5µg/ml). Un marqueur de taille (50 pb ou 100 pb, Promega) a été utilisé pour permettre la détermination de la taille des fragments d'ADN amplifiés. Les résultats ont été visualisés sous UV grâce à la fluorescence du BET incorporé dans le gel. Le gel a été photographié à l'aide d'un appareil polaroid adapté sous les UV d'un transilluminateur.



II-2-4- Protocole expérimental du pyroséquençage

La réaction du pyroséquençage a été effectuée grâce à l'utilisation du kit « Pyro Gold Reagents PSQ 96 MA » (Biotage) et elle est décomposée en plusieurs étapes dont le déroulement est présenté par la suite :

a- Immobilisation de l'ADN sur les billes

Cette étape se déroule en microplaque de 96 puits. Elle s'effectue à l'aide de billes de sépharose recouvertes de streptavidine (*Streptavidin SepharoseTM high performance*, Amersham Bioscience). Les amplimères de chaque échantillon sont déposés dans chaque puits et ils sont incubés et agités à 1300 rpm durant 5 minutes à température ambiante avec 3µl de billes et 37µl de tampon de fixation (10mM Tris Base, 2M NaCl, 1mM EDTA, 0,1 % Tween 20, pH 7,6).

b- Séparation des brins

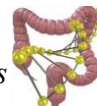
La séparation des fragments est effectuée à l'aide d'un Pyromark Q96 Vacuum Workstation Vacuum Prep Tool (Biotage) par des bains de dénaturation et lavage du brin d'ADN amplifié. Les doubles brins liés aux billes de streptavidine sépharose sont isolés du milieu réactionnel par aspiration sur des filtres retenant les billes. Les fragments sont d'abord lavés à l'éthanol 70% et ensuite dénaturé grâce à l'utilisation d'une solution de NaOH dénaturante. Enfin, le filtre est lavé par une solution de lavage (Tris 10mM, pH 7,6) afin d'éliminer les restes de sonde d'ADN non biotinylés. Après dénaturation des brins, seuls les brins biotinylés couplés aux billes restent sur les filtres.

c- Hybridation de l'amorce de pyroséquençage

Dans une plaque de 96 µl, un mélange de 1,5 µl d'amorce de séquence et 38,5µl de tampon d'hybridation est déposé dans chaque puits. Les brins biotinylés sont plongés dans les puits mettant ainsi en contact l'ADN biotinylé simple brin à séquencer et l'amorce de séquence puis suit une étape d'hybridation à 70°C pendant 15minutes. Après l'hybridation la plaque est placée dans le pyroséquenceur.

d- Le séquençage

La réaction de séquençage a été réalisée sur le pyroséquenceur PSQ 96MA Systems(Biotage) grâce à l'utilisation du kit *PyroMark Gold Q96 Reagents* (Qiagen, Hilden, Allemagne) « Pyro Gold Reagents PSQ 96 MA » (Biotage) qui comprend les enzymes, les substrats et les nucléotides nécessaires à la réaction. Ces réactifs sont introduits dans une cartouche adaptée à l'appareil PSQTM96 MA (Pyrosequencing AB, Uppsala, Sweden).



Le calcul du volume de chaque solution à introduire dans la cartouche pour l'analyse est réalisé automatiquement à l'aide du logiciel PSQ 96MA, la version 2.1 selon le SNP analysé. L'exploitation des résultats est réalisée avec le logiciel Q-CpG (V.1.0.9, Qiagen).

II-3- Analyse statistique

La première démarche statistique consiste à caractériser les populations cas et témoins en décrivant leur composition selon l'âge et le sexe. L'âge est une variable quantitative qui a été exprimée en moyenne (M) \pm déviation standard (DS). Les deux populations cas et témoins ont été réparties en 2 classes d'âge: la classe des individus de moins de 50 ans (< 50 ans) et la classe des individus de 50 ans et plus (\geq 50 ans). Toutes les données ont été décrites en nombre (n) et pourcentage (%). La comparaison de la distribution des deux variables entre les deux populations a été effectuée à l'aide du test d'homogénéité du Khi2 (χ^2) de Pearson.

Pour chaque polymorphisme (SNP), les deux populations ont été classées en 3 groupes: homozygotes sauvages, hétérozygotes et homozygotes variants. Le calcul des fréquences alléliques et génotypiques a été effectué à partir du nombre de sujet exprimant l'allèle ou le génotype en question. La vérification du respect de l'équilibre de Hardy Weinberg dans la distribution des polymorphismes au sein de la population des témoins a été réalisée grâce à un test de conformité de Khi2 (χ^2). Ce test a été utilisé pour comparer la fréquence de chacun des allèles avec sa fréquence attendue selon les lois de répartition homogène dans la population générale de Hardy- Weinberg.

L'évaluation de l'association des polymorphismes et du risque de développer un CCR a été réalisée par l'utilisation du modèle de régression logistique simple. Dans la régression logistique, l'évaluation de l'influence de ces polymorphismes est déterminée en calculant l'odds ratio (OR) de chaque polymorphisme avec un intervalle de confiance (IC) fixé à 95%. L'OR est une mesure statistique qui permet d'estimer l'association en comparant les allèles et/ou les génotypes du groupe « patient » et du groupe « témoin ». Un allèle variant protecteur se traduit par un OR compris entre 0 et 1 et si l'OR est supérieur à 1, l'allèle variant est prédisposant. L'association est jugée statistiquement significative lorsque l'intervalle de confiance à 95 % de l'OR ne comporte pas la valeur 1. Les résultats sont considérés significatifs lorsque la valeur de la probabilité p (valeur p) est égale ou inférieure à 0,05 ($p \leq 0,05$). La valeur p représente le degré de signification qui correspond à la probabilité qu'un résultat d'une étude épidémiologique puisse être attribué au seul hasard. Le test exact de Fisher est utilisé lorsque les effectifs sont faibles (<5).



Une analyse des haplotypes a été menée afin de déterminer si un haplotype aurait pu être associé à un risque accru de CCR. La construction des haplotypes a été réalisée par le logiciel Thesias (Testing Haplotype EffectS In Association Studies) (Tregouet & Garelle, 2007).

Les différentes analyses statistiques sont réalisées grâce au logiciel statistique Epi Info versionTM version 7 (Dean et al, 2011).

*Résultats
et discussion*



I- Résultats

I-1- Description de la population d'étude

Les caractéristiques des sujets malades et sains ont été rapportées dans le tableau III. Les sujets ont été répartis en fonction du sexe et de deux tranches d'âge (<50 ans et \geq 50 ans).

Les sujets témoins sont au nombre de 148 répartis entre: 94 sujets de sexe masculin soit 63,51% et 54 sujets de sexe féminin soit 36,49%. Les 129 malades se répartissent en 84 hommes (65,12%) et 45 femmes (34,88%). En comparant l'incidence du CCR entre les hommes et les femmes, il semblerait que les hommes en soient plus souvent atteints que les femmes (65 % contre 34 %).

L'âge moyen des patients était de $53,89 \pm 12,75$ ans tandis que l'âge moyen des contrôles était de $43,33 \pm 11,49$ ans, l'incidence du CCR étant plus élevée chez les personnes de plus de 50 ans que chez celles de moins de 50 ans.

Il n'y avait pas de différence statistiquement significative dans la distribution selon l'âge et le sexe entre les cas et les témoins, ce qui indique une population d'étude bien identifiée ($p > 0,05$).

Tableau III: Répartition des sujets témoins et malades CCR selon l'âge et le sexe

Variable	Témoins ($n=148$)		Patients CCR ($n=129$)		Valeur p
	n	(%)	n	(%)	
Sexe					
Homme	94	(63,51)	84	(65,12)	0,78
Femme	54	(36,49)	45	(34,88)	
Age (années)					
<50	72	(48,65)	49	(37,98)	0,07
\geq 50	76	(51,35)	80	(62,02)	
Moyenne \pm DS	43,3 \pm 11,5		53,9 \pm 12,7		

n: nombre; %: pourcentage; *DS*: deviation standard



I-2- Résultats d'amplification

Les résultats de différentes amplifications des régions d'intérêt des quatre gènes ont révélé après électrophorèse sur gel d'agarose la présence des bandes correspondant aux tailles attendues des amplimères (Figure 21).

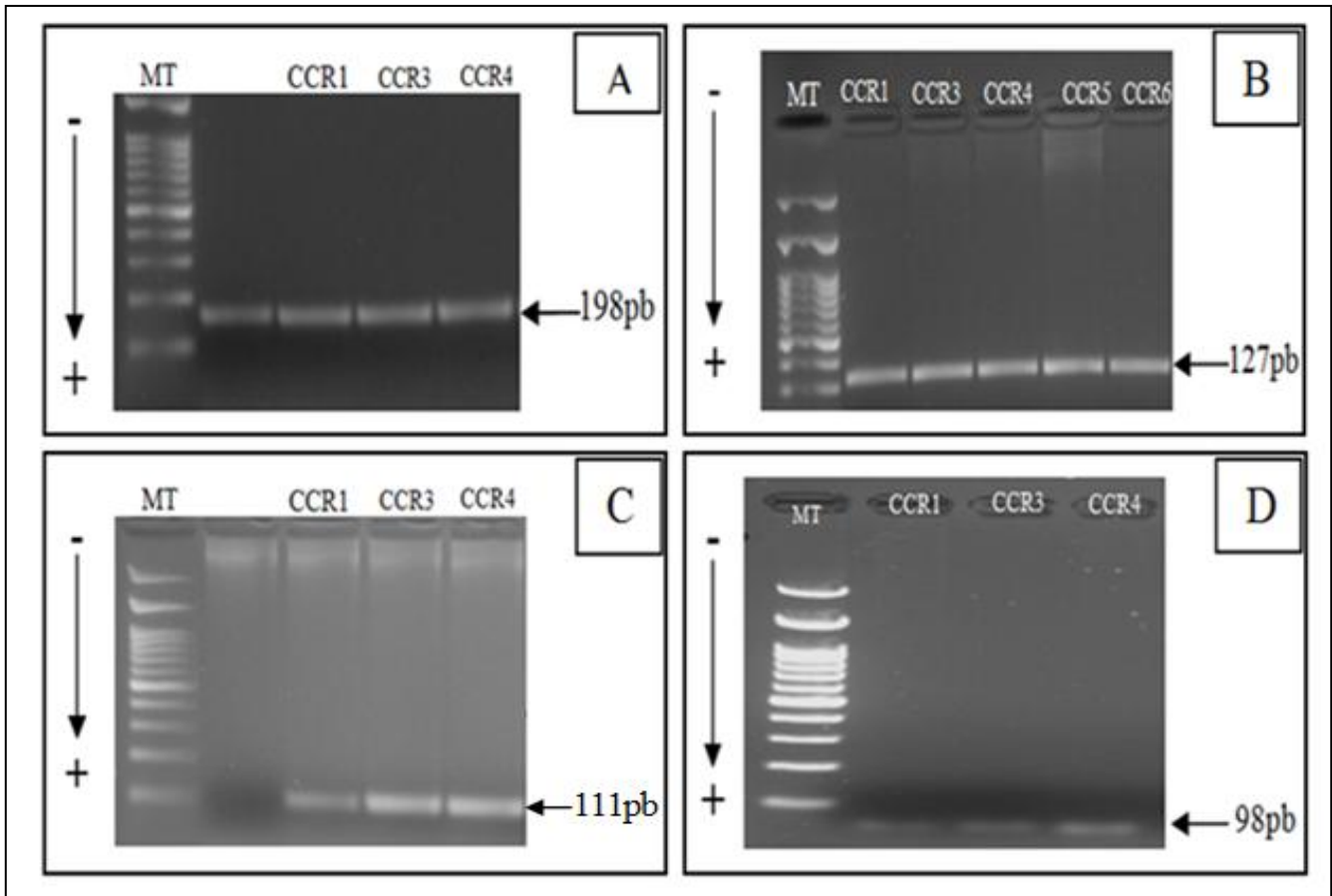


Figure 21: Tests d'amplification obtenus pour quelques échantillons.

A : Test d'amplification du 7^{ème} exon du gène *XRCC3*.

B : Test d'amplification du 10^{ème} exon du gène *XRCC1*.

C : Test d'amplification du 4^{ème} exon du gène *ERCC1*.

D : Test d'amplification du 23^{ème} exon du gène *ERCC2*.

(MT : Marqueur de taille de 100pb; CCR1, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6: sujets atteints de CCR).



I- 3- Résultat du génotypage par pyroséquençage

L'analyse du génotypage par pyroséquençage nous a permis de distinguer les homozygotes des hétérozygotes pour chacun des SNP explorés. La figure 22 montre un exemple de résultat de génotypage obtenu pour le SNP c.354C >T du gène *ERCC1* (rs11615).

En ce qui concerne tous les gènes, la réaction de PCR est réalisée sur le brin antisens. Ceci implique la retranscription par complémentarité pour obtenir la séquence définitive : (Exemple : G>A en C>T pour *ERCC1*).

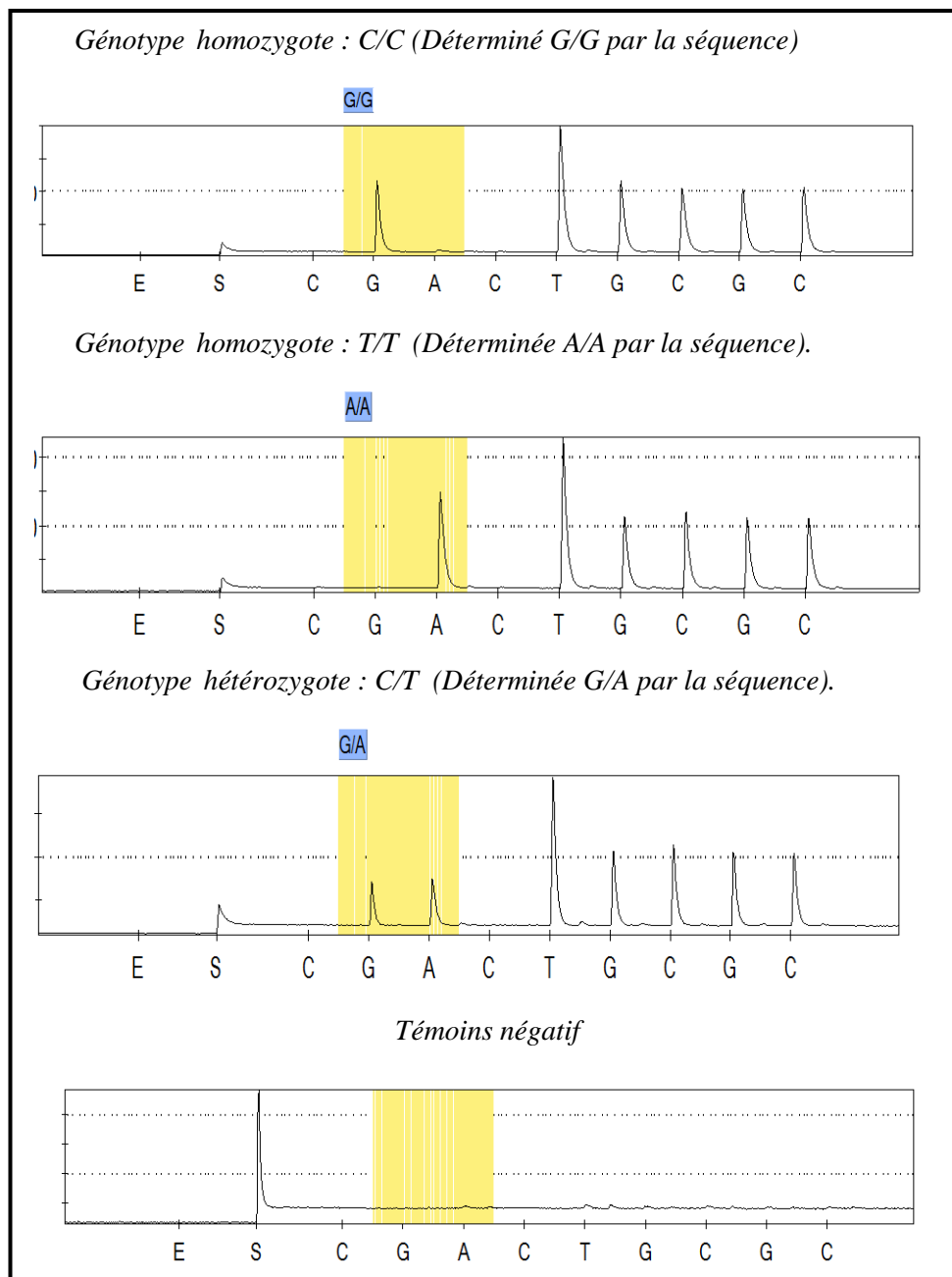


Figure 22 : Exemple d'un pyrogramme obtenu pour le SNP rs11615 du gène *ERCC1*.



I- 4- Impact du polymorphisme c.1196G>A du gène *XRCC1* sur le risque de survenue du CCR

Le tableau IV présente la distribution des fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme c.1196G>A (*p.Arg399Gln*) du gène *XRCC1* chez 129 malades et 148 témoins de la population de l'Ouest Algérien, le groupe des témoins étant en équilibre d'Hardy-Weinberg ($\chi^2= 0,97, p=0,32$).

La distribution allélique de ce polymorphisme chez la population de témoins nous a révélé que l'allèle G (*Arg³⁹⁹*) est l'allèle majeur et que l'allèle A (*Gln³⁹⁹*) est l'allèle mineur; leurs fréquences sont respectivement de 0,75 et 0,25. Chez les patients, les fréquences de ces deux allèles sont de 0,80 et 0,20.

Concernant la distribution des génotypes de ce SNP, la fréquence du génotype (GG) est de 61,24% chez les cas contre 45,72% chez les témoins. Celle du génotype (AG) est de 36,43% chez les cas contre 40,54% chez les témoins et celle du génotype (AA) est de 2,32% chez les cas et de 4,72% chez les témoins (Tableau IV).

Les fréquences alléliques et génotypiques de ce SNP ont été comparées entre les cas et les contrôles. L'analyse statistique ne démontre aucune différence significative dans la distribution des fréquences alléliques et génotypiques entre les cas et les témoins ($p>0,05$). Aucune association n'a été révélée au niveau allélique ou génotypique entre le CCR et ce polymorphisme.

Tableau IV: Distribution des fréquences alléliques et génotypiques du SNP *XRCC1* c.1196G>A chez les témoins et les patients CCR

	Témoins (<i>n=148</i>)		Patients CCR (<i>n=129</i>)		OR (95% IC)	Valeur <i>p</i>
	n	(%)	n	(%)		
Génotypes						
GG	81	(45,72)	79	(61,24)	1 ^a	
GA	60	(40,54)	47	(36,43)	0,80 (0,49 - 1,31)	0,38
AA	7	(4,72)	3	(2,32)	0,43 (0,07- 2,01)	0,33
Allèles						
G	222	(75)	205	(80)	1 ^a	
A	74	(25)	53	(20)	0,77 (0,51- 1,15)	0,21

n: nombre, %: fréquence, OR: odds ratio, IC: Intervalle de confiance, *p*: signification statistique, *a*: génotype ou allèle de référence.



I-5 -Impact du polymorphisme c.722C>T du gène *XRCC3* sur le risque de survenue du CCR

Le tableau V présente la distribution des fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme c.722C>T (p.Thr241Met) du gène *XRCC3* chez 129 cas CCR comparés à 148 témoins de la population de l'Ouest Algérien. Le groupe des témoins est en équilibre d'Hardy-Weinberg ($\chi^2= 0,109$, $p=0,74$).

La distribution des fréquences alléliques chez les témoins montre que l'allèle C (Thr²⁴¹) est l'allèle majeur et l'allèle T (Met²⁴¹) est l'allèle mineur. Les fréquences des allèles C et T sont similaires chez les cas et les témoins avec les valeurs respectives de 0,61 et 0,38.

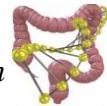
La distribution génotypique indique que 34,9 % des patients CCR sont homozygotes (CC), 52,7% sont hétérozygotes (CT) et 12,4% sont homozygotes (CC). Dans le cas des témoins, 37,2 % sont de génotype (CC), 48,6 % sont de génotype (CT) et 14,2 % sont de génotype (TT).

Lorsque nous avons évalué l'association entre *XRCC3* et le risque de CCR, il n'y avait pas de différence statistiquement significative dans la distribution des fréquences génotypiques et alléliques entre les cas et les témoins ($p> 0,05$). Aucune association n'existe donc entre ce polymorphisme et la survenue de CCR dans notre population.

Tableau V: Distribution des fréquences alléliques et génotypiques du SNP *XRCC3* c.722C>T chez les témoins et les patients CCR.

	Témoins (n=148)		Patients CCR (n=129)		OR (95% IC)	Valeur p
	n	(%)	n	(%)		
Génotypes						
CC	55	(37,2)	45	(34,9)	1 ^a	
CT	72	(48,6)	68	(52,7)	1,15 (0,69 - 1,93)	0,58
TT	21	(14,2)	16	(12,4)	0,93 (0,43 - 1,99)	0,85
Allèles						
C	182	(61)	158	(61)	1 ^a	
T	114	(38)	100	(38)	1,01 (0,72 - 1,42)	0,95

n: nombre, %: fréquence, OR: odds ratio, IC: Intervalle de confiance, p: signification statistique, a: génotype ou allèle de référence.



I- 6- Impact du polymorphisme c.354C>T du gène *ERCCI* sur le risque de survenue du CCR

La distribution des fréquences alléliques et génotypiques pour le polymorphisme c.354C>T (p.Asn118=) du gène *ERCCI* parmi les sujets de notre étude est reportée sur le tableau VI. Le test χ^2 montre que la population témoin est en équilibre de Hardy-Weinberg ($\chi^2= 0,46, p=0,49$).

L'allèle majeur dans notre population est l'allèle C tandis que l'allèle mineur est l'allèle T. En effet, la fréquence de l'allèle C est de 0,58 chez les témoins contre 0,55 chez les malades. Celle de l'allèle T est de 0,42 chez les sujets sains contre 0,45 chez les cas.

La distribution des fréquences génotypiques chez les témoins est de 35,13%, 45,94% et 18,91% respectivement pour les génotypes (CC),(CT) et (TT). Chez la population des cas, les fréquences génotypiques sont de 30,23% pour le génotype (CC), 48,83% pour le génotype (CT) et 20,93% pour le génotype (TT).

Les fréquences alléliques et génotypiques de ce SNP ont été comparées entre les cas et les contrôles. Cette comparaison indique que leur distribution est homogène et ne présente aucune différence statistiquement significative ($p>0,05$). Nos résultats montrent une absence d'association entre ce SNP et le CCR dans notre population.

Tableau VI: Distribution des fréquences alléliques et génotypiques du SNP *ERCCI* c.354C>T chez les témoins et les patients CCR.

	Témoins		Patients CCR		OR (95% IC)	Valeur <i>p</i>
	n	(%)	n	(%)		
Génotypes						
CC	52	(35,13)	39	(30,23)	1 ^a	
CT	68	(45,94)	63	(48,83)	1,23 (0,72 - 2,11)	0,44
TT	28	(18,91)	27	(20,93)	1,28 (0,65- 2,51)	0,46
Allèles						
C	172	(58)	141	(55)	1 ^a	
T	124	(42)	117	(45)	1,15 (0,82-1,61)	0,41

n: nombre, %: fréquence, OR: odds ratio, IC: Intervalle de confiance, *p*: signification statistique, *a*: génotype ou allèle de référence.



I- 7- Impact du polymorphisme c.2251A>C du gène *ERCC2* sur le risque de survenue du CCR

Le tableau VII montre la distribution des fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme c.2241A>C (p.Lys751Gln) du gène *ERCC2* chez 129 patients CCR et à 148 sujets sains de la population de l'Ouest Algérien. Dans le groupe des témoins, la distribution génotypique est conforme à l'équilibre d'Hardy-Weinberg ($\chi^2=0,53$, $p=0,46$).

Nos résultats montrent que la fréquence de l'allèle A (Lys⁷⁵¹) est supérieure à celle de l'allèle C (Gln⁷⁵¹) dans notre population témoin (74% et 26% respectivement), ceci indique que l'allèle A est l'allèle majeur et l'allèle C est l'allèle mineur. Chez les malades, les allèles A et C ont des fréquences alléliques respectives de 71% et 29%.

Le tableau VII montre que chez les témoins, 82 (55,4%) sont homozygotes (AA), 54 (36,5%) sont hétérozygotes (AC) et 12 (8,1%) sont homozygotes (CC). Chez les patients CCR, le génotype (AA) a été retrouvé à une fréquence de 46,9%, le génotype (AC) à 43,4% et le génotype (CC) à 7%.

Après comparaison des fréquences alléliques et génotypiques entre les cas et les témoins, il ressort qu'il n'existe aucune différence statistiquement significative dans la distribution des fréquences alléliques et génotypiques ($p>0,05$). Ces résultats suggèrent qu'il n'y a pas d'association entre ce polymorphisme et le risque de CCR dans notre population.

Tableau VII: Distribution des fréquences alléliques et génotypiques du SNP *ERCC2* c.2251A>C chez les témoins et les patients CCR.

	Témoins ($n=148$)		Patients CCR ($n=129$)		OR (95% IC)	Valeur p
	n	(%)	n	(%)		
Génotypes						
AA	82	(55,4)	64	(49,6)	1 ^a	
AC	54	(36,5)	56	(43,4)	1,33 (0,81 - 2,18)	0,26
CC	12	(8,1)	9	(7)	0,96 (0,38 - 2,42)	0,93
Allèles						
A	218	(74)	184	(71)	1 ^a	
C	78	(26)	74	(29)	1,124 (0,77-1,63)	0,54

n: nombre, %: fréquence, OR: odds ratio, IC: Intervalle de confiance, p : signification statistique, a: génotype ou allèle de référence.



I-8- Impact des génotypes combinés des polymorphismes et risque de survenue de CCR

Afin d'évaluer l'effet combiné des polymorphismes en question sur le risque de CCR, plusieurs génotypes combinés ont été construits. Les analyses statistiques de nos données ont révélé un risque accru statistiquement significatif de cancer colorectal chez les malades porteur du génotype combiné *XRCC3* (CT) et *ERCC2* (CC) (OR = 7,33, IC 95% (1,16-46,23); $p = 0,02$) (Tableau VIII).

I-9- Etude de l'impact des haplotypes des polymorphismes rs25487, rs11615 et rs13181 sur le risque de survenue de CCR

Lorsque les gènes *XRCC1*, *ERCC1* et *ERCC2* se trouvent sur le même chromosome, une analyse des haplotypes a été menée afin de déterminer si un haplotype aurait pu être associé à un risque accru de CCR. Aucune association n'a été retrouvée entre les haplotypes di- ou tri-allélique et le CCR en comparant les témoins aux sujets atteints de CCR (Tableaux IX).

L'ensemble des résultats de l'étude des deux polymorphismes des gènes *XRCC3* et *ERCC2* a fait l'objet d'un article original intitulé : « No association between *XRCC3* Thr241Met and *XPB* Lys751Gln polymorphisms and the risk of colorectal cancer in West Algerian population : a case-control study ». Cet article est publié dans la revue *Medical oncology* Volume 31 N° 05, Avril 2014 (Moghtit et al, 2014).



Tableau VIII : Analyse des génotypes combinés.

<i>XRCC1</i> <i>rs25487</i>	<i>XRCC3 rs861539</i>											
	CC				CT				TT			
	T n	M n	OR(95%IC)	<i>p</i>	T n	M N	OR(95%IC)	<i>p</i>	T n	M n	OR(95%IC)	<i>p</i>
GG	31	32	1 ^a	ns	39	39	0,96(0,49-1,88)	ns	11	8	0,70(0,25-1,98)	ns
GA	18	11	0,59(0,24-1,45)	ns	33	27	0,79(0,39-1,61)	ns	9	8	0,86(0,29-2,51)	ns
AA	6	1	0,1(0,003-1,48)	ns	0	2	/	ns	1	0	/	ns
<i>XRCC1</i> <i>rs25487</i>	<i>ERCC1 rs11615</i>											
	CC				CT				TT			
	T n	M n	OR(95%IC)	<i>p</i>	T N	M N	OR(95%IC)	<i>p</i>	T n	M n	OR(95%IC)	<i>p</i>
GG	31	22	1 ^a	ns	35	38	1,52(0,74-3,12)	ns	15	18	1,69(0,70-4,06)	ns
GA	19	15	1,11(0,46-2,65)	ns	28	24	1,20(0,55-2,61)	ns	13	9	0,97(0,35-2,67)	ns
AA	2	2	1,4(0,09-20,69)	ns	5	1	0,28(0,005-2,82)	ns	0	0	/	ns
<i>XRCC1</i> <i>rs25487</i>	<i>ERCC2 rs13181</i>											
	AA				AC				CC			
	T n	M n	OR(95%IC)	<i>p</i>	T N	M N	OR(95%IC)	<i>p</i>	T n	M n	OR(95%IC)	<i>p</i>
GG	44	38	1 ^a	ns	30	38	1,46(0,76-2,79)	ns	7	3	0,49(0,07-2,38)	ns
GA	34	23	0,78(0,39-1,55)	ns	21	18	0,99(0,46-2,13)	ns	5	6	1,38(0,39-4,91)	ns
AA	4	3	0,86(0,12-5,49)	ns	3	0	/	ns	0	0	/	ns
<i>XRCC3</i> <i>rs861539</i>	<i>ERCC1 rs11615</i>											
	CC				CT				TT			
	T n	M n	OR(95%IC)	<i>p</i>	T N	M N	OR(95%IC)	<i>p</i>	T n	M n	OR(95%IC)	<i>p</i>
CC	13	15	1 ^a	ns	28	17	0,52(0,20-1,36)	ns	11	7	0,55(0,17-1,83)	ns
CT	31	17	0,47(0,18-1,22)	ns	32	37	1,002(0,42-2,41)	ns	5	9	1,56(0,14-5,84)	ns
TT	11	13	1,02(0,34-3,05)	ns	12	14	1,01(0,34-2,94)	ns	5	0	/	ns
<i>XRCC3</i> <i>rs861539</i>	<i>ERCC2 rs13181</i>											
	AA				AC				CC			
	T n	M n	OR(95%IC)	<i>p</i>	T n	M N	OR(95%IC)	<i>p</i>	T n	M n	OR(95%IC)	<i>p</i>
CC	11	6	1 ^a	ns	9	9	1,83(0,47-7,12)	ns	1	1	1,83(0,09-34,8)	ns
CT	40	37	1,67(0,56-5,04)	ns	30	23	1,405(0,45-4,36)	ns	2	8	7,33(1,16-46,2)	0,02*
TT	31	21	1,24(0,39-3,87)	ns	15	23	2,81(0,85-9,22)	ns	9	1	0,20(0,02-2,01)	ns
<i>ERCC1</i> <i>rs11615</i>	<i>ERCC2 rs13181</i>											
	AA				AC				CC			
	T n	M n	OR(95%IC)	<i>p</i>	T n	M N	OR(95%IC)	<i>p</i>	T n	M n	OR(95%IC)	<i>P</i>
CC	36	27	1 ^a	ns	13	11	1,12(0,43-2,90)	ns	3	1	0,4(0,008-5,95)	Ns
CT	33	30	1,21(0,60-2,44)	ns	32	31	1,29(0,64-2,6)	ns	4	2	0,66(0,05-5,07)	Ns
TT	13	7	0,71(0,25-2,04)	ns	9	14	2,07(0,78-5,49)	ns	5	6	1,6(0,44-5,79)	ns

T : témoins, *M* : malades, *n*:nombre, *OR*: odds ratio, *IC*: Intervalle de confiance, *p*: signification statistique, *a*: génotype combiné de référence, ns : non significatif, * : signification statistique.



Tableau IX : Etude haplotypique.

Haplotypes	Témoins % (n)	Malades % (n)	OR (IC95%)	Valeur p
<i>ERCC2/ERCC1</i>				
AC	0,48 (142)	0,47 (121)	1 ^a	
AT	0,26 (77)	0,25 (65)	0,99 (0,65-1,49)	0,96
CC	0,10 (30)	0,07 (18)	0,70 (0,37-1,32)	0,27
CT	0,16 (47)	0,21 (54)	1,34 (0,85-2,13)	0,20
<i>ERCC2/XRCC1</i>				
AG	0,55 (163)	0,56 (145)	1 ^a	
AA	0,19 (56)	0,15 (39)	0,78 (0,49-1,24)	0,30
CG	0,20 (59)	0,23 (59)	1,12 (0,73-1,72)	0,58
CA	0,06 (18)	0,06 (15)	0,94 (0,45-1,92)	0,85
<i>ERCC1/XRCC1</i>				
CG	0,44 (130)	0,41 (106)	1 ^a	
CA	0,14 (41)	0,12 (31)	0,92 (0,54-1,57)	0,78
TG	0,30 (89)	0,38 (98)	1,35 (0,91-1,98)	0,12
TA	0,11 (33)	0,08 (21)	0,78 (0,42-1,42)	0,42
<i>ERCC2/ERCC1/XRCC1</i>				
ACG	0,32 (95)	0,30 (77)	1 ^a	
ACA	0,10 (32)	0,08 (21)	0,80 (0,43-1,52)	0,5
ATG	0,23 (68)	0,26 (67)	1,21 (0,77-1,91)	0,39
ATA	0,07 (23)	0,07 (18)	0,96 (0,48-1,91)	0,92
CCG	0,11 (33)	0,12 (31)	1,15 (0,65-2,05)	0,61
CCA	0,04 (12)	0,03 (8)	0,82 (0,32-2,11)	0,68
CTG	0,08 (24)	0,11 (28)	1,43 (0,77-2,68)	0,25
CTA	0,03 (9)	0,03 (8)	1,09 (0,4-2,97)	0,85

OR: odds ratio, IC: Intervalle de confiance, p: signification statistique, a: haplotype de référence.



No association between *XRCC3* Thr241Met and *XPD* Lys751Gln polymorphisms and the risk of colorectal cancer in West Algerian population: a case–control study

Fatima Zohra Moghtit · Meriem Samia Aberkane · Valérie Le Morvan · Lotfi Louhibi · Ricardo Bellot · Abdelkader Bousahba · Ahlem Megaiz · Mostefa Fodil · Sounnia Mediène-Benchekor · Faouzia Zemani-Fodil · Abdallah Boudjema · Jacques Robert · Nadhira Saidi-Mehtar

Received: 20 February 2014 / Accepted: 25 March 2014
© Springer Science+Business Media New York 2014

Abstract Colorectal cancer (CRC) is a complex and multifactorial disease, in which genetic and environmental factors both seem to play a part. Many epidemiological studies have explored the association between genetic polymorphisms of X-ray repair cross-complementing group 3 (*XRCC3*) (Thr241Met) and Xeroderma pigmentosum group D (*XPD*) lysine to glutamine at codon 751 (Lys751Gln) and risk of CRC in various populations; however, the results are controversial. We conducted this case–control study in a West Algerian population to assess the potential role of this genetic polymorphism on the risk of CRC in this population. Genomic

DNA was extracted from blood samples collected from 129 sporadic CRC patients and 148 normal controls. The polymorphisms were determined by pyrosequencing technique. The distribution of *XRCC3* Thr241Met and *XPD* Lys751Gln genotypes among controls did not differ significantly from those predicted by the Hardy–Weinberg distribution ($p > 0.05$). There were no significant differences in the genotypes distribution and allele frequencies between CRC patients and controls. A significant association was found between the combined heterozygous of *XRCC3* and homozygous variant of *XPD* gene and CRC. This is the first study on DNA repair genetic polymorphisms in West Algerian population, and it suggests that the *XRCC3* Thr241Met and *XPD* Lys751Gln polymorphisms may not be associated with the CRC risk in this population.

F. Z. Moghtit (✉) · M. S. Aberkane · L. Louhibi · M. Fodil · S. Mediène-Benchekor · F. Zemani-Fodil · A. Boudjema · N. Saidi-Mehtar
Laboratoire de Génétique Moléculaire et Cellulaire,
Département de Génétique Moléculaire Appliquée, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université des Sciences et de la Technologie d'Oran–Mohamed BOUDIAF-USTOMB, BP 1505,
El M'naouer, 31000 Oran, Algeria
e-mail: fatima.moghtit@gmail.com;
fatima.moghtit@univ-usto.dz

M. S. Aberkane
Département de Pharmacie, Faculté de Médecine, Université d'Oran, BP 1524, El M'naouer, 31000 Oran, Algeria

V. Le Morvan · R. Bellot · J. Robert
Laboratoire de Pharmacologie des Agents anticancéreux,
INSERM U916, Institut Bergonié, 229 cours de l'Argonne,
33076 Bordeaux cedex, France

A. Bousahba · A. Megaiz
Centre Anti-Cancer (Emir Abdelkader), Route de Misserghine,
31000 Oran, Algeria

M. Fodil · S. Mediène-Benchekor
Département de Biotechnologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université d'Oran, BP 1524, El M'naouer,
31000 Oran, Algeria

Keywords *XRCC3* · *XPD* · Polymorphism · Susceptibility · Colorectal cancer · West Algerian population

Introduction

Colorectal cancer (CRC) is one of the most frequent common types of malignancy as well as leading cause of death around the world, accounting for nearly one million new cases diagnosed and half a million deaths annually [1]. Incidence rates vary widely according to region: it is high in developed countries and seems to be low in developing countries [2]. This type of cancer is obviously a significant public health problem in Algeria. In Western Algeria, the annual incidence of CRC approaches 10 cases per 100,000 inhabitants (8.4/100,000 males and 9.5/100,000 females) and it ranks third for all cases of cancer in both men and women [3].



Most cases of CRCs arise sporadically, indicating that cancer occurs in individuals without a family history of the disease. The sporadic CRC has a complex etiology, believed to be caused by a combination of multiple genetic and environmental factors that expose certain individuals at a higher risk [4]. Numerous association studies of CRC susceptibility genes have revealed many critical genes, including those involved in DNA damage repair [5, 6].

DNA repair plays an important role in the maintenance of genomic stability by correcting DNA alterations caused by endogenous and exogenous genotoxic agents. Depending on the type of the damage, five major DNA repairing mechanisms have been described in mammalian cells: base excision repair (BER), nucleotide excision repair (NER), double-strand break repair (DSBR), mismatch repair (MMR) and inter-strand crosslink repair (ICLR) [7, 8]. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) in DNA repair genes may be associated with reduced DNA repair capacity and may therefore be related to the development of cancer. Among known genetic polymorphisms in DNA repair genes, X-ray repair cross-complementing group 3 (*XRCC3*) and the Xeroderma pigmentosum group D (*XPD*, *ERCC2*) have been the most frequently studied.

The *XRCC3* gene (MIM:600675), which is located at chromosome 14q32.3, encodes a member of an emerging family of Rad-51 related proteins that participates in the repair of DNA double-strand breaks via homologous recombination DSBR to maintain chromosome stability [9, 10]. *XRCC3* is a polymorphic gene where many SNPs have been already described. The most common polymorphism consists in a C1860T transition (rs861539) at exon 7 resulting in an amino acid change at codon 241 (Thr241Met) [11]. This polymorphism has been reported to be associated with the development of some cancers such as bladder [12], skin [13], breast [14], lung and colorectal [15] cancers.

The *XPD* gene (MIM: 126340), also known as excision repair cross-complementation group 2 (*ERCC2*), is mapped at chromosome 19q13.3 and is involved in transcription initiation and in the NER pathway which repairs bulky adducts and UV-induced DNA damage. The *XPD* gene product has ATP-DNA dependant helicase activity and also acts as a subunit of the basal transcription factor TF2/TFIIH complex [16]. Mutations in *XPD* can alter its helicase activity, indicating relatively low DNA repair capacity and thus contribute to the carcinogenesis [17]. A SNP at the exon 23 (A35931C, rs13181), which causes a non-synonymous substitution of Lysine to Glutamine at codon 751 (Lys751Gln) [11], has been studied extensively for its association with various types of cancer [18–21].

A large number of epidemiological studies in different populations have investigated the role of these polymorphisms on CRC risk, and the results are conflicting. Since

no reported studies are available from Algerian population, we conducted this case–control study to determine the possible effect of *XRCC3* Thr241Met and *XPD* Lys751Gln polymorphisms on the CRC risk in a West Algerian population.

Materials and methods

Study population and sample collection

In this case–control genetic association study, two comparable groups were selected. The case group included a total of 129 unrelated patients diagnosed with sporadic CRC (84 male and 45 female subjects with age range of 27–72 years) treated at the Oran University Hospital Center (CHU) and the Anti-Cancer Center of Oran (CAC), recruited from 2007 to 2012. A questionnaire was administered to each patient in order to gather basic demographic and clinical data smoking habits, alcohol use and personal/family medical history. The control group, composed of 148 normal healthy individuals (94 male and 54 female subjects aged between 25 and 64 years), came from the general population and had no history of any type of cancer. All participants included in the present study were from the Western Algeria and gave their written informed consent before investigation.

Approximately 10 ml of peripheral blood samples were collected in EDTA tubes and stored at -20°C until analysis.

DNA Extraction

Genomic DNA was isolated from peripheral blood leukocytes using standard salting out procedure, involving sodium dodecylsulfate (SDS)/proteinase K digestion followed by ethanol precipitation [22].

SNP genotyping by pyrosequencing

We genotyped all patients and control samples for the *XRCC3* and *XPD* polymorphisms using pyrosequencing technology. First, fragments were directly amplified from genomic DNA with one of the primers biotinylated. Primers for amplification and sequencing were designed using PSQ Assay Design software version 1 (Biotage AB); primer sequences are listed in Table 1.

The polymerase chain reaction (PCR) was carried out in a 96-well plates using a final volume of 50 μl containing 1X PCR buffer, 1.5 mM of MgCl_2 , 0.2 mM dNTPs, 0.2 μM of each primer and 1U Taq DNA polymerase (Invitrogen). Thermal cycling conditions for the *XRCC3* were as follows: 95°C for 5 min, 45 cycles with



Table 1 Primer sequences

SNP	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')	Sequencing primer (5'-3')
<i>XRCC3</i> Thr241Met	^a CGCCTGGTGGTCATCATCGACT	ATACGAGCTCAGGGGTGCAAC	TGCTCAGCTCACGCA
<i>XPD</i> Lys751Gln	^a TGGAGCAGCTAGAATCAGA	CCTGCGATTAAAGGCTGTGGA	GCAATCTGCTCTATCCTC

^a Biotinylated (Biotin group added to the 5' primer)

denaturation at 95 °C for 40 s, annealing at 64 °C for 40 s, extension at 72 °C for 20 s and a final extension at 72 °C for 10 min. For *XPD*, the initial denaturation step was performed at 95 °C for 5 min followed by 45 cycles at 95 °C for 20 s, 58 °C for 20 s, 72 °C for 20 s and finally 5 min at 72 °C.

The biotinylated PCR products were then captured on streptavidin–sepharose-coated beads denatured and washed. The pyrosequencing primer was added and annealed to the captured strand. The pyrosequencing reaction was performed as recommended by the manufacturer's instruction, using PyroMark MD system (Biotage AB) in combination with a SNP Reagent Kit which contained the enzyme, substrate and nucleotides. The sequencing data were analyzed with PSQ 96MA SNP software (Biotage AB).

Statistical analysis

Polymorphic genotypes were categorized into homozygous wild, heterozygous and homozygous variant. A chi-square (χ^2) test was performed for each polymorphism to determine whether the control sample demonstrated Hardy–Weinberg equilibrium and to compare the distribution of genotypes frequencies between CRC cases and controls. The odds ratios (OR) and 95 % confidence interval (CI) were determined with logistic regression analysis in order to evaluate the association between *XRCC3* (Thr241Met) and *XPD* (Lys751Gln) polymorphisms and CRC susceptibility. A *p* value < 0.05 was considered as statistically significant. All statistical analyses were performed with Epi-Info™ version 7 software.

Results

The distribution of gender and age group among study subjects are given in Table 2. The mean age of CRC cases was 53.89 ± 12.75 years while the mean age of controls was 43.33 ± 11.49 years. CRC incidence was higher among individuals more than 50 years compared to those less than 50 years. Comparing the incidence of CRC between males and females, males were more commonly

Table 2 Distribution of sex and age among cases and controls

Variable	Controls (n = 148) n (%)	CRC Patients (n = 129) n (%)	<i>p</i> value
Gender			
Male	94 (63.51)	84 (65.12)	0.78
Female	54 (36.49)	45 (34.88)	
Age (in years)			
<50	72 (48.65)	49 (37.98)	0.07
≥50	76 (51.35)	80 (62.02)	
Mean ± SD	43.3 ± 11.5	53.9 ± 12.7	

n number, % frequency

Table 3 Distribution of genotypes and frequency of alleles of the *XRCC3* Thr241Met polymorphism and its association with risk of colorectal cancer

	Controls (n = 148) n (%)	CRC Patients (n = 129) n (%)	OR (95 % CI)	<i>p</i> value
Genotype				
Thr/Thr	55 (37.2)	45 (34.9)	1 ^a	
Thr/Met	72 (48.6)	68 (52.7)	1.15 (0.69–1.93)	0.58
Met/Met	21 (14.2)	16 (12.4)	0.93 (0.43–1.99)	0.85
Allele				
Thr	182 (61)	158 (61)	1 ^a	
Met	114 (38)	100 (38)	1.01 (0.72–1.42)	0.95

n number, % frequency, OR odds ratio, CI confidence interval, *p* significance

^a Genotype saved as reference category

affected than females (65 vs. 34 %). There was no statistically significant difference in mean age and gender distributions between cases and controls, indicating a well matched study population (*p* > 0.05).

We have determined the frequencies of two non-synonymous polymorphisms: *XRCC3* Thr241Met, *XPD* Lys751Gln in CRC patients and matched controls in order to evaluate their possible association with the risk of CRC. Tables 3 and 4 summarize the distribution of the allele and genotype frequencies between cases and control subjects;



Table 4 Distribution of genotypes and frequency of alleles of the XPD Lys751Gln polymorphism and its association with risk of colorectal cancer

n number, % frequency, *OR* odds ratio, *CI* confidence interval, *p* significance
^a Genotype saved as reference category

	Controls (<i>n</i> = 148) <i>n</i> (%)	CRC Patients (<i>n</i> = 129) <i>n</i> (%)	OR (95 % CI)	<i>p</i> value
Genotype				
Lys/Lys	82 (55.4)	64 (49.6)	1 ^a	
Lys/Gln	54 (36.5)	56 (43.4)	1.33 (0.81–2.18)	0.26
Gln/Gln	12 (8.1)	9 (7.0)	0.96 (0.38–2.42)	0.93
Allele				
Lys	218 (74)	184 (71)	1 ^a	
Gln	78 (26)	74 (29)	1.124 (0.77–1.63)	0.54

Table 5 Combined effect of *XRCC3* and *XPD* genotypes on risk colorectal cancer

n number, % frequency, *OR* odds ratio, *CI* confidence interval, *p* significance
^{*} *p* < 0.05 considered as statistically significant
^a Genotype saved as reference category

Genotype <i>XRCC3</i> – <i>XPD</i>	Controls (<i>n</i> = 148) <i>n</i>	CRC patients (<i>n</i> = 129) <i>n</i>	OR (95 % CI)	<i>p</i> value
Thr/Thr–Lys/Lys	11	6	1 ^a	
Thr/Thr–Lys/Gln	9	9	1.83 (0.47–7.12)	0.38
Thr/Thr–Gln/Gln	1	1	1.83 (0.096–34.8)	0.68
Thr/Met–Lys/Lys	40	37	1.67 (0.57–5.04)	0.34
Thr/Met–Lys/Gln	30	23	1.40 (0.45–4.36)	0.55
Thr/Met–Gln/Gln	2	8	7.33 (1.16–46.23)	0.02*
Met/Met–Lys/Lys	31	21	1.24 (0.40–3.88)	0.71
Met/Met–Lys/Gln	15	23	2.81 (0.86–9.22)	0.08
Met/Met–Gln/Gln	9	1	0.20 (0.02–2.01)	0.14

all distributions were in Hardy–Weinberg equilibrium (Thr241Met: $\chi^2 = 0.109$, $p = 0.741$; Lys751Gln: $\chi^2 = 0.533$, $p = 0.465$). There were no significant differences in the genotypes distribution and allele frequencies between cases and controls ($p > 0.05$).

The results of the gene–gene interaction of *XRCC3* Thr241Met and *XPD* Lys751Gln genotypes of study subjects are shown in Table 5. There was a statistically significant increase in risk of CRC in cases carrying combined *XRCC3* Thr/Met and *XPD* Gln/Gln genotypes (OR = 7.33, 95 % CI 1.16–46.23, $p = 0.02$).

Discussion

In the present work, we conducted a case–control study consisting of 129 confirmed CRC cases and 148 controls to investigate the relationship between the functional polymorphisms *XRCC3* Thr241Met and *XPD* Lys751Gln and the risk of CRC in a Western Algerian population. In addition, we compared the allelic frequencies of the *XRCC3* and *XPD* genes variants in our population to those observed in different countries. To our knowledge, this is the first time that the association of these two

polymorphisms with CRC is analyzed in an Algerian population sample.

XRCC3 protein facilitates the formation of a nucleoprotein filament complex with *RAD51-C* that assists *RAD51*-mediated strand invasion [9, 10, 23]. *XRCC3* mutant cells show a high frequency of multiple centrosomes and abnormal spindle formation, and present increased sensitivity to DNA damaging agents [24]. Previous studies have shown that a common polymorphism at codon 241 of *XRCC3* gene (Thr to Met) modifies the characteristics of the protein. The *XRCC3* Met²⁴¹ variant allele has been reported to present relatively high DNA adduct levels in lymphocytes, which may result in reduced DNA repair capacity [25]. The *XRCC3* Met²⁴¹ allele has been extensively studied and its frequency changes with ethnicity. In our population, the frequency of Met²⁴¹ allele among healthy controls (0.38) was similar to those reported in Saudi Arabia [26], Spain [27] and American populations [28], whereas it was slightly higher than the frequency in Polish [29], Danish [30] Indian [31] and Italian populations [15]. This frequency was much higher than those reported in Asian populations: Taiwan [32], Thailand [33] and China [34]. On the other hand, it was slightly lower than the frequency in Tunisia [35], UK [36], Norway [21], Turkey [37] and France [38] populations.



On examining the risk, we found no significant association between the *XRCC3* Thr241Met polymorphism and CRC occurrence. Lack of association between this polymorphism and CRC is in accordance with data on Norwegian [21] and Polish [29] populations. In contrast, a case-control study conducted in a Southern Italian population reported that the Met allele was statistically associated with CRC risk [15]. Also, a Chinese study showed that the Met allele was moderately associated with CRC [34]. However, Mort et al. [36] observed that individuals with the Thr/Thr genotype had an increased risk of CRC in the British population. The results of Yeh et al. [32] have also shown that the *XRCC3* Thr²⁴¹ allele was associated with a significantly increased risk of CRC in Taiwan. Likewise, the *XRCC3* Met²⁴¹ allele showed a protective tendency against rectal cancer in Indian population (OR = 0.68, 95 % CI 0.46–1.02) [31]. Recently, Wang and Zhang performed a meta-analysis involving 15 case-control studies with a total of 4,475 cases and 6,373 controls [39]. The results from this pooled analysis concluded that the *XRCC3* Thr241Met polymorphism could represent a susceptibility gene for CRC with a low penetrance.

The *XPD* protein participates in the unwinding of the DNA double-stranded helix around the damaged site to allow the removal of DNA lesions [17]. In addition, it is also required for p53-dependent apoptosis and cell cycle regulation [40]. Mutations in the *XPD* gene may alter the protein function and abolish its enzymatic activity. Several polymorphic variants in this gene have been identified, and *XPD* Lys751Gln is the most common polymorphism in the gene; it is located in the important interaction domain (C-terminal) with the p44 protein, which stimulates *XPD* by activating its helicase activity [41]. It has been shown recently that the Lys751Gln reduces the ERCC2 protein expression by decreasing the ERCC2 mRNA stability [42]. Thus, it is the most widely studied polymorphism with regard to cancer association. In our study on Western Algerian CRC patients, we observed no association of the *XPD* Lys751Gln with CRC risk. These observations are similar to findings from several previous studies conducted in various ethnic groups [21, 31, 32, 36, 43–45]. Moreover, a recent meta-analysis of 15 case-control studies (including a total of 3,042 cases and 4,627 controls) also suggested that *XPD* Lys751Gln is not associated with CRC development [46]. However, an increased risk of low-risk adenomas was detected among individuals carrying the variant *XPD* Gln⁷⁵¹ allele as compared to carriers of the Lys⁷⁵¹ wild-type allele [21, 47]. On the other hand, pharmacogenetic analysis suggested that the *XPD* Lys751Gln variation may influence the susceptibility to 5-fluorouracil/oxaliplatin chemotherapy among CRC patients [48]. In this last study, the Gln⁷⁵¹ allele was significantly associated with a favorable survival of CRC patients. This is in

contrast with another study in Taiwan which reported a lower response to the treatment among carriers of this allele [49]. Therefore, the *XPD* Lys751Gln polymorphism may be a useful pharmacogenetic determinant to define CRC patients who are more likely to benefit from platinum-based chemotherapy [50].

In comparing the allele frequency of *XPD* Lys751Gln to previous published data of different ethnic groups, our study indicates that the frequency of the Gln allele was 26 %; this frequency was lower than the values found for Indian [31], Tunisian [35], Iranian [51] and European populations [15, 21, 42, 52–54]. It appeared to be much higher than those reported in Taiwanese [32], Chinese [55] and South Korean populations [56].

We analyzed the combined effect of the *XRCC3* and *XPD* polymorphisms with regard to CRC risk. We found that the combination of variant homozygous *XPD* 751Gln/Gln and heterozygous variant *XRCC3* 241 Thr/Met genotypes was significantly associated with a higher risk of CRC (OR = 7.33, 95 % CI 1.16–46.23, $p = 0.02$). No reported studies have reached the same conclusion. Our results led us to hypothesis that the NER mechanism does not influence alone the occurrence of CRC in our population but might play a role in the development of this cancer when combined with certain DSBRR genes genotypes. However, the possible explanation for this genotype combination on risk of CRC remains to be known. Indeed, the use of combined analysis of polymorphisms may represent an alternative way of analyzing the overall effect of the different genetic variants.

The difference in results between the present study and the previous studies describing associations between these polymorphisms studied and their allelic frequencies and the occurrence of CRC could be explained by several factors such as ethnicity, selection criteria of patients and controls, and genetic heterogeneity in the pathogenesis of CRC. It is also possible that these polymorphisms could be in linkage disequilibrium with other putative etiological variants, such as tobacco smoking and certain dietary components, which would likely differ across different ethnic populations. Unfortunately, information on these factors in our case-control study was not available for all patients. In addition, one of the limitations of our study is the relatively small sample size that influences the statistical power. In fact, the sample size is closely tied to statistical power: A larger sample size yields higher power.

In conclusion, our findings suggest that these polymorphisms are not involved in genetic susceptibility to CRC in our population. It is also likely that many variants or common susceptibility polymorphisms of DNA repair genes may jointly contribute to the susceptibility of CRC. Therefore, it is important to include more variants in the genes that participate in the same DNA repair pathways in



order to identify genetic markers as well as gene–gene and gene–environment interactions that may predict individual susceptibility to CRC. However, such studies should be performed on much larger populations in order to deal with the statistical limitations inherent to multiple testing.

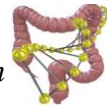
Acknowledgments The authors of this article are grateful to all subjects for donating their blood for this study. In addition, they thank all the collaborators for collection of blood samples and information.

Conflict of interests The authors have declared that no conflict of interests exists.

References

1. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C and Parkin DM. GLOBOCAN 2008 v2.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 10 Internet. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2010. Available from: <http://globocan.iarc.fr>, accessed on 22/07/2013.
2. Center MM, Jemal A, Smith RA, Ward E. Worldwide variations in colorectal cancer. *CA Cancer J Clin.* 2009;59(6):366–78.
3. Meddah D, Meddah B, Touil AT, Ghalek M, Sahraoui T. Étude épidémiologique du cancer du côlon chez des patients de l'Ouest algérien. *J Afr du Cancer/Afr J Cancer.* 2009;1(1):31–5.
4. Gertig DM, Hunter DJ. Genes and environment in the etiology of colorectal cancer. *Semin Cancer Biol.* 1998;8(4):285–98.
5. Potter JD. Colorectal cancer: molecules and populations. *J Natl Cancer Inst.* 1999;91(11):916–32.
6. de Jong MM, Nolte IM, te Meerman GJ, van der Graaf WT, de Vries EG, Sijmons RH, et al. Low-penetrance genes and their involvement in colorectal cancer susceptibility. *Cancer Epidemiol Biomark Prev.* 2002;11(11):1332–52.
7. Wood RD, Mitchell M, Lindahl T. Human DNA repair genes. *Mutat Res/Fundam Mol Mech Mutagen.* 2005;577(1–2):275–83.
8. Hlavin EM, Smeaton MB, Noronha AM, Wilds CJ, Miller PS. Cross-link structure affects replication-independent DNA inter-strand cross-link repair in mammalian cells. *Biochemistry.* 2010;49(18):3977–88.
9. Liu N, Lamerdin JE, Tebbs RS, Schild D, Tucker JD, Shen MR, et al. XRCC2 and XRCC3, new human Rad51-family members, promote chromosome stability and protect against DNA cross-links and other damages. *Mol Cell.* 1998;1(6):783–93.
10. Brennen MA, Weiss AE, Nickoloff JA, Chen DJ. XRCC3 is required for efficient repair of chromosome breaks by homologous recombination. *Mutat Res/DNA Repair.* 2000;459(2):89–97.
11. Shen MR, Jones IM, Mohrenweiser H. Nonconservative amino acid substitution variants exist at polymorphic frequency in DNA repair genes in healthy humans. *Cancer Res.* 1998;58(4):604–8.
12. Matullo G, Guarrera S, Sacerdote C, Polidoro S, Davico L, Gamberini S, et al. Polymorphisms/haplotypes in DNA repair genes and smoking: a bladder cancer case–control study. *Cancer Epidemiol Biomark Prev.* 2005;14(11):2569–78.
13. Winsey SL, Haldar NA, Marsh HP, Bunce M, Marshall SE, Harris AL, et al. A variant within the DNA repair gene XRCC3 is associated with the development of melanoma skin cancer. *Cancer Res.* 2000;60(20):5612–6.
14. Kuschel B, Auranen A, McBride S, Novik KL, Antoniou A, Lipscombe JM, et al. Variants in DNA double-strand break repair genes and breast cancer susceptibility. *Hum Mol Genet.* 2002;11(12):1399–407.
15. Improtà G, Sgambato A, Bianchino G, Zupa A, Grieco V, La Torre G, et al. Polymorphisms of the DNA repair genes XRCC1

- and XRCC3 and risk of lung and colorectal cancer: a case–control study in a Southern Italian population. *Anticancer Res.* 2008;28(5B):2941–6.
16. Sung P, Bailly V, Weber C, Thompson LH, Prakash L, Prakash S. Human xeroderma-pigmentosum group-D gene encodes a DNA helicase. *Nature.* 1993;365(6449):852–5.
17. Lehmann AR. The xeroderma pigmentosum group D (XPD) gene: one gene, two functions, three diseases. *Genes Dev.* 2001;15(1):15–23.
18. Benhamou S, Sarasin A. ERCC2/XPD gene polymorphisms and cancer risk. *Mutagenesis.* 2002;17(6):463–9.
19. Benhamou S, Sarasin A. ERCC2/XPD gene polymorphisms and lung cancer: a HuGE review. *Am J Epidemiol.* 2005;161(1):1–14.
20. Jiang Z, Li C, Xu Y, Cai S, Wang X. Associations between XPD polymorphisms and risk of breast cancer: a meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat.* 2010;123(1):203–12.
21. Skjelbred CF, Saebo M, Wallin H, Nexø BA, Hagen PC, Lothe IM, et al. Polymorphisms of the XRCC1, XRCC3 and XPD genes and risk of colorectal adenoma and carcinoma, in a Norwegian cohort: a case control study. *BMC Cancer.* 2006;6(1):67.
22. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.* 1988;16(3):1215.
23. Khanna KK, Jackson SP. DNA double-strand breaks: signaling, repair and the cancer connection. *Nat Genet.* 2001;27(3):8.
24. Griffin CS. Aneuploidy, centrosome activity and chromosome instability in cells deficient in homologous recombination repair. *Mutat Res/Fundam Mol Mech Mutagen.* 2002;504(1–2):149–55.
25. Matullo G, Palli D, Peluso M, Guarrera S, Carturan S, Celentano E, et al. XRCC1, XRCC3, XPD gene polymorphisms, smoking and 32P-DNA adducts in a sample of healthy subjects. *Carcinogenesis.* 2001;22(9):1437–45.
26. Al-Hadyan KS, Al-Harbi NM, Al-Qahtani SS, Alsbeih GA. Involvement of single-nucleotide polymorphisms in predisposition to head and neck cancer in Saudi Arabia. *Genet Test Mol Biomark.* 2012;16(2):95–101.
27. López-Cima MF, González-Arriaga P, García-Castro L, Pascual T, Marrón MG, Puente XS, et al. Polymorphisms in XPC, XPD, XRCC1, and XRCC3 DNA repair genes and lung cancer risk in a population of Northern Spain. *BMC Cancer.* 2007;7:162.
28. Curtin K, Samowitz WS, Wolff RK, Ulrich CM, Caan BJ, Potter JD, et al. Assessing tumor mutations to gain insight into base excision repair sequence polymorphisms and smoking in colon cancer. *Cancer Epidemiol Biomark Prev.* 2009;18(12):3384–8.
29. Krupa R, Sliwinski T, Wisniewska-Jarosinska M, Chojnacki J, Wasylecka M, Dziki L, et al. Polymorphisms in RAD51, XRCC2 and XRCC3 genes—the homologous recombination repair in colorectal cancer—a case control study. *Mol Biol Rep.* 2011;38(4):2849–54.
30. Curwen GB, Murphy S, Tawn EJ, Winther JF, Boice JD Jr. A study of DNA damage recognition and repair gene polymorphisms in relation to cancer predisposition and G2 chromosomal radiosensitivity. *Environ Mol Mutagen.* 2011;52(1):72–6.
31. Wang J, Zhao Y, Jiang J, Gajalakshmi V, Kuriki K, Nakamura S, et al. Polymorphisms in DNA repair genes XRCC1, XRCC3 and XPD, and colorectal cancer risk: a case–control study in an Indian population. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2010;136(10):1517–25.
32. Yeh CC, Sung FC, Tang R, Chang-Chieh CR, Hsieh LL. Polymorphisms of the XRCC1, XRCC3, & XPD genes, and colorectal cancer risk: a case–control study in Taiwan. *BMC Cancer.* 2005;5:12.
33. Settheetham-Ishida W, Yuenyao P, Natphopsuk S, Settheetham D, Ishida T. Genetic risk of DNA repair gene polymorphisms (XRCC1 and XRCC3) for high risk human papillomavirus negative cervical cancer in Northeast Thailand. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2011;12(4):963–6.



34. Zhao Y, Deng X, Wang Z, Wang Q, Liu Y. Genetic polymorphisms of DNA repair genes XRCC1 and XRCC3 and risk of colorectal cancer in Chinese population. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2012;13(2):665–9.
35. Ben Salah G, Fendri-Kriaa N, Kamoun H, Kallabi F, Mekaouar-Rebai E, Fourati A et al. An interethnic variability and a functional prediction of DNA repair gene polymorphisms: the example of XRCC3 (p.Thr241 > Met) and XPD (p.Lys751 > Gln) in a healthy Tunisian population. *Mol Biol Rep.* 2012; 39(10):9639–9647.
36. Mort R, Mo L, McEwan C, Melton DW. Lack of involvement of nucleotide excision repair gene polymorphisms in colorectal cancer. *Br J Cancer.* 2003;89(2):333–7.
37. Canbay E, Agachan B, Gulluoglu M, Isbir T, Balik E, Yamaner S, et al. Possible associations of APE1 polymorphism with susceptibility and HOGG1 polymorphism with prognosis in gastric cancer. *Anticancer Res.* 2010;30(4):1359–64.
38. Benhamou S, Tuimala J, Bouchardy C, Dayer P, Sarasin A, Hirvonen A. DNA repair gene XRCC2 and XRCC3 polymorphisms and susceptibility to cancers of the upper aerodigestive tract. *Int J Cancer.* 2004;112(5):901–4.
39. Wang Z, Zhang W. Association between XRCC3 Thr241Met polymorphism and colorectal cancer risk. *Tumor Biol.* 2013; 34(3):1421–9.
40. Wang XW, Vermeulen W, Coursen JD, Gibson M, Lupold SE, Forrester K, et al. The XPB and XPD DNA helicases are components of the p53-mediated apoptosis pathway. *Genes Dev.* 1996;10(10):1219–32.
41. Coin F, Bergmann E, Tremeau-Bravard A, Egly JM. Mutations in XPB and XPD helicases found in xeroderma pigmentosum patients impair the transcription function of TFIIH. *EMBO J.* 1999;18(5):1357–66.
42. Moisan F, Laroche-clary A, Auzanneau C, Ricard N, Pourquier P, Robert J, et al. Deciphering the role of the ERCC2 gene polymorphism on anticancer drug sensitivity. *Carcinogenesis.* 2012; 33(5):962–8.
43. Moreno V, Landi S, Gioia-Patricola L, Chabrier A, Blanco I, González S et al. Polymorphisms in genes of nucleotide and base excision repair: risk and prognosis of colorectal cancer. *Clin Cancer Res.* 2006; 12(7Pt1):2101–2108.
44. Huang WY, Berndt SI, Kang D, Chatterjee N, Chanock SJ, Yeager M, et al. Nucleotide excision repair gene polymorphisms and risk of advanced colorectal adenoma: XPC polymorphisms modify smoking-related risk. *Cancer Epidemiol Biomark Prev.* 2006;15(2):306–11.
45. Joshi AD, Corral R, Siegmund KD, Haile RW, Marchand LL, Martinez ME et al. Red meat and poultry intake, polymorphisms in the nucleotide excision repair and mismatch repair pathways and colorectal cancer risk. *Carcinogenesis.* 2009; 30(3):472–479.
46. Zhang Y, Ding D, Wang X, Zhu Z, Huang M, He X. Lack of association between XPD Lys751Gln and Asp312Asn polymorphisms and colorectal cancer risk: a meta-analysis of case-control studies. *Int J Colorectal Dis.* 2011;26(10):1257–64.
47. Bigler J, Ulrich CM, Kawashima T, Whitton J, Potter JD. DNA repair polymorphisms and risk of colorectal adenomatous or hyperplastic polyps. *Cancer Epidemiol Biomark Prev.* 2005;14(11): 2501–8.
48. Lamas MJ, Duran G, Balboa E, Bernardez B, Touris M, Vidal Y, et al. Use of a comprehensive panel of biomarkers to predict response to a fluorouracil-oxaliplatin regimen in patients with metastatic colorectal cancer. *Pharmacogenomics.* 2011;12(3): 433–42.
49. Lai JJ, Tzeng CH, Chen PM, Lin JK, Lin TC, Chen WS, et al. Very low prevalence of XPD K751Q polymorphism and its association with XPD expression and outcomes of FOLFOX-4 treatment in Asian patients with colorectal carcinoma. *Cancer Sci.* 2009;100(7):1261–6.
50. Le Morvan V, Smith D, Laurand A, Brouste V, Bellot R, Soubeyran I, et al. Determination of ERCC2 Lys751Gln and GSP1 Ile105Val gene polymorphisms in colorectal cancer patients: relationships with treatment outcome. *Pharmacogenomics.* 2007;8(12): 1693–703.
51. Rezaei H, Motovali-bashi M, Khodadad K, Elahi A, Emami H, Naddaffnia H. Relationship between XPD Lys 751 Gln polymorphism and colorectal cancer risk: a case-control study in a population-based study. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench.* 2013; 6(1):18–24.
52. Hansen RD, Sørensen M, Tjønneland A, Overvad K, Wallin H, Raaschou-Nielsen O, et al. XPA A23G, XPC Lys939Gln, XPD Lys751Gln and XPD Asp312Asn polymorphisms, interactions with smoking, alcohol and dietary factors, and risk of colorectal cancer. *Mutat Res.* 2007;619(1–2):68–80.
53. Jelonek K, Gdowicz-Kłosok A, Pietrowska M, Borkowska M, Korfanty J, Rzeszowska-Wolny J, et al. Association between single-nucleotide polymorphisms of selected genes involved in the response to DNA damage and risk of colon, head and neck, and breast cancers in a Polish population. *J Appl Genet.* 2010;51(3):343–52.
54. Engin AB, Karahalil B, Engin A, Karakaya AE. Oxidative stress, *Helicobacter pylori*, and OGG1 Ser326Cys, XPC Lys939Gln, and XPD Lys751Gln polymorphisms in a Turkish population with colorectal carcinoma. *Genet Test Mol Biomark.* 2010; 14(4):559–64.
55. Ouyang FD, Yang FL, Chen HC, Asaduzzaman Khan M, Huang FM, Wan XX et al. Polymorphisms of DNA repair genes XPD, XRCC1, and OGG1, and lung adenocarcinoma susceptibility in Chinese population. *Tumor Biology.* 2013; 34(5):2834–2848.
56. Park JY, Lee SY, Jeon HS, Park SH, Bae NC, Lee EB, et al. Lys751Gln polymorphism in the DNA repair gene XPD and risk of primary lung cancer. *Lung Cancer.* 2002;36(1):15–6.



II- Discussion

Le génome est continuellement exposé à des milliers de lésions d'ADN de sources endogènes et exogènes qui peuvent nuire à la fonction cellulaire et conduire à la mort cellulaire ou la carcinogène. Pour éviter cela, il existe plusieurs voies de réparation composées de complexes multi-protéiques qui peuvent gérer ces différents types de dommages. De nombreux polymorphismes génétiques dans des gènes de réparation de l'ADN ont été identifiés et qui peuvent modifier la capacité de la réparation. L'implication de ces variations polymorphes dans la prédisposition aux cancers est un champ majeur d'investigation et ceci a été démontré dans un grand nombre d'études d'épidémiologie génétique réalisées sur différentes populations, dont les résultats divergent souvent entre ces dernières.

Dans cette optique, nous avons mené une étude cas/témoins visant à rechercher une éventuelle association entre des polymorphismes des gènes de réparation de l'ADN et le risque de développer le CCR dans une population comprenant des malades atteints de CCR et des sujets sains tous originaires de l'Ouest Algérien. Il s'agit des polymorphismes : c.1196G>A du gène *XRCC1* (p.Arg399Gln, [rs25487](#)), le SNP c.722C>T du gène *XRCC3* (p.Thr241Met, [rs861539](#)), le SNP c.354C>T du gène *ERCC1* (p.Asn118=, [rs11615](#)) et le SNP c.2251A >C du gène *ERCC2* (p.Lys751Gln, [rs13181](#)). En outre, notre travail a consisté à déterminer la distribution des fréquences alléliques des variants dans notre population en vue de la comparer à celles obtenues ailleurs. Dans la population algérienne aucune étude de ce genre n'a été rapportée jusqu'à présent.

Pour cette exploration, nous avons adopté une technique récente qu'est le pyroséquençage dont nous avons cité le principe dans la partie population d'étude et méthodes. Cependant, il est important de souligner non seulement l'originalité de cette technique mais surtout sa facilité d'exécution. Celle-ci, tout en remplaçant la technique de séquençage autrement plus complexe et moins rapide, présente des avantages certains dont la rapidité et la simplicité qui la rendent plus reproductible. Le principal problème de cette méthode est son coût, sinon cette technique est intéressante et efficace à grande échelle puisqu'elle est entièrement automatisée.



Le gène *XRCC1* appartient à une famille de gènes de réparation de l'ADN et code pour une protéine qui joue un rôle dans la réparation par excision de base (BER). Le polymorphisme c.1196G>A se produit au niveau d'une séquence très conservée du gène *XRCC1* et agit sur la région codante de ce gène. Ce polymorphisme consiste en une substitution d'une Arginine par une Glutamine au niveau du codon 399 affectant ainsi l'activité de la protéine synthétisée (Regina et al, 2007).

Chaque acide aminé a des propriétés spécifiques telles que : la taille, la charge et le caractère hydrophobe ou hydrophile. L'acide aminé glutamine est plus petit (146Da) que l'arginine (174Da) et ce dernier est un acide aminé basique comparativement à la glutamine qui n'est pas chargée. De plus, l'arginine sert de donneur de liaisons hydrogènes aux autres acides aminés. Ces différences pourraient entraîner la perte d'interaction avec d'autres molécules et donc un changement au niveau structural de la protéine XRCC1 (Figure 23).

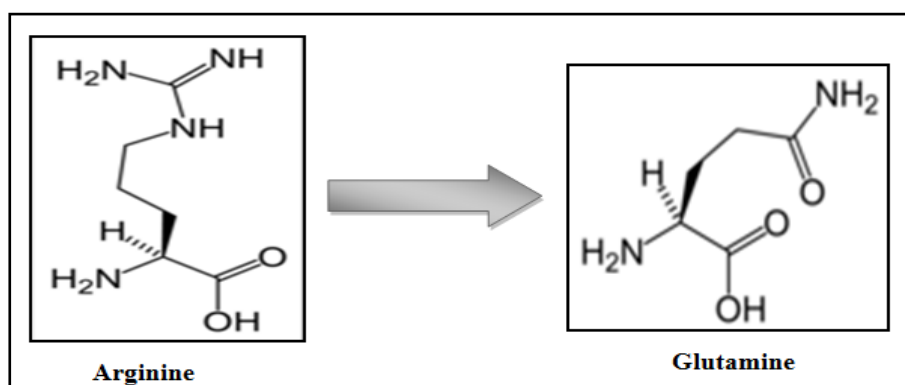


Figure 23 : Les structures des acides aminés arginine et glutamine.

Ce variant est situé dans la région du domaine d'interaction BRCTI de XRCC1 avec PARP qui représente un espace d'interaction protéine-protéine impliqué dans les mécanismes de réparation d'ADN BER (Masson et al, 1998).

De plus, une étude par simulation de la dynamique moléculaire du domaine BRCTI a montré que la substitution de Arg399Gln dans la protéine XRCC1 pourrait produire des changements conformationnels significatifs dans le domaine BRCTI faisant converger chacune des protéines (native et polymorphe) vers une structure différente l'une de l'autre (Regina et al, 2007). En effet dans cette étude, la structure secondaire de la protéine polymorphe présente une déviation par rapport à la structure native. Bien que le site de la substitution lui-même ne montre pas beaucoup de différence entre les deux structures, la substitution semble être responsable de la déviation majeure et des changements structurels



secondaires au niveau de plusieurs autres sites dans le domaine de BRCT1, qu'ils soient adjacents au site de la substitution, ou à distance de celui-ci.

En analysant plus en détail les deux structures secondaires avant et après le polymorphisme Arg399Gln dans la protéine, les auteurs montrent une nouvelle structure secondaire adoptée par la protéine polymorphe (Figure 24 B) dans laquelle deux hélices alpha et une hélice bêta du domaine BRCT1 ne sont plus présentes de façon aussi évidente que dans la structure secondaire de la protéine native (Figure 24 A) probablement à cause de leur perte d'activité ; or ces feuilletts alpha sont essentiels à l'interaction entre BRCT1 et PARP lors de la réparation de l'ADN.

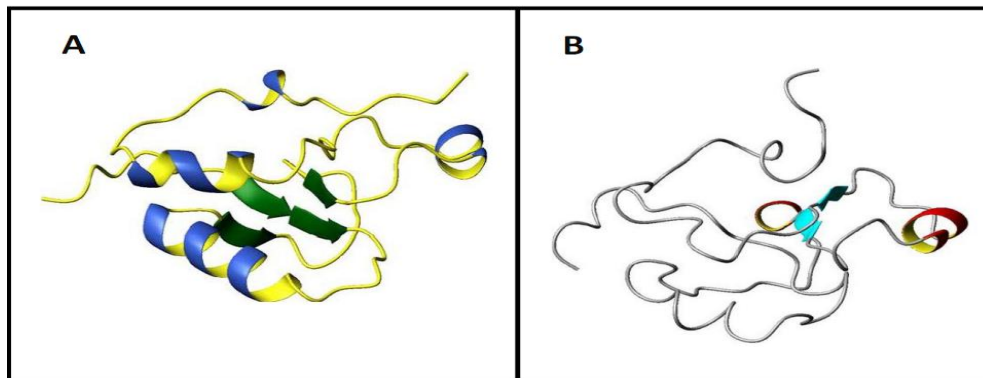


Figure 24: Structure tridimensionnelle du domaine BRCT1 de la protéine XRCC1 obtenue par simulation de dynamique moléculaire. Tirée de (Regina et al, 2007).

A) Structure du domaine BRCT1 normal : les hélices alpha (en bleu) et les feuilletts bêta (en vert).

B) Structure de BRCT1 muté : les feuilletts alpha (en rouge) et bêta sont à peine visibles (en bleu).

En effet, des études *in vitro* ont montré que les cellules lymphoïdes d'individus porteurs de l'allèle Gln³⁹⁹ accumulent plus de cassures chromosomiques après exposition à la bléomycine (agent anti-cancéreux) par rapport aux cellules des individus non porteurs de ce polymorphisme (Wang et al, 2003). Ce polymorphisme a été bien étudié dans de nombreux cancers et des corrélations positives ont été établies avec ces derniers, mais les résultats de ces études ne sont pas toujours convergents.

D'après l'analyse de la distribution allélique du SNP Arg399Gln dans notre population témoin, il ressort que l'allèle mineur est représenté par l'allèle Gln³⁹⁹ et sa fréquence (MAF) est égale à 0,25. Cette fréquence est similaire à celle retrouvée dans les populations roumaine (Procopciuc & Osian, 2013), mexicaine (Muniz-Mendoza et al, 2012) et les populations asiatiques : Taiwanaise (0,27) (Yeh et al, 2005), chinoise (0,24) (Zhao et al, 2012),



singapourienne (0,26) (Stern et al, 2007) et japonaise (0,24) (Matsuo et al, 2004); de plus, ce résultat est compatible avec une étude récente sur la population maghrébine qui rapporte une fréquence de 0,26 (Laantri et al, 2011). Cette fréquence est plus élevée que celle décrite chez les égyptiens (0,14) (Abdel-Rahman et al, 2000) et les coréens (0,19) (Hong et al, 2005), et plus basse que celle décrite chez les indiens (0,43) (Kiran et al, 2010). En revanche, elle s'éloigne de celle retrouvée chez nos voisins tunisiens qui ont rapporté dans une étude récente une fréquence de 0,36 (Salah et al, 2012). Dans les populations américaine, brésilienne et saoudienne la fréquence de l'allèle Gln³⁹⁹ est respectivement de 0,32 (Stern et al, 2005), 0,34 (Duarte et al, 2005) et 0,35 (Al-Harithy & Al-Ghazzawi, 2011). Elle varie entre 0,31 et 0,39 dans les populations européennes : Turque, italienne et suédoise (0,31) (Engin et al, 2011; Improta et al, 2008; Sanyal et al, 2004), finlandaise (0,32) (Forsti et al, 2004), portugaise (0,33) (Varzim et al, 2003), française (0,35) (Moullan et al, 2003), espagnole et britannique (0,38) (Lopez-Cima et al, 2007; Nelson et al, 2002), polonaise (0,38) (Krupa & Blasiak, 2004) et norvégienne (0,39) (Skjelbred et al, 2006).

Les résultats de l'étude statistique n'ont montré aucune différence statistiquement significative entre les fréquences génotypiques et alléliques des cas par rapport aux témoins ($p > 0,05$). On en déduit alors qu'il n'y a pas d'association entre le polymorphisme Arg399Gln du gène *XRCC1* et le risque de survenue du CCR dans la population de l'Ouest Algérien. Ce résultat est en accord avec les données rapportées dans les populations : polonaise (Sliwinski et al, 2008), autrichienne (Gsur et al, 2011), américaine (Stern et al, 2005), turque (Canbay et al, 2011; Engin et al, 2011), mexicaine (Muniz-Mendoza et al, 2012), italienne (Improta et al, 2008) et japonaise (Matsuo et al, 2004). De même, deux méta-analyses ont abouti à la même conclusion (Liu et al, 2013; Wang et al, 2010a). En revanche, d'autres études ont rapporté une association significative entre l'allèle muté et la survenue du CCR, notamment celles menées sur la population chinoise (Tian et al, 2013), indienne (Wang et al, 2010b), égyptienne (Abdel-Rahman et al, 2000), polonaise (Krupa & Blasiak, 2004) et roumaine (Procopciuc & Osian, 2013). Paradoxalement, une diminution du risque de CCR est suggérée chez les saoudiens (Al-Harithy & Al-Ghazzawi, 2011) et les norvégiens (Skjelbred et al, 2006). Similairement, une méta-analyse portant sur 3514 cas de CCR et 4686 témoins d'origines ethniques différentes rapporte un effet protecteur du génotype (AA) (OR=0,84, 95%IC (0,72-0,97), $p=0,02$) (Jiang et al, 2010). Inversement, l'étude menée sur la cohorte taïwanaise constituée de 727 patients atteints de CCR et 736 témoins a révélé que le risque de CCR dans cette population est plutôt associé au génotype (GG) (Yeh et al, 2005).



Le polymorphisme du gène *XRCC1* semble être un facteur de bon pronostic sur la survie et la réponse chez les patients recevant des traitements à base de sels de platine. Dans une étude du groupe de Stoehlmacher, sur une population de 61 patients atteints de CCR et traités par oxaliplatine, les résultats ont montré une proportion de répondeurs plus élevée chez les patients de génotype homozygote commun (GG) que chez les autres patients (Stoehlmacher et al, 2001).

XRCC3 est un membre de la famille des protéines Rad51 et interagit avec d'autres protéines de la famille pour contribuer à la réparation par recombinaison homologue (Brenneman et al, 2000; Khanna & Jackson, 2001; Liu et al, 1998). Les cellules déficientes en *XRCC3* présentent une sensibilité accrue aux agents endommageant l'ADN et une diminution significative dans la fréquence de réparation des cassures double brin par recombinaison homologue. De plus, ces cellules présentent une fréquence élevée d'anomalies de centrosomes et de défauts de ségrégation chromosomique. En conséquence, le gain ou la perte de chromosomes accélérera la progression tumorale en induisant de multiples altérations génétiques requises pour l'acquisition d'un phénotype tumoral, comme la perte de gènes suppresseurs de tumeur ou l'amplification d'oncogènes (Griffin, 2002). Un des polymorphismes les plus étudiés de *XRCC3* est situé au niveau de l'exon 7 (c.722C>T, rs861539), et est responsable d'une substitution d'une thréonine par une méthionine dans le codon 241 (p.Thr241Met). La différence entre ces deux acides aminés réside en premier dans leurs tailles car le résidu muté est plus grand (149Da) que le résidu sauvage (119Da), cette différence peut entraîner un changement de conformation de la protéine. En second lieu, l'acide aminé muté est hydrophobe tandis que le sauvage est hydrophile, ce qui pourrait conduire à la perte des liaisons hydrogènes provoquant ainsi un défaut de repliement de la protéine (Figure 25).

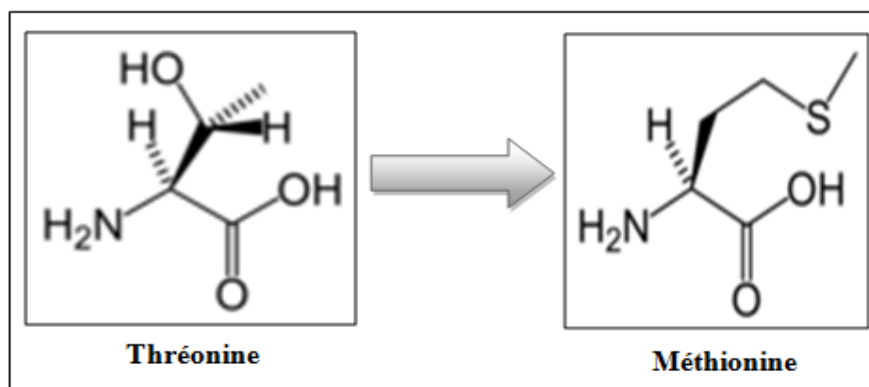


Figure 25 : Les structures des acides aminés : thréonine et méthionine.



Cette substitution (Thr241Met) se trouve au niveau du domaine C-terminal et plus précisément, près du site de liaison à l'ATP Walker B. Il pourrait ainsi affecter l'hydrolyse de l'ATP, entraînant alors une diminution de la capacité de réparation de l'ADN. En effet, il a été rapporté que l'allèle variant Met²⁴¹ est associé à un niveau relativement élevé d'adduits d'ADN des lymphocytes (Matullo et al, 2001).

L'allèle Met²⁴¹ a été largement étudié et sa fréquence varie selon l'origine ethnique. Dans notre population, sa fréquence est de 0,38, elle est similaire à celle rapportée en Arabie saoudite (0,39) (Al-Hadyan et al, 2012), en Espagne (0,36) (Lopez-Cima et al, 2007) et en Amérique (0,37) (Curtin et al, 2009), tandis qu'elle est plus élevée que celle décrite chez les polonais (0,26) (Krupa et al, 2011), les danois (0,24) (Curwen et al, 2011), les indiens (0,17) (Wang et al, 2010b) et les italiens (0,25) (Improta et al, 2008). D'autre part, cette fréquence est légèrement inférieure à celle rapportée dans les populations : Tunisienne (0,47) (Ben Salah et al, 2012), britannique (0,46) (Mort et al, 2003), norvégienne (0,40) (Skjelbred et al, 2006), turque (0,41) (Canbay et al, 2011) et française (0,44) (Benhamou et al, 2004). La fréquence la plus faible est observée chez les asiatiques: Taiwan (0,06) (Yeh et al, 2005), Thaïlande (0,05) (Settheetham-Ishida et al, 2011) et la Chine (0,08) (Zhao et al, 2012).

Dans la présente étude, les résultats de l'analyse de l'association indiquent que ce SNP n'a aucun impact significatif sur le risque de CCR dans la population de l'Ouest Algérien. Le même résultat a été rapporté dans les populations norvégienne (Skjelbred et al, 2006) et polonaise (Krupa et al, 2011). En revanche, une étude cas/témoins menée sur une population du sud de l'Italie a indiqué que l'allèle Met²⁴¹ est associé à un risque de CCR (Improta et al, 2008). En outre, une autre étude a montré que cet allèle est associé à un risque modérément accru du CCR dans la population chinoise (Zhao et al, 2012). Paradoxalement, Mort et ses collaborateurs ont observé que les individus porteurs du génotype (Thr/Thr) avaient un risque accru de cancer colorectal dans la population britannique (Mort et al, 2003). De plus, les résultats de Yeh et ses collaborateurs (Yeh et al, 2005) ont montré que l'allèle Thr²⁴¹ a été associé à une augmentation significative du risque de CCR dans la population taïwanaise. De même, un effet protecteur est conféré par l'allèle Met²⁴¹ dans la population indienne (OR = 0,68) (Wang et al, 2010b). Récemment, Wang et Zhang ont réalisé une méta-analyse portant sur 15 études cas/témoins regroupant 4475 cas et 6373 contrôles (Wang & Zhang, 2013). Les résultats de cette analyse ont montré que l'allèle Met²⁴¹ pourrait contribuer à la susceptibilité au CCR.



La protéine ERCC1 a été abondamment étudiée au cours de ces dernières années. C'est un membre essentiel de la voie de réparation NER. Le partenaire obligatoire d'ERCC1 est la sous-unité XPF qui porte l'activité endonucléasique. Le rôle de l'hétérodimère XPF/ERCC1 est de réaliser la coupure de l'ADN du côté 5' par rapport à la lésion. La plupart des informations sur l'importance d'ERCC1 ont été basées sur des observations provenant de lignées cellulaires équipées d'un système de NER artificiel déficient (Ferry et al, 2000; Weeda et al, 1997; Yu et al, 1997) et de modèles de souris déficientes (knockout). L'expression d'ERCC1 est constitutive au sein des tissus de l'organisme. En effet, le gène ERCC1 est sujet à plusieurs polymorphismes dont le polymorphisme silencieux (C>T) touchant le codon 118 (exon 4) qui n'entraîne pas de modifications de la séquence d'acides aminés (p.Asn118=). En fait, l'asparagine est codée par les deux codons AAC ou AAT. Par rapport au codon AAC, le codon AAT est un codon rare reconnu 10 à 100 fois moins efficacement par les ARN de transfert (ARN_t) qui vont s'associer assez faiblement à la séquence trinuécléotidique mutée (Yu et al, 2000; Yu et al, 1997). La mutation silencieuse du codon 118 semble entraîner une diminution significative de la protéine ERCC1. Il semble donc que ce n'est pas une conséquence fonctionnelle de la mutation qui est en cause, mais plutôt une conséquence traductionnelle. Ce SNP serait également un facteur de risque important dans la survenue de certains cancers dont le CCR. De plus, la fréquence de ce SNP diffère selon les ethnies, et sa fréquence sur la population algérienne est encore inconnue.

Dans la présente étude, les résultats ont montré que la fréquence de l'allèle mineur T dans notre population est de 0,42. Une fréquence assez élevée en comparant avec celles retrouvées dans les populations taiwanaise (0,25) (Chang et al, 2009), coréenne (0,24) (Seo et al, 2009) et chinoise (0,26) (Ni et al, 2014). En revanche, la fréquence de l'allèle T a été retrouvée plus élevée dans les populations : australienne (0,63) (Chua et al, 2009), américaine (0,50) (Stoehlmacher et al, 2004) et européenne (française (0,53) (Viguiet et al, 2005), Espagnole (0,58) (Pare et al, 2008), italienne (0,56) (Ruzzo et al, 2007) et danoise (0,63) (Spindler et al, 2010)). Cette exploration souffre d'une absence de données concernant les populations maghrébines voisines, nous n'avons donc pas pu établir de comparaison avec celles-ci.

Très peu d'études d'association se sont intéressées à évaluer l'impact du polymorphisme ([rs11615](#)) du gène *ERCC1* sur la survenue du CCR. Dans notre population, ce dernier ne semble pas associé au risque de CCR. Ces résultats rejoignent ceux disponibles concernant les populations américaine (Joshi et al, 2009), norvégienne (Skjelbred et al, 2006) et danoise (Hansen et al, 2008). Dans la population chinoise, les résultats sont contrastés



puisque, dans l'étude de Hou et ses collaborateurs (Hou et al, 2014) ; réalisée dans le nord du pays l'allèle T a été associé à un risque accru du CCR alors que dans l'étude de Ni et ses collaborateurs (Ni et al, 2014) ; réalisée dans le sud ; cette association n'est pas retrouvée.

De nombreuses études cliniques ont associé ce polymorphisme et son expression à la réponse aux agents anticancéreux platinants utilisés dans la chimiothérapie du CCR (Park et al, 2003). Pour rappel, l'oxaliplatine est un médicament anticancéreux utilisé dans la chimiothérapie du CCR. Il agit en formant des liaisons covalentes avec l'ADN, responsables de pont inter et intra brin. Les gènes du système de réparation NER, dont l'*ERCC1*, jouent un rôle important dans la réparation de ces lésions. En effet, le niveau d'expression de la protéine ERCC1 est corrélé à la capacité de réparation de l'ADN et influence donc la réponse aux sels de platine. Ce polymorphisme a été étudié dans les tissus normaux des 91 patients avec un CCR métastatique et traités avec l'association 5-FU et oxaliplatine (Viguiet et al, 2005). La réponse objective au traitement a été significativement augmentée chez les patients (TT) par rapport aux patients (CT) ou (CC). Ces résultats ont été confirmés par d'autres études plus récentes (Li et al, 2012; Yin et al, 2011).

La protéine ERCC2 est une ADN hélicase à polarité 5'-3', ATP dépendante. Elle est impliquée dans l'ouverture de l'ADN double brin autour de la lésion (Sung et al, 1993) et elle fait partie du facteur de transcription TFIIH (Coin et al, 2008). TFIIH joue un rôle double. D'une part, il participe à l'initiation de la transcription de gènes médiée par l'ARN polymérase II. D'autre part, il contribue au système de réparation NER de l'ADN endommagé suite à une exposition aux UV ou autres agents exogènes et endogènes. Le rôle de ERCC2 dans la transcription semble être architectural, puisque des mutations dans son site ATPase ou hélicase n'affectent presque pas l'activité transcriptionnelle de TFIIH *in vitro* (Coin et al, 1999; Tirode et al, 1999) et *in vivo* (Winkler et al, 2000). Cependant, de telles mutations semblent être dramatiques pour l'activité de réparation de TFIIH; ce qui suggère fortement que XPD est l'hélicase indispensable pour la réparation (Coin & Egly, 1998; Sung et al, 1996). Des mutations dans le gène *ERCC2* peuvent altérer la structure et la fonction biologique de sa protéine. En effet, plusieurs mutations ont été identifiées sur ce gène dont un polymorphisme (c.2251A>C) plus commun qui cause une substitution du résidu lysine par la glutamine en position 751 (p.Lys751Gln).



Les différences des propriétés d'acides aminés peuvent perturber la structure de la protéine (Figure 26). De plus, cette substitution conduit à une perte de la charge positive de la lysine. Donc, cette mutation pourrait être responsable de la perte des interactions avec d'autres molécules ainsi qu'un changement de la conformation de la protéine.

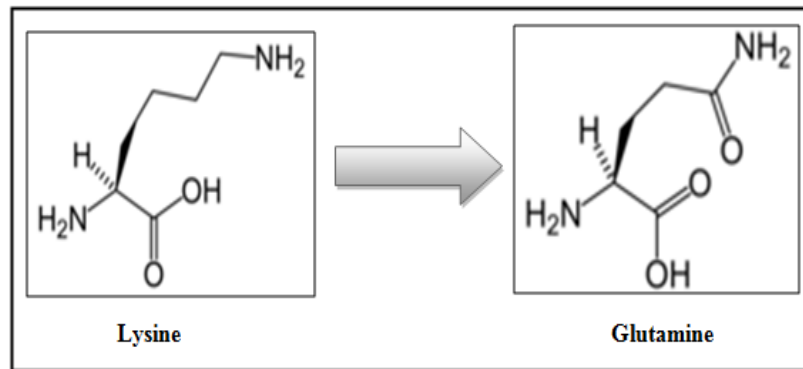


Figure 26 : Les structures des acides aminés : lysine et glutamine

Ce SNP a été largement étudié par rapport à son implication possible dans la susceptibilité à développer plusieurs cancers dont le CCR.

La distribution allélique de l'allèle Gln⁷⁵¹ présente de larges différences entre les ethnies. Dans notre population, il est retrouvé avec une fréquence de 0,26. Celle-ci est plus basse que celle décrite dans les populations : indienne (0,33) (Wang et al, 2010b), tunisienne (0,40) (Ben Salah et al, 2012), iranienne (0,56) (Hojatolah Rezaei, 2013) et européenne (Turque (0,47) (Engin et al, 2010), danoise (0,40) (Hansen et al, 2007), polonaise (0,36) (Jelonek et al, 2010), espagnole (0,35) (Moreno et al, 2006) et norvégienne (0,34) (Skjelbred et al, 2006). En revanche, cette fréquence s'éloigne de celle décrite chez les taiwanais (0,07) (Yeh et al, 2005), chinois (0,08) (Ouyang et al, 2013) et les sud-coréens (0,06) (Park et al, 2002).

En ce qui concerne l'analyse de l'association, nos résultats n'aboutissent à aucune association significative entre ce SNP et le risque de CCR dans notre population. Ceci est en accord avec les conclusions d'autres études réalisées dans différents groupes ethniques. Cette absence d'association a été montrée notamment dans les populations britannique (Mort et al, 2003), taiwanaise (Yeh et al, 2005), américaine (Huang et al, 2006; Joshi et al, 2009), espagnole (Moreno et al, 2006), norvégienne (Skjelbred et al, 2006) et indienne (Wang et al, 2010b). De plus, une première méta-analyse portant sur 15 études cas/témoins regroupant près de 3042 cas CCR et 4627 témoins a conclu à l'absence d'association entre ce polymorphisme



et le CCR (Zhang et al, 2011). En 2014, une seconde méta-analyse a confirmé ces résultats (Zhang et al, 2014). Toutefois, un risque accru d'adénome de bas risque a été observé chez les patients porteurs de l'allèle Gln⁷⁵¹ par rapport aux porteurs de l'allèle sauvage (Bigler et al, 2005).

Ce SNP est situé dans le domaine C-terminal de la protéine ERCC2, ce qui devrait entraîner théoriquement un changement conformationnel significatif de ce domaine affectant ainsi sa fonction par manque d'interactions essentielles avec d'autres protéines de la machinerie de réparation. Il a été montré que ce domaine est impliqué dans l'interaction avec le domaine amino-terminal de la protéine p44, ce qui stimule l'activité hélicase de l'ERCC2. Cette variation pourrait ainsi fragiliser l'interaction et conduire à une diminution de son activité hélicase essentielle à l'ouverture de l'ADN endommagé (Monaco et al, 2009). Cette variation pourrait expliquer la variabilité observée dans le système de réparation de l'ADN et donc le risque de cancérisation.

La protéine ERCC2 joue un rôle crucial dans la réparation de l'ADN, mais aussi dans la régulation du cycle cellulaire. En fait, il n'est pas possible d'induire l'apoptose médiée par p53 dans des cellules dont les gènes *XPB* ou *ERCC2* sont mutés, mais la transfection de ces cellules par des vecteurs contenant ces deux gènes permet l'induction de l'apoptose (Wang et al, 1996). L'hypothèse selon laquelle ERCC2 est impliquée dans le mécanisme d'apoptose est née de la découverte d'une interaction entre les sous-unités de TFIIH ; dont la protéine ERCC2 et la protéine p53 (Xiao et al, 1994). Ces interactions inhibent les activités enzymatiques de TFIIH. En effet, l'interaction entre p53 et XPB/ERCC2 conduit à une inhibition de leur activité hélicase (Leveillard et al, 1996). Cette inhibition retarderait le NER et pourrait ainsi entraîner l'apoptose.

D'autre part, les études de pharmacogénétique ont suggéré que le SNP du gène *ERCC2* (Lys751Gln) peut influencer la sensibilité à la 5-FU/Oxalipatine utilisés dans la chimiothérapie pour le CCR (Lamas et al, 2011). Dans cette dernière étude, l'allèle Gln⁷⁵¹ était significativement associé à une survie de patients atteints de CCR. Ceci est en contradiction avec une autre étude au Taiwan qui a montré une réponse plus faible au traitement parmi les porteurs de cet allèle (Lai et al, 2009). Par conséquent, ce polymorphisme peut être un facteur prédictif de réponse à la chimiothérapie à base de platine chez les patients atteints de CCR (Le Morvan et al, 2007).

Puisque des interactions entre les gènes de différents systèmes de réparation sont susceptibles de contribuer ensemble au risque de CCR, une analyse des génotypes combinés a



été réalisée. Les résultats des différentes combinaisons génotypiques révèlent qu'effectivement les patients porteurs du génotype combiné *XRCC3* (CT)-*ERCC2* (CC) ont un risque accru de développer le CCR (OR = 7,33, IC 95% (1,16-46,23), $p = 0,02$). Aucune étude n'a trouvé cette conclusion. Ces résultats suggèrent donc une certaine interaction entre les gènes du système NER et ceux du système DSBR dont l'effet combiné est associé au risque de développement de CCR dans notre population. Il apparaît de plus en plus évident que les protéines impliquées dans les mécanismes de réponse aux dommages de l'ADN ne sont pas cloisonnées mais forment un réseau étroitement imbriqué. Ainsi, l'analyse des génotypes combinés est une stratégie qui prend en compte la combinaison de SNP et vérifie leur effet combiné. Elle pourrait être plus prédictive qu'une analyse fondée uniquement sur les SNP pris séparément. Donc, elle permet de mieux comprendre les interactions potentielles entre les gènes.

Des études antérieures ont rapporté des associations significatives entre des génotypes combinés de ces polymorphismes et le risque de CCR. Dans la population indienne, le génotype combiné *XRCC1* (GA) et *XRCC3* (TT) était associé à un risque de CCR (OR=2,10, $p < 0,05$) (Wang et al, 2010b). En revanche, dans la population chinoise, c'est le génotype combiné *XRCC1* (GG)- *XRCC3* (TT) qui a été associé à un risque de CCR (OR=2,16, $p < 0,05$) (Zhao et al, 2012). Par ailleurs, en Roumanie, un risque accru de CCR a été retrouvé chez les patients porteurs du génotype combiné *ERCC2* (CC) - *XRCC1* (GG) (OR 4.19, $p < 0.05$) (Procopciuc & Osian, 2013).

Considéré individuellement, aucun polymorphisme n'est significativement associé à la survenue de CCR dans notre population. Une étude haplotypique permet d'examiner simultanément les polymorphismes situés sur le même chromosome et leur association avec le risque du CCR. Au vu des résultats obtenus de l'analyse haplotypique pour les polymorphismes des gènes *XRCC1*, *ERCC1* et *ERCC2*, aucune association statistiquement significative n'en est ressortie.

L'ensemble de nos résultats, confrontés aux résultats très contrastés rapportés dans la littérature ne permet pas d'exclure l'implication des polymorphismes des gènes de réparation de l'ADN dans le risque de CCR. En fait, l'absence de concordance des résultats dans les différentes populations est très probablement la conséquence de la variation de la fréquence des allèles de polymorphisme entre différentes populations ethniques. Elle peut être imputable également aux différences dans les facteurs environnementaux et donc aux différents niveaux d'exposition aux carcinogènes. En effet la consommation de la viande, alcool et tabac sont



autant de facteurs à risque dans la survenue du CCR pouvant faire varier les interprétations des résultats; et enfin, différents paramètres non pris en compte dans la majorité des études pourrait également être à l'origine des disparités dans les conclusions par rapport à cette association du CCR avec les variants explorés. Il est donc possible qu'il existe des interactions entre ces polymorphismes et les nombreux variants étiologiques, ce qui différencierait vraisemblablement à travers les différentes populations ethniques.

Néanmoins, nous ne pouvons passer sous silence certains facteurs qui ont pu représenter une limite pour cette étude. D'abord, l'une des limitations de notre étude est la taille relativement petite de l'échantillon qui influence la puissance statistique. En effet, plus la taille de l'échantillon est grande, plus cela augmente la puissance de l'étude, ce qui permet de détecter les effets des génotypes de risque plus rares. Un échantillon de grande taille est d'autant plus avantageux pour le maintien d'une puissance acceptable lors d'analyses de gènes en combinaison puisque la division d'un échantillon de petite taille en plusieurs sous-groupes va affecter négativement la puissance et ainsi réduire la portée de l'étude. En outre, comme il s'agit d'une maladie complexe, il est possible que ces polymorphismes pourraient être en déséquilibre de liaison avec d'autres variantes étiologiques présumées telles que le tabagisme et certaines composantes de l'alimentation. Dans cette étude aucune stratification des résultats en fonction du mode d'alimentation et de l'exposition à d'autres facteurs favorisant le cancer n'a été entreprise car malheureusement, l'information sur ces facteurs dans notre étude n'était pas disponible pour tous les patients.

Finalement, les résultats que nous avons obtenus ne sont toutefois que tout à fait préliminaires. Ils correspondent à une étude plus exploratoire que confirmatoire. Ces résultats mériteraient, dans un premier temps d'être validés sur une population plus large. De plus, bien que l'accent n'ait pas été mis sur les facteurs environnementaux pour ce travail, leur importance est fondamentale dans le développement du trait complexe que représente le cancer. À cet effet, il faudra effectuer des analyses d'interaction gène environnement afin de mesurer l'impact que représente leur exposition. En outre, les polymorphismes que nous avons choisis d'étudier, bien que sélectionnés d'après la littérature, ne constituent pas les seuls polymorphismes des gènes de réparation de l'ADN. Une étude plus exhaustive de la voie de réparation serait indispensable pour déterminer un réel profil génétique de prédisposition dont l'effet sur le risque de CCR serait potentialisé par des interactions avec des facteurs environnementaux.

Conclusion
et perspectives



L'explosion des travaux scientifiques dans le domaine de la génétique des cancers permet actuellement d'améliorer la connaissance des mécanismes physiopathologiques. En effet, grâce à l'avènement des techniques de biologie moléculaire, la caractérisation des facteurs de susceptibilité génétique progresse significativement.

Compte tenu de l'importance du système de réparation de l'ADN dans les mécanismes de cancérogénèse, nombreuses sont les études épidémiogénétiques portant sur l'implication des polymorphismes des gènes de ce système dans la survenue de différents cancers qui ont été entreprises sur des populations d'origines ethniques différentes. Néanmoins, les résultats de ces études divergent très souvent.

Ce travail s'inscrit suite à une longue liste de travaux qui consiste à étudier les déterminants de la susceptibilité génétique dans la survenue du cancer colorectal. L'exploration des polymorphismes c.1196G>A du gène *XRCC1*, c.722C>T du gène *XRCC3*, c.354C>T du gène *ERCC1* et c.2251A>C du gène *ERCC2* est la première réalisée sur le CCR dans la population algérienne. Nos résultats indiquent que ces polymorphismes ne sont pas associés au risque de survenue du CCR dans la population de l'Ouest Algérien.

De plus, la comparaison de la distribution des fréquences des différents polymorphismes étudiés avec celles des populations d'origines ethniques différentes, nous a permis, de caractériser notre population et de la positionner par rapport à d'autres populations. En outre, toutes les données obtenues dans cette étude sur la distribution des différents allèles de chacun des gènes explorés dans notre population témoin, peuvent dorénavant être mises à profit afin de rechercher d'autres associations avec d'autres pathologies cancéreuses ou non dans lesquelles ces gènes interviennent.

Après avoir comparé nos résultats avec ceux rapportés dans différentes études menées sur d'autres populations, nous avons constaté qu'il serait intéressant d'élargir l'effectif de la population étudiée. De plus, il est important d'explorer d'autres gènes de réparation de l'ADN qui présentent des polymorphismes dont l'impact a été démontré sur le risque accru de CCR dans plus d'une étude. Par ailleurs, une étude des facteurs environnementaux permettrait de réaliser une stratification des résultats en fonction du mode d'alimentation et de l'exposition à d'autres facteurs favorisant le cancer comme le tabagisme. Ainsi, des analyses d'interaction gènes-environnement permettraient une meilleure évaluation du rôle des facteurs de vulnérabilité environnementale, sachant qu'une bonne caractérisation des interactions entre



les facteurs environnementaux et génétiques constitue un élément clé dans la compréhension des maladies complexes.

D'autre part, il semblerait que les polymorphismes explorés dans cette étude interviennent également dans la variabilité inter-individuelle de la réponse à certaines molécules anticancéreuses utilisées dans le traitement du CCR. Ceci relève de la discipline récente que représente la pharmacogénétique. Dans cette optique, nous envisageons de poursuivre le recrutement et le suivi des patients vis-à-vis de ces traitements médicamenteux pour une meilleure prise en charge thérapeutique des malades atteints de CCR.

D'une façon générale, cette étude a permis d'une part une caractérisation génétique du CCR dans notre population mais également une contribution à la compréhension des mécanismes à l'origine des pathologies cancéreuses. D'autre part ; elle a consisté à évaluer la prévalence des quatre polymorphismes dans une population saine afin d'en dresser le profil génétique.

Finalement, cette étude nous a permis d'acquérir des compétences dans le domaine de l'épidémiologie génétique que nous pourrions mettre à profit dans l'étude de la prédisposition génétique de notre population à d'autres maladies.

Annexes

Annexe 01**FICHE PATIENT**

N° du dossier : /_/_/_/_/_/_/_/_/_/_/_/_/_/_/_/_/

Code : /_/_/_/_/_/_/_/_/_/_/

Date de prélèvement : /_/_/_/_/_/_/_/_/_/_/_/_/_/_/_/_/

J J M M A A A A

IdentificationM. Mme Melle Sexe : F M

Nom :

Nom de jeune fille :

Prénom :

Date & lieu de naissance : /_/_/_/_/_/_/_/_/_/_/_/_/_/_/_/_/ à Age

J J M M A A A A

Adresse :

..... Ville :

Origine géographique :

N° de téléphone : /_/_/_/_/_/_/_/_/_/_/_/_/_/_/_/_/

Renseignements cliniquesTaille (cm): /_/_/_/_/ Poids (Kg): /_/_/_/_/ Masse corporelle (Kg/m²): /_/_/_/_/

Date du diagnostic initial : /_/_/_/_/_/_/_/_/_/_/_/_/_/_/_/_/

J J M M A A A A

Est-ce qu'il y a une maladie génétique dans la famille ? : OUI NON Préciser s'il s'agit d'une forme : Héritaire Sporadique Non documenté Tabagisme : Fumeur NON fumeur

➤ Si Oui, Combien de cigarettes par jour ? /_/_/_/ et Depuis combien d'années ? /_/_/_/

➤ Si Non, Avez-vous déjà fumé ? /_/_/_/, Pendant combien d'années ? /_/_/_/

Suivi Du Traitement

• **Chirurgie :** OUI NON

Date de chirurgie : /__/__/ /__/__/ /__/__/__/
J J M M A A A A

Type de chirurgie :

Indication : Palliatif Curatif

• **Chimiothérapie :** OUI NON

Nombre de cures à ce jour : /__/__/

Ligne N°	Produit ou nom du protocole	Indication	Dose (mg)	Date	Nombre de cures	Réponse
		Palliatif : <input type="checkbox"/> Adjuvant : <input type="checkbox"/>		Début : /__/__/ /__/__/ /__/__/ Fin : /__/__/ /__/__/ /__/__/ P RDV* : /__/__/ /__/__/ /__/__/		Complète : <input type="checkbox"/> Partielle : <input type="checkbox"/> Non évaluée : <input type="checkbox"/>
		Palliatif : <input type="checkbox"/> Adjuvant : <input type="checkbox"/>		Début : /__/__/ /__/__/ /__/__/ Fin : /__/__/ /__/__/ /__/__/ P RDV* : /__/__/ /__/__/ /__/__/		Complète : <input type="checkbox"/> Partielle : <input type="checkbox"/> Non évaluée : <input type="checkbox"/>
		Palliatif : <input type="checkbox"/> Adjuvant : <input type="checkbox"/>		Début : /__/__/ /__/__/ /__/__/ Fin : /__/__/ /__/__/ /__/__/ P RDV* : /__/__/ /__/__/ /__/__/		Complète : <input type="checkbox"/> Partielle : <input type="checkbox"/> Non évaluée : <input type="checkbox"/>
		Palliatif : <input type="checkbox"/> Adjuvant : <input type="checkbox"/>		Début : /__/__/ /__/__/ /__/__/ Fin : /__/__/ /__/__/ /__/__/ P RDV* : /__/__/ /__/__/ /__/__/		Complète : <input type="checkbox"/> Partielle : <input type="checkbox"/> Non évaluée : <input type="checkbox"/>
		Palliatif : <input type="checkbox"/> Adjuvant : <input type="checkbox"/>		Début : /__/__/ /__/__/ /__/__/ Fin : /__/__/ /__/__/ /__/__/ P RDV* : /__/__/ /__/__/ /__/__/		Complète : <input type="checkbox"/> Partielle : <input type="checkbox"/> Non évaluée : <input type="checkbox"/>
		Palliatif : <input type="checkbox"/> Adjuvant : <input type="checkbox"/>		Début : /__/__/ /__/__/ /__/__/ Fin : /__/__/ /__/__/ /__/__/ P RDV* : /__/__/ /__/__/ /__/__/		Complète : <input type="checkbox"/> Partielle : <input type="checkbox"/> Non évaluée : <input type="checkbox"/>

➤ **Toxicité** : OUI NON

Effets secondaires	Grade	Ligne N°	Produit	Cure	Modification dose		Type modification		
					OUI	NON	Arrêt	Diminution	Augmentation
Hématologiques					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Thrombopénie					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Leucopénie					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Gastro-intestinales					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Diarrhée précoce					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Diarrhée tardive					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Nausées					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Vomissement					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ulcération dans la bouche					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dermatologiques /Cutanés					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Alopécie					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Eruption					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Autres					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Asthénie					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Mucite					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Neurotoxicité					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dyesthésie ou Paresthésie					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Autres commentaires

.....

P RDV* : Prochain rendez-vous.

Annexe 02

Formulaire de consentement pour participation à une étude scientifique

Titre d'étude

Etude de l'implication des polymorphismes des gènes de réparation de l'ADN dans la survenue du cancer colorectal dans la population de l'Ouest Algérien

Je, soussigné(e), (Nom et prénom) :.....né(e)le.....
demeurant à.....

Consens par la présente à participer à une étude scientifique concernant le cancer colorectal utilisant un test d'ADN.

Le but, la nature ainsi que les bénéfices de cette étude m'ont été expliqués de façon détaillée et je permets à cet effet le prélèvement sanguin sur moi-même.

Ma participation est totalement volontaire. Je peux refuser de participer ou me retirer de l'étude à tout moment.

Les données médicales me concernant resteront strictement confidentielles. Je n'autorise leur consultation, y compris la consultation de mon dossier médical, que par les personnes habilitées dans le cadre de cette recherche.

J'accepte également que mes échantillons biologiques soient conservés et utilisés à des fins de recherche médicale, dans le cadre de la maladie désignée ci-dessus, sans limitation de temps.

Fait àLe.....

Signature

Annexe 03**Protocole d'extraction d'ADN à partir du sang total par la technique NaCl « Salting Out ».****➤ Solutions et Réactifs**

- TE10/10 ; -Potéinase K (20mg /ml); -Solution de lyse des globules blancs « SLB » ;
- NaCl à 5M;
- Ethanol absolu, ethanol 70%; -TE10/1 ;

<i>Préparation de TE10/10 (1L)</i>	<i>Préparation de TE10/1 (1L)</i>	<i>Préparation de la solution de lyse des globules blancs (200ml)</i>	<i>Préparation de NaCl 5M (1L)</i>
-10ml Tris-Hcl (1M, pH=8) -20ml EDTA (0.5M, pH=8) - qsp 1L Eau distillée.	-10ml Tris-Hcl (1M, pH=8) -2 ml EDTA (0.5M, pH=8) - qsp 1L Eau distillée.	-2ml tris-Hcl (1M, pH=8) -40ml EDTA (0.5M, pH=8) -10ml SDS (10%) - qsp 200ml Eau distillée .	-292,25g dans 1000ml d'eau distillée.

➤ Méthode

- Décongeler 20 ou 30 ml de sang à 37°C.
- Compléter le tube avec du TE10/10 jusqu'à 45ml, agiter doucement et mettre dans la glace pendant 30min. Centrifuger à 2500 tours pendant 15min.
- Eliminer le surnageant, Ajouter 15ml de TE10/10, un retournement du tube suffit pour resuspendre le culot, puis compléter le tube à 45ml de TE10/10.
- Mettre le tube dans la glace pendant 10min et centrifuger à 2500 tours pendant 15min.
- Reprendre cette étape jusqu'à obtention d'un culot blanchâtre (culot de globules blancs).
- Au culot de lymphocytes, ajouter 5 ml de solution de lyse des globules blancs et 125µl de protéinase K à 20mg/ml et homogénéiser le culot.
- Incuber à 37°C toute la nuit dans un bain marie, sous agitation douce.
- Ajouter 2 ml de NaCl, agiter vigoureusement et centrifuger à 4000 tours/min pendant 10 min.
- Récupérer le surnageant dans un autre tube, ajouter 2 volumes d'éthanol absolu froid, laisser précipiter l'ADN par retournement du tube (Formation de la méduse)
- Récupérer la méduse par une pipette pasteur scellée, la rincer une fois à l'éthanol à 70%, la placer soit dans un tube eppendorf et la laisser sécher à l'air libre
- Dissoudre la méduse dans 200-500µl de TE10/1.

Pour une totale dissolution, laisser les tubes sur agitation lente à température ambiante pendant au moins 24 heures.

*Références
bibliographiques*

-(2003) The International HapMap Project. *Nature* **426**: 789-796

-A-

-Abdel-Rahman SZ, Soliman AS, Bondy ML, Omar S, El-Badawy SA, Khaled HM, Seifeldin IA, Levin B (2000) Inheritance of the 194Trp and the 399Gln variant alleles of the DNA repair gene XRCC1 are associated with increased risk of early-onset colorectal carcinoma in Egypt. *Cancer Lett* **159**: 79-86

-Abecasis GR, Altshuler D, Auton A, Brooks LD, Durbin RM, Gibbs RA, Hurles ME, McVean GA (2010) A map of human genome variation from population-scale sequencing. *Nature* **467**: 1061-1073

-Aberkane MS (2009) Etude de l'implication des gènes du métabolisme des xénobiotiques: GST, MDR1, CYP3A5, UGT1A1 et TS dans la survenue du cancer colorectal dans la population de l'Ouest Algérien. PhD Thesis, Département de Biologie, UNIVERSITE D'ORAN ES-SENIA,

-Aizat AA, Siti Nurfatimah MS, Aminudin MB, Biswa BM, Venkatesh RN, Zaidi Z, Ahmad Shanwani MS, Ankathil R (2011) Polymorphism Thr241Met of the XRCC3 Gene and Lack of Association with Colorectal Cancer Susceptibility Risk among Malaysian Population: A Preliminary Report. *International Medical Journal* **18**: 245-247

-Al-Hadyan KS, Al-Harbi NM, Al-Qahtani SS, Alsbeih GA (2012) Involvement of single-nucleotide polymorphisms in predisposition to head and neck cancer in Saudi Arabia. *Genet Test Mol Biomarkers* **16**: 95-101

-Al-Harithy RN, Al-Ghazzawi WM (2011) Polymorphisms of the deoxyribonucleic acid (DNA) repair gene XRCC1 and risk of colon cancer in Saudi patients. *The International Journal of Medicine and Medical Sciences* **3**: 282-288

-Andreyev HJN, Norman AR, Cunningham D, Oates J, Dix BR, Iacopetta BJ, Young J, Walsh T, Ward R, Hawkins N, Beranek M, Jandik P, Benamouzig R, Jullian E, Laurent-Puig P, Olschwang S, Muller O, Hoffmann I, Rabes HM, Zietz C, Troungos C, Valavanis C, Yuen ST, Ho JWC, Croke CT, O'Donoghue DP, Giaretti W, Rapallo A, Russo A, Bazan V, Tanaka M, Omura K, Azuma T, Ohkusa T, Fujimori T, Ono Y, Pauly M, Faber C, Glaesener R, Goeij AFPMd, Arends JW, Andersen SN, Lovig T, Breivik J, Gaudernack G, Clausen OPF, Angelis PD, Meling GI, Rognum TO, Smith R, Goh HS, Font A, Rosell R, Sun XF, Zhang H, Benhattar J, Losi L, Lee JQ, Wang ST, Clarke PA, Bell S, Quirke P, Bubb VJ, Piris J, Cruickshank NR, Morton D, Fox JC, Al-Mulla F, Lees N, Hall CN, Snary D, Wilkinson K, Dillon D, Costa J, Pricolo VE, Finkelstein SD, Thebo JS, Senagore AJ, Halter SA, Wadler S, Malik S, Krtolica K, Urosevic N (2001) Kirsten ras mutations in patients with colorectal cancer: the 'RASCAL II' study. *Br J Cancer* **85**: 692-696

-Aravind L, Makarova KS, Koonin EV (2000) SURVEY AND SUMMARY: holliday junction resolvases and related nucleases: identification of new families, phyletic distribution and evolutionary trajectories. *Nucleic acids research* **28**: 3417-3432

-Association canadienne du cancer colorectal. Le cancer colorectal, c'est quoi ? Comprendre le cancer colorectal. Vol. 2014.



-Auranen A, Song H, Waterfall C, DiCioccio RA, Kuschel B, Kjaer SK, Hogdall E, Hogdall C, Stratton J, Whittemore AS, Easton DF, Ponder BAJ, Novik KL, Dunning AM, Gayther S, Pharoah PDP (2005) Polymorphisms in DNA repair genes and epithelial ovarian cancer risk. *International Journal of Cancer* **117**: 611-618

-B-

-Baker SJ, Fearon ER, Nigro JM, Hamilton SR, Preisinger AC, Jessup JM, vanTuinen P, Ledbetter DH, Barker DF, Nakamura Y, White R, Vogelstein B (1989) Chromosome 17 deletions and p53 gene mutations in colorectal carcinomas. *Science* **244**: 217-221

-Bao Y, Jiang L, Zhou JY, Zou JJ, Zheng JY, Chen XF, Liu ZM, Shi YQ (2013) XRCC1 Gene Polymorphisms and the Risk of Differentiated Thyroid Carcinoma (DTC): A Meta-Analysis of Case-Control Studies. *PLoS One* **8**: e64851

-Ben Salah G, Fendri-Kriaa N, Kamoun H, Kallabi F, Mkaouar-Rebai E, Fourati A, Ayadi H, Fakhfakh F (2012) An interethnic variability and a functional prediction of DNA repair gene polymorphisms: the example of XRCC3 (p.Thr241>Met) and XPD (p.Lys751>Gln) in a healthy Tunisian population. *Molecular biology reports* **39**: 9639-9647

-Benhamou S, Sarasin A (2005) ERCC2 /XPD gene polymorphisms and lung cancer: a HuGE review. *American journal of epidemiology* **161**: 1-14

-Benhamou S, Tuimala J, Bouchardy C, Dayer P, Sarasin A, Hirvonen A (2004) DNA repair gene XRCC2 and XRCC3 polymorphisms and susceptibility to cancers of the upper aerodigestive tract. *International Journal of Cancer* **112**: 901-904

-Bentley DR (2000) The Human Genome Project--an overview. *Med Res Rev* **20**: 189-196

-Bernstein D, Rogers A (1996) Malignancy in Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* **91**: 434-440

-Bigler J, Ulrich CM, Kawashima T, Whitton J, Potter JD (2005) DNA repair polymorphisms and risk of colorectal adenomatous or hyperplastic polyps. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **14**: 2501-2508

-Bingham SA, Hughes R, Cross AJ (2002) Effect of white versus red meat on endogenous N-nitrosation in the human colon and further evidence of a dose response. *J Nutr* **132**: 3522S-3525S

-Bishop DK, Ear U, Bhattacharyya A, Calderone C, Beckett M, Weichselbaum RR, Shinohara A (1998) Xrcc3 is required for assembly of Rad51 complexes in vivo. *J Biol Chem* **273**: 21482-21488

-Bohr VA, Smith CA, Okumoto DS, Hanawalt PC (1985) DNA repair in an active gene: removal of pyrimidine dimers from the DHFR gene of CHO cells is much more efficient than in the genome overall. *Cell* **40**: 359-369

-Bonithon-Kopp C, Kronborg O, Giacosa A, Rath U, Faivre J (2000) Calcium and fibre supplementation in prevention of colorectal adenoma recurrence: a randomised intervention trial. European Cancer Prevention Organisation Study Group. *Lancet* **356**: 1300-1306

-Bos JL (1988) The ras gene family and human carcinogenesis. *Mutat Res* **195**: 255-271

-Bostick RM, Potter JD, Kushi LH, Sellers TA, Steinmetz KA, McKenzie DR, Gapstur SM, Folsom AR (1994) Sugar, meat, and fat intake, and non-dietary risk factors for colon cancer incidence in Iowa women (United States). *Cancer Causes Control* **5**: 38-52

-Boutron-Ruault MC, Senesse P, Meance S, Belghiti C, Faivre J (2001) Energy intake, body mass index, physical activity, and the colorectal adenoma-carcinoma sequence. *Nutr Cancer* **39**: 50-57

-Bouyer J (2009) *Épidémiologie: principes et méthodes quantitatives*: Éd. Tec & doc.

-Brennan P (2002) Gene–environment interaction and aetiology of cancer: what does it mean and how can we measure it? *Carcinogenesis* **23**: 381-387

-Brenneman MA, Weiss AE, Nickoloff JA, Chen DJ (2000) XRCC3 is required for efficient repair of chromosome breaks by homologous recombination. *Mutation Research/DNA Repair* **459**: 89-97

-Brookes AJ (1999) The essence of SNPs. *Gene* **234**: 177-186

-Burns J, Barton C, Wynford-Thomas D, Lemoine N (1993) In vitro transformation of epithelial cells by ras oncogenes. *Epithelial Cell Biol* **2**: 26-43

-C-

-Cadi M (2010) *Coloscopie virtuelle*: Lavoisier.

-Caldecott KW, McKeown, C. K., Tucker, J. D., Ljungquist, S and Thompson, L. H. (1994) an interaction between the mammalian DNA repair protein XRCC1 and DNA ligase *mol cell bio* **14**: 68-76

-Canbay E, Cakmakoglu B, Zeybek U, Sozen S, Cacina C, Gulluoglu M, Balik E, Bulut T, Yamaner S, Bugra D (2011) Association of APE1 and hOGG1 polymorphisms with colorectal cancer risk in a Turkish population. *Current Medical Research and Opinion* **27**: 1295-1302

-Carreras C, Santi D (1995) The catalytic mechanism and structure of thymidylate synthase. *Annu Rev Biochem* **64**: 721--762

-Carstensen B, Soll-Johanning H, Villadsen E, Sondergaard JO, Lynge E (1996) Familial aggregation of colorectal cancer in the general population. *Int J Cancer* **68**: 428-435

-Center MM, Jemal A, Smith RA, Ward E (2009) Worldwide Variations in Colorectal Cancer. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* **59**: 366-378

- Chang PM-H, Tzeng C-H, Chen P-M, Lin J-K, Lin T-C, Chen W-S, Jiang J-K, Wang H-S, Wang W-S (2009) ERCC1 codon 118 C→T polymorphism associated with ERCC1 expression and outcome of FOLFOX-4 treatment in Asian patients with metastatic colorectal carcinoma. *Cancer Science* **100**: 278-283
- Cheng YW, Pincas H, Bacolod MD, Schemmann G, Giardina SF, Huang J, Barral S, Idrees K, Khan SA, Zeng Z, Rosenberg S, Notterman DA, Ott J, Paty P, Barany F (2008) CpG island methylator phenotype associates with low-degree chromosomal abnormalities in colorectal cancer. *Clin Cancer Res* **14**: 6005-6013
- Chua W, Goldstein D, Lee CK, Dhillon H, Michael M, Mitchell P, Clarke SJ, Iacopetta B (2009) Molecular markers of response and toxicity to FOLFOX chemotherapy in metastatic colorectal cancer. *Br J Cancer* **101**: 998-1004
- Ciardiello F, Tortora G (2001) A novel approach in the treatment of cancer: targeting the epidermal growth factor receptor. *Clin Cancer Res* **7**: 2958-2970
- Clarke AR, Cummings MC, Harrison DJ (1995) Interaction between murine germline mutations in p53 and APC predisposes to pancreatic neoplasia but not to increased intestinal malignancy. *Oncogene* **11**: 1913-1920
- Coin F, Bergmann E, Tremeau-Bravard A, Egly JM (1999) Mutations in XPB and XPD helicases found in xeroderma pigmentosum patients impair the transcription function of TFIIH. *Embo J* **18**: 1357-1366
- Coin F, Egly JM (1998) Ten years of TFIIH. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* **63**: 105-110
- Coin F, Oksenysh V, Mocquet V, Groh S, Blattner C, Egly JM (2008) Nucleotide excision repair driven by the dissociation of CAK from TFIIH. *Mol Cell* **31**: 9-20
- Colditz GA, Cannuscio CC, Frazier AL (1997) Physical activity and reduced risk of colon cancer: implications for prevention. *Cancer Causes Control* **8**: 649-667
- Compton CC, Fielding LP, Burgart LJ, Conley B, Cooper HS, Hamilton SR, Hammond ME, Henson DE, Hutter RV, Nagle RB, Nielsen ML, Sargent DJ, Taylor CR, Welton M, Willett C (2000) Prognostic factors in colorectal cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med* **124**: 979-994
- Cooper GM, François C (1999) *La cellule: Une approche moléculaire*: De Boeck Supérieur.
- Cromie GA, Connelly JC, Leach DR (2001) Recombination at double-strand breaks and DNA ends: conserved mechanisms from phage to humans. *Mol Cell* **8**: 1163-1174
- Cross AJ, Boca S, Freedman ND, Caporaso NE, Huang WY, Sinha R, Sampson JN, Moore SC (2014) Metabolites of tobacco smoking and colorectal cancer risk. *Carcinogenesis* **35**: 1516-1522
- Csink AK, Henikoff S (1998) Something from nothing: the evolution and utility of satellite repeats. *Trends Genet* **14**: 200-204

-Curtin K, Samowitz WS, Wolff RK, Ulrich CM, Caan BJ, Potter JD, Slattery ML (2009) Assessing Tumor Mutations to Gain Insight into Base Excision Repair Sequence Polymorphisms and Smoking in Colon Cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* **18**: 3384-3388

-Curwen GB, Murphy S, Tawn EJ, Winther JF, Boice JD (2011) A study of DNA damage recognition and repair gene polymorphisms in relation to cancer predisposition and G2 chromosomal radiosensitivity. *Environmental and molecular mutagenesis* **52**: 72-76

-D-

-Davies H, Bignell GR, Cox C, Stephens P, Edkins S, Clegg S, Teague J, Woffendin H, Garnett MJ, Bottomley W, Davis N, Dicks E, Ewing R, Floyd Y, Gray K, Hall S, Hawes R, Hughes J, Kosmidou V, Menzies A, Mould C, Parker A, Stevens C, Watt S, Hooper S, Wilson R, Jayatilake H, Gusterson BA, Cooper C, Shipley J, Hargrave D, Pritchard-Jones K, Maitland N, Chenevix-Trench G, Riggins GJ, Bigner DD, Palmieri G, Cossu A, Flanagan A, Nicholson A, Ho JW, Leung SY, Yuen ST, Weber BL, Seigler HF, Darrow TL, Paterson H, Marais R, Marshall CJ, Wooster R, Stratton MR, Futreal PA (2002) Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature* **417**: 949-954

-Dean AG, Arner TG, Sunki GG, Friedman R, Lantinga M, Sangam S, Zubieta JC, Sullivan KM, Brendel KA, Gao Z, Fontaine N, Shu M, Fuller G, Smith DC, Nitschke DA, Fagan RF (2011) Epi Info™, a database and statistics program for public health professionals. *CDC, Atlanta, GA, USA*,

-Denoix PF (1946) Enquete permanent dans les centres anticancereux. *Bull Inst Nat Hyg* **1**: 70

-Diasio RB, Harris BE (1989) Clinical pharmacology of 5-fluorouracil. *Clin Pharmacokinet* **16**: 215-237

-Donehower LA, Harvey M, Slagle BL, McArthur MJ, Montgomery CA, Jr., Butel JS, Bradley A (1992) Mice deficient for p53 are developmentally normal but susceptible to spontaneous tumours. *Nature* **356**: 215-221

-Downward J (1996) Control of ras activation. *Cancer Surv* **27**: 87-100

-Dronkert ML, Kanaar R (2001) Repair of DNA interstrand cross-links. *Mutat Res* **486**: 217-247

-Duan W-H, Zhu Z-Y, Liu J-G, Dong M-S, Chen J-Z, Liu Q-D, Xie Y, Sun T-Y, Gao Z-F, Zhou N-X (2012) XRCC1 Arg399Gln Gene Polymorphism and Hepatocellular Carcinoma Risk in the Chinese Han Population: A Meta-analysis. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* **13**: 3601-3604

-Duarte MC, Colombo J, Rossit ARB, Silva AE (2005) Polymorphisms of the DNA repair genes XRCC1 and XRCC3 in a Brazilian population. *Genetics and Molecular Biology* **28**: 397-401

-Duell EJ, Wiencke JK, Cheng TJ, Varkonyi A, Zuo ZF, Ashok TD, Mark EJ, Wain JC, Christiani DC, Kelsey KT (2000) Polymorphisms in the DNA repair genes XRCC1 and

ERCC2 and biomarkers of DNA damage in human blood mononuclear cells. *Carcinogenesis* **21**: 965-971

-Durand G AP, Milan C et al (1992) Vécu d'une campagne de dépistage de masse des cancers colorectaux par les médecins généralistes. *Cah Socio Démo Med* **32(2-3)**: 191-205

-Duschinsky R, Plevén E, Heidelberger C (1957) THE SYNTHESIS OF 5-FLUOROPYRIMIDINES. *Journal of the American Chemical Society* **79**: 4559-4560

-E-

-Ekobom A, Helmick C, Zack M, Adami H-O (1990) Ulcerative Colitis and Colorectal Cancer. *New England Journal of Medicine* **323**: 1228-1233

-El-Bolkainy TN, Sakr MA, Nouh AA, El-Din NH (2006) A comparative study of rectal and colonic carcinoma: demographic, pathologic and TNM staging analysis. *J Egypt Natl Canc Inst* **18**: 258-263

-Ellis LM, Takahashi Y, Liu W, Shaheen RM (2000) Vascular endothelial growth factor in human colon cancer: biology and therapeutic implications. *The oncologist* **5 Suppl 1**: 11-15

-Engin AB, Karahalil B, Engin A, Karakaya AE (2010) Oxidative stress, Helicobacter pylori, and OGG1 Ser326Cys, XPC Lys939Gln, and XPD Lys751Gln polymorphisms in a Turkish population with colorectal carcinoma. *Genet Test Mol Biomarkers* **14**: 559-564

-Engin AB, Karahalil B, Karakaya AE, Engin A (2011) Association between XRCC1 ARG399GLN and P53 ARG72PRO polymorphisms and the risk of gastric and colorectal cancer in Turkish population. *Arh Hig Rada Toksikol* **62**: 207-214

-Eppert K, Scherer SW, Ozcelik H, Pirone R, Hoodless P, Kim H, Tsui LC, Bapat B, Gallinger S, Andrusis IL, Thomsen GH, Wrana JL, Attisano L (1996) MADR2 maps to 18q21 and encodes a TGFbeta-regulated MAD-related protein that is functionally mutated in colorectal carcinoma. *Cell* **86**: 543-552

-F-

-Faivre J (2001) *Epidémiologie et prévention Du Cancer Colorectal*: Springer.

-Fan J, Otterlei M, Wong HK, Tomkinson AE, Wilson DM (2004) XRCC1 co-localizes and physically interacts with PCNA. *Nucleic acids research* **32**: 2193-2201

-Fassihi H (2013) Spotlight on 'xeroderma pigmentosum'. *Photochemical & Photobiological Sciences* **12**: 78-84

-Fearon ER, Vogelstein B (1990) A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* **61**: 759-767

-Fedirko V, Tramacere I, Bagnardi V, Rota M, Scotti L, Islami F, Negri E, Straif K, Romieu I, La Vecchia C, Boffetta P, Jenab M (2011) Alcohol drinking and colorectal cancer risk: an

overall and dose–response meta-analysis of published studies. *Annals of Oncology* **22**: 1958-1972

-Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray F. (2012) GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC. International Agency for Research on Cancer, Lyon, France.

-Ferrara N, Hillan KJ, Gerber H-P, Novotny W (2004) Discovery and development of bevacizumab, an anti-VEGF antibody for treating cancer. *Nat Rev Drug Discov* **3**: 391-400

-Ferron M, Praz F, Pocard M (2005) [The genetics of colorectal cancer]. *Annales de chirurgie* **130**: 602-607

-Ferry KV, Hamilton TC, Johnson SW (2000) Increased nucleotide excision repair in cisplatin-resistant ovarian cancer cells: role of ERCC1-XPF. *Biochem Pharmacol* **60**: 1305-1313

-Feuk L, Carson AR, Scherer SW (2006) Structural variation in the human genome. *Nat Rev Genet* **7**: 85-97

-Finley R (2003) Overview of targeted therapies for cancer. *American Journal of Health-System Pharmacy* **60**: S4-S10

-Fishel R, Lescoe MK, Rao MR, Copeland NG, Jenkins NA, Garber J, Kane M, Kolodner R (1993) The human mutator gene homolog MSH2 and its association with hereditary nonpolyposis colon cancer. *Cell* **75**: 1027-1038

-Fodil M (2008) Etude de l'implication du gène HLA-DRB1 et de l'épitope partagé HLA-DRB1 dans la survenue de la Polyarthrite Rhumatoïde dans la population de l'Ouest algérien. Magister Thesis, Département de biotechnologie, Université d'Oran Es sénia,

-Forsti A, Angelini S, Festa F, Sanyal S, Zhang Z, Grzybowska E, Pamula J, Pekala W, Zientek H, Hemminki K, Kumar R (2004) Single nucleotide polymorphisms in breast cancer. *Oncol Rep* **11**: 917-922

-Frazer KA, Murray SS, Schork NJ, Topol EJ (2009) Human genetic variation and its contribution to complex traits. *Nat Rev Genet* **10**: 241-251

-Freeman JL, Perry GH, Feuk L, Redon R, McCarroll SA, Altshuler DM, Aburatani H, Jones KW, Tyler-Smith C, Hurles ME, Carter NP, Scherer SW, Lee C (2006) Copy number variation: new insights in genome diversity. *Genome Res* **16**: 949-961

-Friedberg EC (2003) DNA damage and repair. *Nature* **421**: 436-440

-Fu T-J, Tse-Dinh Y-C, Seeman NC (1994) Holliday Junction Crossover Topology. *Journal of Molecular Biology* **236**: 91-105

-Fung T, Hu FB, Fuchs C, Giovannucci E, Hunter DJ, Stampfer MJ, Colditz GA, Willett WC (2003) Major dietary patterns and the risk of colorectal cancer in women. *Arch Intern Med* **163**: 309-314

-G-

- Gabriel SB, Schaffner SF, Nguyen H, Moore JM, Roy J, Blumenstiel B, Higgins J, DeFelice M, Lochner A, Faggart M, Liu-Cordero SN, Rotimi C, Adeyemo A, Cooper R, Ward R, Lander ES, Daly MJ, Altshuler D (2002) The structure of haplotype blocks in the human genome. *Science* **296**: 2225-2229
- Gardner EJ (1951) A genetic and clinical study of intestinal polyposis, a predisposing factor for carcinoma of the colon and rectum. *Am J Hum Genet* **3**: 167-176
- Gharbi O, Chabchoub I, Limam S, Hochlef M, Ben Fatma L, Landolsi A, Gahbiche S, Braham A, Mokni M, Ajmi S, Letaief R, Ben Hadj Hamida R, Ben Ahmed S (2010) [Prognostic factors and survival of metastatic colorectal cancer in the Sousse University Hospital (Tunisia): comparative study of two treatment period of 200 patients]. *Bull Cancer* **97**: 445-451
- Gillen CD, Walmsley RS, Prior P, Andrews HA, Allan RN (1994) Ulcerative colitis and Crohn's disease: a comparison of the colorectal cancer risk in extensive colitis. *Gut* **35**: 1590-1592
- Ginsberg G, Angle K, Guyton K, Sonawane B (2011) Polymorphism in the DNA repair enzyme XRCC1: utility of current database and implications for human health risk assessment. *Mutat Res* **727**: 1-15
- Giovannucci E, Martinez ME (1996) Tobacco, colorectal cancer, and adenomas: a review of the evidence. *J Natl Cancer Inst* **88**: 1717-1730
- Goldberg M (1991) *L'Épidémiologie Sans Peine: Revue Corrigée et Augmentée*: Presses de l'Université du Québec.
- Goldman L, Masson PL (2013) *Goldman's Cecil Medicine Cancérologie*: Elsevier Health Sciences France.
- Goode EL, Ulrich CM, Potter JD (2002) Polymorphisms in DNA repair genes and associations with cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **11**: 1513-1530
- Goy J, Rosenberg MW, King WD (2008) Health risk behaviors: examining social inequalities in bladder and colorectal cancers. *Ann Epidemiol* **18**: 156-162
- Gradia S, Subramanian D, Wilson T, Acharya S, Makhov A, Griffith J, Fishel R (1999) hMSH2-hMSH6 forms a hydrolysis-independent sliding clamp on mismatched DNA. *Mol Cell* **3**: 255-261
- Grady WM (2004) Genomic instability and colon cancer. *Cancer Metastasis Rev* **23**: 11-27
- Grady WM, Myeroff LL, Swinler SE, Rajput A, Thiagalingam S, Lutterbaugh JD, Neumann A, Brattain MG, Chang J, Kim SJ, Kinzler KW, Vogelstein B, Willson JK, Markowitz S (1999) Mutational inactivation of transforming growth factor beta receptor type II in microsatellite stable colon cancers. *Cancer Res* **59**: 320-324

-Gregorieff A, Clevers H (2005) Wnt signaling in the intestinal epithelium: from endoderm to cancer. *Genes Dev* **19**: 877-890

-Griffin CS (2002) Aneuploidy, centrosome activity and chromosome instability in cells deficient in homologous recombination repair. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* **504**: 149-155

-Groden J, Thliveris A, Samowitz W, Carlson M, Gelbert L, Albertsen H, Joslyn G, Stevens J, Spirio L, Robertson M, et al. (1991) Identification and characterization of the familial adenomatous polyposis coli gene. *Cell* **66**: 589-600

-Gsur A, Bernhart K, Baiertl A, Feik E, Fuhrlinger G, Hofer P, Leeb G, Mach K, Micksche M (2011) No association of XRCC1 polymorphisms Arg194Trp and Arg399Gln with colorectal cancer risk. *Cancer Epidemiol* **35**: 25

-Gurubhagavatula S, Liu G, Park S, Zhou W, Su L, Wain JC, Lynch TJ, Neuberger DS, Christiani DC (2004) XPD and XRCC1 genetic polymorphisms are prognostic factors in advanced non-small-cell lung cancer patients treated with platinum chemotherapy. *J Clin Oncol* **22**: 2594-2601

-H-

-Haber JE (2000) Partners and pathways repairing a double-strand break. *Trends Genet* **16**: 259-264

-Hall NR, Bishop DT, Stephenson BM, Finan PJ (1996) Hereditary susceptibility to colorectal cancer. Relatives of early onset cases are particularly at risk. *Dis Colon Rectum* **39**: 739-743

-Hamelin R, Laurent-Puig P, Olschwang S, Jago N, Asselain B, Remvikos Y, Girodet J, Salmon RJ, Thomas G (1994) Association of p53 mutations with short survival in colorectal cancer. *Gastroenterology* **106**: 42-48

-Hampel H, Frankel WL, Martin E, Arnold M, Khanduja K, Kuebler P, Clendenning M, Sotamaa K, Prior T, Westman JA, Panescu J, Fix D, Lockman J, LaJeunesse J, Comeras I, de la Chapelle A (2008) Feasibility of screening for Lynch syndrome among patients with colorectal cancer. *J Clin Oncol* **26**: 5783-5788

-Han S, Zhang HT, Wang Z, Xie Y, Tang R, Mao Y, Li Y (2006) DNA repair gene XRCC3 polymorphisms and cancer risk: a meta-analysis of 48 case-control studies. *European journal of human genetics : EJHG* **14**: 1136-1144

-Hansen R, Sørensen M, Tjønneland A, Overvad K, Wallin H, Raaschou-Nielsen O, Vogel U (2008) A haplotype of polymorphisms in ASE-1, RAI and ERCC1 and the effects of tobacco smoking and alcohol consumption on risk of colorectal cancer: a danish prospective case-cohort study. *BMC Cancer* **8**: 1-8

-Hansen RD, Sorensen M, Tjonneland A, Overvad K, Wallin H, Raaschou-Nielsen O, Vogel U (2007) XPA A23G, XPC Lys939Gln, XPD Lys751Gln and XPD Asp312Asn polymorphisms, interactions with smoking, alcohol and dietary factors, and risk of colorectal cancer. *Mutat Res* **619**: 68-80



- Hartmann G, Kim H, Piquette-Miller M (2001) Regulation of the hepatic multidrug resistance gene expression by endotoxin and inflammatory cytokines in mice. *Int Immunopharmacol* **1**: 189-199
- He J, Xu Y, Qiu L-X, Li J, Zhou X-Y, Sun M-H, Wang J-C, Yang Y-J, Jin L, Wei Q-Y, Wang Y (2012a) Polymorphisms in *ERCC1* and *XPF* Genes and Risk of Gastric Cancer in an Eastern Chinese Population. *PLoS One* **7**: e49308
- He TC, Sparks AB, Rago C, Hermeking H, Zawel L, da Costa LT, Morin PJ, Vogelstein B, Kinzler KW (1998) Identification of c-MYC as a target of the APC pathway. *Science* **281**: 1509-1512
- He X-F, Wei W, Su J, Yang Z-X, Liu Y, Zhang Y, Ding D-P, Wang W (2012b) Association between the XRCC3 polymorphisms and breast cancer risk: meta-analysis based on case-control studies. *Molecular biology reports* **39**: 5125-5134
- Heidelberger C, Ghobar A, Baker RK, Mukherjee KL (1960) Studies on Fluorinated Pyrimidines X. In Vivo Studies on Tumor Resistance. *Cancer Research* **20**: 897-902
- Heldin CH, Miyazono K, ten Dijke P (1997) TGF-beta signalling from cell membrane to nucleus through SMAD proteins. *Nature* **390**: 465-471
- Ho T, Li G, Lu J, Zhao C, Wei Q, Sturgis EM (2009) Association of XRCC1 polymorphisms and risk of differentiated thyroid carcinoma: a case-control analysis. *Thyroid : official journal of the American Thyroid Association* **19**: 129-135
- Hoeijmakers JHJ (2009) DNA Damage, Aging, and Cancer. *New England Journal of Medicine* **361**: 1475-1485
- Hojatolah Rezaei MM-b, Kian Khodadad, Ali Elahi, Habib Emami, Hossein Naddaffnia (2013) Relationship between XPD Lys 751 Gln polymorphism and colorectal cancer risk: a case-control study in a population-based study. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench* **6**: 18-24
- Hong YC, Lee KH, Kim WC, Choi SK, Woo ZH, Shin SK, Kim H (2005) Polymorphisms of XRCC1 gene, alcohol consumption and colorectal cancer. *Int J Cancer* **116**: 428-432
- Hou R, Liu Y, Feng Y, Sun L, Shu Z, Zhao J, Yang S (2014) Association of single nucleotide polymorphisms of ERCC1 and XPF with colorectal cancer risk and interaction with tobacco use. *Gene* **548**: 1-5
- Houlston RS, Webb E, Broderick P, Pittman AM, Di Bernardo MC, Lubbe S, Chandler I, Vijayakrishnan J, Sullivan K, Penegar S, Carvajal-Carmona L, Howarth K, Jaeger E, Spain SL, Walther A, Barclay E, Martin L, Gorman M, Domingo E, Teixeira AS, Kerr D, Cazier JB, Niittymaki I, Tuupainen S, Karhu A, Aaltonen LA, Tomlinson IP, Farrington SM, Tenesa A, Prendergast JG, Barnetson RA, Cetnarskyj R, Porteous ME, Pharoah PD, Koessler T, Hampe J, Buch S, Schafmayer C, Tepel J, Schreiber S, Volzke H, Chang-Claude J, Hoffmeister M, Brenner H, Zanke BW, Montpetit A, Hudson TJ, Gallinger S, Campbell H, Dunlop MG (2008) Meta-analysis of genome-wide association data identifies four new susceptibility loci for colorectal cancer. *Nat Genet* **40**: 1426-1435

-Huang WY, Berndt SI, Kang D, Chatterjee N, Chanock SJ, Yeager M, Welch R, Bresalier RS, Weissfeld JL, Hayes RB (2006) Nucleotide excision repair gene polymorphisms and risk of advanced colorectal adenoma: XPC polymorphisms modify smoking-related risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **15**: 306-311

-Hung RJ, Brennan P, Canzian F, Szeszenia-Dabrowska N, Zaridze D, Lissowska J, Rudnai P, Fabianova E, Mates D, Foretova L, Janout V, Bencko V, Chabrier A, Borel S, Hall J, Boffetta P (2005a) Large-scale investigation of base excision repair genetic polymorphisms and lung cancer risk in a multicenter study. *J Natl Cancer Inst* **97**: 567-576

-Hung RJ, Hall J, Brennan P, Boffetta P (2005b) Genetic polymorphisms in the base excision repair pathway and cancer risk: a HuGE review. *American journal of epidemiology* **162**: 925-942

-Hussien Y, Gharib A, Awad H, Karam R, Elsayy W (2012) Impact of DNA repair genes polymorphism (XPD and XRCC1) on the risk of breast cancer in Egyptian female patients. *Molecular biology reports* **39**: 1895-1901

-I-

-Iacopetta B (2003) TP53 mutation in colorectal cancer. *Hum Mutat* **21**: 271-276

-Iarmarcovai G, Sari-Minodier I, Chaspoul F, Botta C, De Méo M, Orsière T, Bergé-Lefranc JL, Gallice P, Botta A (2005) Risk assessment of welders using analysis of eight metals by ICP-MS in blood and urine and DNA damage evaluation by the comet and micronucleus assays; influence of XRCC1 and XRCC3 polymorphisms. *Mutagenesis* **20**: 425-432

-Iida M, Yao T, Itoh H, Watanabe H, Matsui T, Iwashita A, Fujishima M (1988) Natural history of gastric adenomas in patients with familial adenomatosis coli/Gardner's syndrome. *Cancer* **61**: 605-611

-Iliakis G (2009) Backup pathways of NHEJ in cells of higher eukaryotes: Cell cycle dependence. *Radiat Oncol* **92**: 310-315

-Improta G, Sgambato A, Bianchino G, Zupa A, Grieco V, La Torre G, Traficante A, Cittadini A (2008) Polymorphisms of the DNA repair genes XRCC1 and XRCC3 and risk of lung and colorectal cancer: a case-control study in a Southern Italian population. *Anticancer Res* **28**: 2941-2946

-Isla D, Sarries C, Rosell R, Alonso G, Domine M, Taron M, Lopez-Vivanco G, Camps C, Botia M, Nunez L, Sanchez-Ronco M, Sanchez JJ, Lopez-Brea M, Barneto I, Paredes A, Medina B, Artal A, Lianes P (2004) Single nucleotide polymorphisms and outcome in docetaxel-cisplatin-treated advanced non-small-cell lung cancer. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO* **15**: 1194-1203

-Issa JP (2004) CpG island methylator phenotype in cancer. *Nat Rev Cancer* **4**: 988-993

-J-

- Jacks T, Remington L, Williams BO, Schmitt EM, Halachmi S, Bronson RT, Weinberg RA (1994) Tumor spectrum analysis in p53-mutant mice. *Curr Biol* **4**: 1-7
- Jacobsen NR, Raaschou-Nielsen O, Nexø B, Wallin H, Overvad K, Tjønneland A, Vogel U (2004) XRCC3 polymorphisms and risk of lung cancer. *Cancer Lett* **213**: 67-72
- Jarman AP, Wells RA (1989) Hypervariable minisatellites: recombinators or innocent bystanders? *Trends Genet* **5**: 367-371
- Jarvinen HJ (1985) Time and Type of Prophylactic Surgery for Data on 61 kinds of familial adenomatosis coli. *Annals of Surgery* **202**: 93-97
- Jasperson KW, Tuohy TM, Neklason DW, Burt RW (2010) Hereditary and familial colon cancer. *Gastroenterology* **138**: 2044-2058
- Jean-Charles S, Stéphane V, Christophe M, Olivier M (2012) *Cours de chimiothérapie antitumorale et traitement médical du cancer - 3e édition*: John Libbey Eurotext.
- Jeanpierre M, Jonveux P, Lacombe D, Leporrier N, Lyonnet S, Moraine C (2004) *Génétique médicale: formelle, chromosomique, moléculaire, clinique*: Masson.
- Jeggo PA (1998) Identification of genes involved in repair of DNA double-strand breaks in mammalian cells. *Radiat Res* **150**: S80-91
- Jelonek K, Gdowicz-Kłosok A, Pietrowska M, Borkowska M, Korfanty J, Rzeszowska-Wolny J, Widlak P (2010) Association between single-nucleotide polymorphisms of selected genes involved in the response to DNA damage and risk of colon, head and neck, and breast cancers in a Polish population. *J Appl Genet* **51**: 343-352
- Jiang Z, Li C, Xu Y, Cai S (2010) A meta-analysis on XRCC1 and XRCC3 polymorphisms and colorectal cancer risk. *International Journal of Colorectal Disease* **25**: 169-180
- Jin MJ, Chen K, Song L, Fan CH, Chen Q, Zhu YM, Ma XY, Yao KY (2005) The association of the DNA repair gene XRCC3 Thr241Met polymorphism with susceptibility to colorectal cancer in a Chinese population. *Cancer Genet Cytogenet* **163**: 38-43
- Joshi AD, Corral R, Siegmund KD, Haile RW, Le Marchand L, Martinez ME, Ahnen DJ, Sandler RS, Lance P, Stern MC (2009) Red meat and poultry intake, polymorphisms in the nucleotide excision repair and mismatch repair pathways and colorectal cancer risk. *Carcinogenesis* **30**: 472-479

-K-

- Karlín S, Burge C (1995) Dinucleotide relative abundance extremes: a genomic signature. *Trends Genet* **11**: 283-290

-Kawato Y, Aonuma M, Hirota Y, Kuga H, Sato K (1991) Intracellular roles of SN-38, a metabolite of the camptothecin derivative CPT-11, in the antitumor effect of CPT-11. *Cancer Res* **51**: 4187-4191

-Kern SE, Fearon ER, Tersmette KW, Enterline JP, Leppert M, Nakamura Y, White R, Vogelstein B, Hamilton SR (1989) Clinical and pathological associations with allelic loss in colorectal carcinoma [corrected]. *JAMA : the journal of the American Medical Association* **261**: 3099-3103

-Khanna KK, Jackson SP (2001) DNA double-strand breaks: : signaling, repair and the cancer connection. *Nature genetics* **27**: 8

-Kinzler KW, Vogelstein B (1996) Lessons from hereditary colorectal cancer. *Cell* **87**: 159-170

-Kiran M, Saxena R, Kaur J (2010) Distribution of XRCC1 genotypes in north Indian population. *Indian J Med Res* **131**: 71-75

-Korinek V, Barker N, Morin PJ, van Wichen D, de Weger R, Kinzler KW, Vogelstein B, Clevers H (1997) Constitutive transcriptional activation by a beta-catenin-Tcf complex in APC-/- colon carcinoma. *Science* **275**: 1784-1787

-Krupa R, Blasiak J (2004) An association of polymorphism of DNA repair genes XRCC1 and XRCC3 with colorectal cancer. *J Exp Clin Cancer Res* **23**: 285-294

-Krupa R, Sliwinski T, Wisniewska-Jarosinska M, Chojnacki J, Wasylecka M, Dziki L, Morawiec J, Blasiak J (2011) Polymorphisms in RAD51, XRCC2 and XRCC3 genes of the homologous recombination repair in colorectal cancer--a case control study. *Molecular biology reports* **38**: 2849-2854

-Kuniyasu H, Yasui W, Shinohara H, Yano S, Ellis LM, Wilson MR, Bucana CD, Rikita T, Tahara E, Fidler IJ (2000) Induction of angiogenesis by hyperplastic colonic mucosa adjacent to colon cancer. *Am J Pathol* **157**: 1523-1535

-L-

-Laantri N, Jalbout M, Khyatti M, Ayoub WB, Dahmoul S, Ayad M, Bedadra W, Abdoun M, Mesli S, Kandil M, Hamdi-Cherif M, Boualga K, Bouaouina N, Chouchane L, Benider A, Ben-Ayed F, Goldgar D, Corbex M (2011) XRCC1 and hOGG1 genes and risk of nasopharyngeal carcinoma in North African countries. *Mol Carcinog* **50**: 732-737

-Lacave R, Larsen CJ, Robert J (2005) *Cancérologie fondamentale*: John Libbey Eurotext.

-Ladiges W, Wiley J, MacAuley A (2003) Polymorphisms in the DNA repair gene XRCC1 and age-related disease. *Mech Ageing Dev* **124**: 27-32

-Ladiges WC (2006) Mouse models of XRCC1 DNA repair polymorphism and cancer *Oncogene* **22**: 430-436

-Lahue RS, Au KG, Modrich P (1989) DNA mismatch correction in a defined system. *Science* **245**: 160-164

-Lai J-I, Tzeng C-H, Chen P-M, Lin J-K, Lin T-C, Chen W-S, Jiang J-K, Wang H-S, Wang W-S (2009) Very low prevalence of XPD K751Q polymorphism and its association with XPD expression and outcomes of FOLFOX-4 treatment in Asian patients with colorectal carcinoma. *Cancer Science* **100**: 1261-1266

-Lamas MJ, Duran G, Balboa E, Bernardez B, Touris M, Vidal Y, Gallardo E, Lopez R, Carracedo A, Barros F (2011) Use of a comprehensive panel of biomarkers to predict response to a fluorouracil–oxaliplatin regimen in patients with metastatic colorectal cancer. *Pharmacogenomics* **12**: 433-442

-Lamerdin JE, Montgomery MA, Stilwagen SA, Scheidecker LK, Tebbs RS, Brookman KW, Thompson LH, Carrano AV (1995) Genomic sequence comparison of the human and mouse XRCC1 DNA repair gene regions. *Genomics* **25**: 547-554

-Lamoril J, Deybach JC, Bouizegarène P (2006) L'instabilité des microsatellites dans les cancers du côlon. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée* **21**: 211-222

-Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J, Devon K, Dewar K, Doyle M, FitzHugh W, Funke R, Gage D, Harris K, Heaford A, Howland J, Kann L, Lehoczky J, LeVine R, McEwan P, McKernan K, Meldrim J, Mesirov JP, Miranda C, Morris W, Naylor J, Raymond C, Rosetti M, Santos R, Sheridan A, Sougnez C, Stange-Thomann N, Stojanovic N, Subramanian A, Wyman D, Rogers J, Sulston J, Ainscough R, Beck S, Bentley D, Burton J, Clee C, Carter N, Coulson A, Deadman R, Deloukas P, Dunham A, Dunham I, Durbin R, French L, Grafham D, Gregory S, Hubbard T, Humphray S, Hunt A, Jones M, Lloyd C, McMurray A, Matthews L, Mercer S, Milne S, Mullikin JC, Mungall A, Plumb R, Ross M, Shownkeen R, Sims S, Waterston RH, Wilson RK, Hillier LW, McPherson JD, Marra MA, Mardis ER, Fulton LA, Chinwalla AT, Pepin KH, Gish WR, Chissole SL, Wendl MC, Delehaunty KD, Miner TL, Delehaunty A, Kramer JB, Cook LL, Fulton RS, Johnson DL, Minx PJ, Clifton SW, Hawkins T, Branscomb E, Predki P, Richardson P, Wenning S, Slezak T, Doggett N, Cheng JF, Olsen A, Lucas S, Elkin C, Uberbacher E, Frazier M, Gibbs RA, Muzny DM, Scherer SE, Bouck JB, Sodergren EJ, Worley KC, Rives CM, Gorrell JH, Metzker ML, Naylor SL, Kucherlapati RS, Nelson DL, Weinstock GM, Sakaki Y, Fujiyama A, Hattori M, Yada T, Toyoda A, Itoh T, Kawagoe C, Watanabe H, Totoki Y, Taylor T, Weissenbach J, Heilig R, Saurin W, Artiguenave F, Brottier P, Bruls T, Pelletier E, Robert C, Wincker P, Smith DR, Doucette-Stamm L, Rubenfield M, Weinstock K, Lee HM, Dubois J, Rosenthal A, Platzer M, Nyakatura G, Taudien S, Rump A, Yang H, Yu J, Wang J, Huang G, Gu J, Hood L, Rowen L, Madan A, Qin S, Davis RW, Federspiel NA, Abola AP, Proctor MJ, Myers RM, Schmutz J, Dickson M, Grimwood J, Cox DR, Olson MV, Kaul R, Shimizu N, Kawasaki K, Minoshima S, Evans GA, Athanasiou M, Schultz R, Roe BA, Chen F, Pan H, Ramser J, Lehrach H, Reinhardt R, McCombie WR, de la Bastide M, Dedhia N, Blocker H, Hornischer K, Nordsiek G, Agarwala R, Aravind L, Bailey JA, Bateman A, Batzoglu S, Birney E, Bork P, Brown DG, Burge CB, Cerutti L, Chen HC, Church D, Clamp M, Copley RR, Doerks T, Eddy SR, Eichler EE, Furey TS, Galagan J, Gilbert JG, Harmon C, Hayashizaki Y, Haussler D, Hermjakob H, Hokamp K, Jang W, Johnson LS, Jones TA, Kasif S, Kasprzyk A, Kennedy S, Kent WJ, Kitts P, Koonin EV, Korf I, Kulp D, Lancet D, Lowe TM, McLysaght A, Mikkelsen T, Moran JV, Mulder N, Pollara VJ, Ponting CP, Schuler G, Schultz J, Slater G, Smit AF, Stupka E, Szustakowski J, Thierry-Mieg D, Thierry-Mieg J,



Wagner L, Wallis J, Wheeler R, Williams A, Wolf YI, Wolfe KH, Yang SP, Yeh RF, Collins F, Guyer MS, Peterson J, Felsenfeld A, Wetterstrand KA, Patrinos A, Morgan MJ, de Jong P, Catanese JJ, Osoegawa K, Shizuya H, Choi S, Chen YJ (2001) Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* **409**: 860-921

-Lander ES, Schork NJ (1994) Genetic dissection of complex traits. *Science* **265**: 2037-2048

-Laurent-Puig P, Agostini J, Maley K (2010) [Colorectal oncogenesis]. *Bull Cancer* **97**: 1311-1321

-Le Morvan V, Formento JL, Milano G, Bonnet J, Robert J (2005) Techniques de recherche des polymorphismes génétiques. *Oncologie* **7**: 7-16

-Le Morvan V, Smith D, Laurand A, Brouste V, Bellott R, Soubeyran I, Mathoulin-Pelissier S, Robert J (2007) Determination of ERCC2 Lys751Gln and GSTP1 Ile105Val gene polymorphisms in colorectal cancer patients: relationships with treatment outcome. *Pharmacogenomics* **8**: 1693-1703

-Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B (1998) Genetic instabilities in human cancers. *Nature* **396**: 643-649

-Leveillard T, Andera L, Bissonnette N, Schaeffer L, Bracco L, Egly JM, Wasyluk B (1996) Functional interactions between p53 and the TFIID complex are affected by tumour-associated mutations. *Embo J* **15**: 1615-1624

-Lewin B, Sanlaville C (1998) *Gènes VI*: De Boeck Supérieur.

-Lewontin R, Kojima K (1960) The evolutionary dynamics of complex polymorphisms. *Evolution* **14**: 458-472

-Li HY, Ge X, Huang GM, Li KY, Zhao JQ, Yu XM, Bi WS, Wang YL (2012) GSTP1, ERCC1 and ERCC2 polymorphisms, expression and clinical outcome of oxaliplatin-based adjuvant chemotherapy in colorectal cancer in Chinese population. *Asian Pac J Cancer Prev* **13**: 3465-3469

-Li L, Elledge SJ, Peterson CA, Bales ES, Legerski RJ (1994) Specific association between the human DNA repair proteins XPA and ERCC1. *Proc Natl Acad Sci U S A* **91**: 5012-5016

-Liang PS, Chen TY, Giovannucci E (2009) Cigarette smoking and colorectal cancer incidence and mortality: systematic review and meta-analysis. *Int J Cancer* **124**: 2406-2415

-Lièvre A, Laurent-Puig P (2010) La voie de signalisation RAS/MAPK *Cancéro dig* **2**: 38-42

-Lindahl T, Wood RD (1999) quality control by DNA repair *science* **286**: 1897-1905

-Litchfield DW (2003) Protein kinase CK2: structure, regulation and role in cellular decisions of life and death. *The Biochemical journal* **369**: 1-15

-Liu L, Miao L, Ji G, Qiang F, Liu Z, Fan Z (2013) Association between XRCC1 and XRCC3 polymorphisms and colorectal cancer risk: a meta-analysis of 23 case-control studies. *Molecular biology reports* **40**: 3943-3952

-Liu N, Lamerdin JE, Tebbs RS, Schild D, Tucker JD, Shen MR, Brookman KW, Siciliano MJ, Walter CA, Fan W, Narayana LS, Zhou ZQ, Adamson AW, Sorensen KJ, Chen DJ, Jones NJ, Thompson LH (1998) XRCC2 and XRCC3, new human Rad51-family members, promote chromosome stability and protect against DNA cross-links and other damages. *Mol Cell* **1**: 783-793

-Liu N, Schild D, Thelen MP, Thompson LH (2002) Involvement of Rad51C in two distinct protein complexes of Rad51 paralogs in human cells. *Nucleic acids research* **30**: 1009-1015

-Lodish H, Darnell JE, François C (1997) *Biologie moléculaire de la cellule*: De Boeck Université.

-Lopez-Cima MF, Gonzalez-Arriaga P, Garcia-Castro L, Pascual T, Marron MG, Puente XS, Tardon A (2007) Polymorphisms in XPC, XPD, XRCC1, and XRCC3 DNA repair genes and lung cancer risk in a population of northern Spain. *BMC Cancer* **7**: 162

-Lynch HT, Lanspa S, Smyrk T, Boman B, Watson P, Lynch J (1991) Hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndromes I & II). Genetics, pathology, natural history, and cancer control, Part I. *Cancer Genet Cytogenet* **53**: 143-160

-Lynch HT, Lynch JF (1998) Genetics of colonic cancer. *Digestion* **59**: 481-492

-Lynch HT, Lynch PM (1979) The cancer-family syndrome: a pragmatic basis for syndrome identification. *Dis Colon Rectum* **22**: 106-110

-M-

-Manceau G, Karoui M, Charachon A, Delchier JC, Sobhani I (2011) [HNPCC (hereditary non-polyposis colorectal cancer) or Lynch syndrome: a syndrome related to a failure of DNA repair system]. *Bull Cancer* **98**: 323-336

-Manuguerra M, Saletta F, Karagas MR, Berwick M, Veglia F, Vineis P, Matullo G (2006) XRCC3 and XPD/ERCC2 single nucleotide polymorphisms and the risk of cancer: a HuGE review. *American journal of epidemiology* **164**: 297-302

-Markowitz S, Wang J, Myeroff L, Parsons R, Sun L, Lutterbaugh J, Fan RS, Zborowska E, Kinzler KW, Vogelstein B, et al. (1995) Inactivation of the type II TGF-beta receptor in colon cancer cells with microsatellite instability. *Science* **268**: 1336-1338

-Masson M, Niedergang C, Schreiber V, Muller S, Menissier-de Murcia J, de Murcia G (1998) XRCC1 is specifically associated with poly(ADP-ribose) polymerase and negatively regulates its activity following DNA damage. *Mol Cell Biochem* **18**: 3563-3571

-Matsuo K, Hamajima N, Suzuki R, Andoh M, Nakamura S, Seto M, Morishimae Y, Tajima K (2004) Lack of association between DNA base excision repair gene XRCC1 Gln399Arg polymorphism and risk of malignant lymphoma in Japan. *Cancer Genet Cytogenet* **149**: 77-80

-Matullo G, Guarrera S, Carturan S, Peluso M, Malaveille C, Davico L, Piazza A, Vineis P (2001) DNA repair gene polymorphisms, bulky DNA adducts in white blood cells and bladder cancer in a case-control study. *Int J Cancer* **92**: 562-567

-Matullo G, Guarrera S, Sacerdote C, Polidoro S, Davico L, Gamberini S, Karagas M, Casetta G, Rolle L, Piazza A, Vineis P (2005) Polymorphisms/Haplotypes in DNA Repair Genes and Smoking: A Bladder Cancer Case-Control Study. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* **14**: 2569-2578

-McCarthy MI, Abecasis GR, Cardon LR, Goldstein DB, Little J, Ioannidis JP, Hirschhorn JN (2008) Genome-wide association studies for complex traits: consensus, uncertainty and challenges. *Nat Rev Genet* **9**: 356-369

-Meddah D, Meddah B, Tir Touil A, Ghalek M, Sahraoui T (2009) Étude épidémiologique du cancer du côlon chez des patients de l'Ouest algérien. *J Afr Cancer* **1**: 31-35

-Mei C-r, Luo M, Li H-m, Deng W-j, Zhou Q-h (2011) DNA repair gene polymorphisms in the nucleotide excision repair pathway and lung cancer risk: A meta-analysis. *Chin J Cancer Res* **23**: 79-91

-Mellon I, Spivak G, Hanawalt PC (1987) Selective removal of transcription-blocking DNA damage from the transcribed strand of the mammalian DHFR gene. *Cell* **51**: 241-249

-Miller PE, Lesko SM, Muscat JE, Lazarus P, Hartman TJ (2010) Dietary patterns and colorectal adenoma and cancer risk: a review of the epidemiological evidence. *Nutr Cancer* **62**: 413-424

-Miller SA, Dykes DD, Polesky HF (1988) A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic acids research* **16**: 1215

-Miyaki M, Iijima T, Konishi M, Sakai K, Ishii A, Yasuno M, Hishima T, Koike M, Shitara N, Iwama T, Utsunomiya J, Kuroki T, Mori T (1999) Higher frequency of Smad4 gene mutation in human colorectal cancer with distant metastasis. *Oncogene* **18**: 3098-3103

-Moghtit FZ, Aberkane MS, Le Morvan V, Louhibi L, Bellot R, Bousahba A, Megaiz A, Fodil M, Mediène-Benchekor S, Zemani-Fodil F, Boudjema A, Robert J, Saidi-Mehtar N (2014) No association between XRCC3 Thr241Met and XPD Lys751Gln polymorphisms and the risk of colorectal cancer in West Algerian population: a case-control study. *Medical oncology (Northwood, London, England)* **31**: 942-942

-Mohrenweiser HW, Carrano AV, Fertitta A, Perry B, Thompson LH, Tucker JD, Weber CA (1989) Refined mapping of the three DNA repair genes, ERCC1, ERCC2, and XRCC1, on human chromosome 19. *Cytogenet Cell Genet* **52**: 11-14

-Monaco R, Rosal R, Dolan MA, Pincus MR, Freyer G, Brandt-Rauf PW (2009) Conformational effects of a common codon 751 polymorphism on the C-terminal domain of the xeroderma pigmentosum D protein. *J Carcinog* **8**: 1477-3163

-Moreno V, Gemignani F, Landi S, Gioia-Patricola L, Chabrier A, Blanco I, Gonzalez S, Guino E, Capella G, Canzian F (2006) Polymorphisms in genes of nucleotide and base excision repair: risk and prognosis of colorectal cancer. *Clin Cancer Res* **12**: 2101-2108

-Morère JF, Mornex F, Soulières D (2011) *Thérapeutique du cancer*: Springer.

-Morère JF, Rainfray M (2001) *Cancer du sujet âgé*: Springer.

-Mort R, Mo L, McEwan C, Melton DW (2003) Lack of involvement of nucleotide excision repair gene polymorphisms in colorectal cancer. *British Journal of Cancer* **89**: 333-337

-Motycka TA, Bessho T, Post SM, Sung P, Tomkinson AE (2004) Physical and Functional Interaction between the XPF/ERCC1 Endonuclease and hRad52. *Journal of Biological Chemistry* **279**: 13634-13639

-Moullan N, Cox DG, Angele S, Romestaing P, Gerard JP, Hall J (2003) Polymorphisms in the DNA repair gene XRCC1, breast cancer risk, and response to radiotherapy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **12**: 1168-1174

-Moussard C, Mougin C (2005) *Biologie moléculaire. Biochimie des communications cellulaires*: De Boeck Supérieur.

-Mullis K, Faloona F, Scharf S, Saiki R, Horn G, Erlich H (1986) Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* **1**: 263-273

-Muniandy PA, Liu J, Majumdar A, Liu S-t, Seidman MM (2010) DNA interstrand crosslink repair in mammalian cells: step by step. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* **45**: 23-49

-Muniz-Mendoza R, Ayala-Madrigal ML, Partida-Perez M, Peregrina-Sandoval J, Leal-Ugarte E, Macias-Gomez N, Peralta-Leal V, Meza-Espinoza JP, Moreno-Ortiz JM, Ramirez-Ramirez R, Suarez-Villanueva S, Gutierrez-Angulo M (2012) MLH1 and XRCC1 polymorphisms in Mexican patients with colorectal cancer. *Genet Mol Res* **11**: 2315-2320

-N-

-Nagase H, Miyoshi Y, Horii A, Aoki T, Ogawa M, Utsunomiya J, Baba S, Sasazuki T, Nakamura Y (1992) Correlation between the location of germ-line mutations in the APC gene and the number of colorectal polyps in familial adenomatous polyposis patients. *Cancer Res* **52**: 4055-4057

-Nelson HH, Kelsey KT, Mott LA, Karagas MR (2002) The XRCC1 Arg399Gln polymorphism, sunburn, and non-melanoma skin cancer: evidence of gene-environment interaction. *Cancer Res* **62**: 152-155

-Nexø BA, Vogel U, Olsen A, Ketelsen T, Bukowy Z, Thomsen BL, Wallin H, Overvad K, Tjønneland A (2003) A specific haplotype of single nucleotide polymorphisms on chromosome 19q13.2-3 encompassing the gene RAI is indicative of post-menopausal breast cancer before age 55. *Carcinogenesis* **24**: 899-904

-Ni M, Zhang W-z, Qiu J-r, Liu F, Li M, Zhang Y-j, Liu Q, Bai J (2014) Association of ERCC1 and ERCC2 polymorphisms with colorectal cancer risk in a Chinese population. *Sci Rep* **4**

-Nicolas L, Adeline M, Anne B, Catherine S, Gilbert dM, Josiane MdM (2006) XRCC1 is phosphorylated by DNA-dependent protein kinase in response to DNA damage. *Nucleic acids research* **34**: 32-41

-Noll DM, Mason TM, Miller PS (2006) Formation and repair of interstrand cross-links in DNA. *Chem Rev* **106**: 277-301

-O-

-Orelli B, McClendon TB, Tsodikov OV, Ellenberger T, Niedernhofer LJ, Scharer OD (2010) The XPA-binding domain of ERCC1 is required for nucleotide excision repair but not other DNA repair pathways. *J Biol Chem* **285**: 3705-3712

- Organisation mondiale de la santé. Cancer. 2014 [updated 2014 Février; cited May 1,2014]; Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/fr/>.

-Ouyang FD, Yang FL, Chen HC, Khan MA, Huang FM, Wan XX, Xu AH, Huang X, Zhou MJ, Fang Q, Zhang DZ (2013) Polymorphisms of DNA repair genes XPD, XRCC1, and OGG1, and lung adenocarcinoma susceptibility in Chinese population. *Tumour Biol* **34**: 2843-2848

-P-

-Palli D, Trallori G, Bagnoli S, Saieva C, Tarantino O, Ceroti M, d'Albasio G, Pacini F, Amorosi A, Masala G (2000) Hodgkin's disease risk is increased in patients with ulcerative colitis. *Gastroenterology* **119**: 647-653

-Papadopoulos N, Nicolaides NC, Wei YF, Ruben SM, Carter KC, Rosen CA, Haseltine WA, Fleischmann RD, Fraser CM, Adams MD, et al. (1994) Mutation of a mutL homolog in hereditary colon cancer. *Science* **263**: 1625-1629

-Pare L, Marcuello E, Altes A, Rio Ed, Sedano L, Salazar J, Cortes A, Barnadas A, Baiget M (2008) Pharmacogenetic prediction of clinical outcome in advanced colorectal cancer patients receiving oxaliplatin/5-fluorouracil as first-line chemotherapy. *Br J Cancer* **99**: 1050-1055

-Park DJ, Stoehlmacher J, Zhang W, Tsao-Wei DD, Groshen S, Lenz HJ (2001) A Xeroderma pigmentosum group D gene polymorphism predicts clinical outcome to platinum-based chemotherapy in patients with advanced colorectal cancer. *Cancer Res* **61**: 8654-8658

-Park DJ, Zhang W, Stoehlmacher J, Tsao-Wei D, Groshen S, Gil J, Yun J, Sones E, Mallik N, Lenz HJ (2003) ERCC1 gene polymorphism as a predictor for clinical outcome in advanced colorectal cancer patients treated with platinum-based chemotherapy. *Clin Adv Hematol Oncol* **1**: 162-166



- Park JY, Lee SY, Jeon HS, Park SH, Bae NC, Lee EB, Cha SI, Park JH, Kam S, Kim IS, Jung TH (2002) Lys751Gln polymorphism in the DNA repair gene XPD and risk of primary lung cancer. *Lung Cancer* **36**: 15-16
- Phillips SF, Pemberton JH, Shorter RG (1991) *The Large Intestine: Physiology, Pathophysiology, and Disease*: Raven Press.
- Piard F, Monges. G (1998) Quels sont les facteurs histo-pronostiques utiles à la décision thérapeutique dans les cancers du côlon ? *Gastroenterol Clin Biol* **22**: 115-125
- Pinedo HM, Peters GF (1988) Fluorouracil: biochemistry and pharmacology. *J Clin Oncol* **6**: 1653-1664
- Pino MS, Chung DC (2010) The Chromosomal Instability Pathway in Colon Cancer. *Gastroenterology* **138**: 2059-2072
- Polakis P (1999) The oncogenic activation of beta-catenin. *Curr Opin Genet Dev* **9**: 15-21
- Pourquier P (2006) La réparation de l'ADN, cible potentielle d'un développement thérapeutique en cancérologie. *Bull Cancer*: 124-144
- Powell SM, Zilz N, Beazer-Barclay Y, Bryan TM, Hamilton SR, Thibodeau SN, Vogelstein B, Kinzler KW (1992) APC mutations occur early during colorectal tumorigenesis. *Nature* **359**: 235-237
- Procopciuc LM, Osian G (2013) Lys751Gln XPD and Arg399Gln XRCC1 in Romanians. Association with sporadic colorectal cancer risk and different stages of carcinomas. *Chirurgia* **108**: 711-718
- Pryde FE, Gorham HC, Louis EJ (1997) Chromosome ends: all the same under their caps. *Curr Opin Genet Dev* **7**: 822-828
- R-**
- Raymond E, Faivre S, Chaney S, Woynarowski J, Cvitkovic E (2002) Cellular and molecular pharmacology of oxaliplatin. *Molecular cancer therapeutics* **1**: 227-235
- Raymond E, Faivre S, Woynarowski JM, Chaney SG (1998) Oxaliplatin: mechanism of action and antineoplastic activity. *Semin Oncol* **25**: 4-12
- Regina M, Ramon R, Michael AD, Pincus MR, Brandt-Rauf PW (2007) Conformational Effects of a Common Codon 399 Polymorphism on the BRCT1 Domain of the XRCC1 Protein. *Protein J* **26**: 541-546
- Rezaei H, Motovali-Bashi M, Khodadad K, Elahi A, Emami H, Naddaffnia H (2013) Relationship between XPD Lys 751 Gln polymorphism and colorectal cancer risk: a case-control study in a population-based study. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench* **6**: 18-24



- Richard Shen M, Jones IM, Mohrenweiser H (1998) Nonconservative Amino Acid Substitution Variants Exist at Polymorphic Frequency in DNA Repair Genes in Healthy Humans. *Cancer Res* **58**: 604-608
- Risch N, Merikangas K (1996) The future of genetic studies of complex human diseases. *Science* **273**: 1516-1517
- Robert J (2010) [Gene polymorphisms]. *Bull Cancer* **97**: 1253-1264
- Robert J (2011) *Signalisation cellulaire et cancer: un manuel pour les étudiants et les oncologues*: Springer.
- Roberts PJ, Der CJ (2007) Targeting the Raf-MEK-ERK mitogen-activated protein kinase cascade for the treatment of cancer. *Oncogene* **26**: 3291-3310
- Robertson AB, Klungland A, Rognes T, Leiros I (2009) Base excision repair: the long and short of it. *Cell Mol Life Sci* **66**: 981-993
- Rodrigues NR, Rowan A, Smith ME, Kerr IB, Bodmer WF, Gannon JV, Lane DP (1990) p53 mutations in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* **87**: 7555-7559
- Ronaghi M (2001) Pyrosequencing sheds light on DNA sequencing. *Genome Res* **11**: 3-11
- Ruzzo A, Graziano F, Loupakis F, Rulli E, Canestrari E, Santini D, Catalano V, Ficarella R, Maltese P, Bissoni R, Masi G, Schiavon G, Giordani P, Giustini L, Falcone A, Tonini G, Silva R, Mattioli R, Floriani I, Magnani M (2007) Pharmacogenetic Profiling in Patients With Advanced Colorectal Cancer Treated With First-Line FOLFOX-4 Chemotherapy. *Journal of Clinical Oncology* **25**: 1247-1254
- Ryu JS, Hong YC, Han HS, Lee JE, Kim S, Park YM, Kim YC, Hwang TS (2004) Association between polymorphisms of ERCC1 and XPD and survival in non-small-cell lung cancer patients treated with cisplatin combination chemotherapy. *Lung Cancer* **44**: 311-316
- Ryu RA, Tae K, Min HJ, Jeong JH, Cho SH, Lee SH, Ahn YH (2011) XRCC1 polymorphisms and risk of papillary thyroid carcinoma in a Korean sample. *Journal of Korean medical science* **26**: 991-995
- S-
- Salah GB, Ayadi I, Fendri-Kriaa N, Kallabi F, Mkaouar-Rebai E, Fourati A, Fakhfakh F, Ayadi H, Kamoun H (2012) DNA repair gene polymorphisms at XRCC1 (Arg194Trp, Arg280His, and Arg399Gln) in a healthy Tunisian population: interethnic variation and functional prediction. *Genet Test Mol Biomarkers* **16**: 1218-1225
- Samowitz WS, Powers MD, Spirio LN, Nollet F, van Roy F, Slattery ML (1999) Beta-catenin mutations are more frequent in small colorectal adenomas than in larger adenomas and invasive carcinomas. *Cancer Res* **59**: 1442-1444
- Santi DV, McHenry CS, Sommer H (1974) Mechanism of interaction of thymidylate synthetase with 5-fluorodeoxyuridylate. *Biochemistry* **13**: 471-481

- Sanyal S, Festa F, Sakano S, Zhang Z, Steineck G, Norming U, Wijkstrom H, Larsson P, Kumar R, Hemminki K (2004) Polymorphisms in DNA repair and metabolic genes in bladder cancer. *Carcinogenesis* **25**: 729-734
- Schiller M, Javelaud D, Mauviel A (2004) TGF- β -induced SMAD signaling and gene regulation: consequences for extracellular matrix remodeling and wound healing. *Journal of Dermatological Science* **35**: 83-92
- Schoen RE, Weissfeld JL, Kuller LH (1994) Are women with breast, endometrial, or ovarian cancer at increased risk for colorectal cancer? *Am J Gastroenterol* **89**: 835-842
- Scoazec J-Y, Sabourin J-C (2010) 2010 : septième édition de la classification TNM. *Annales de Pathologie* **30**: 2-6
- Seeberg E, Eide L, Bjoras M (1995) The base excision repair pathway. *Trends in biochemical sciences* **20**: 391-397
- Seo BG, Kwon HC, Oh SY, Lee S, Kim SG, Kim SH, Han H, Kim HJ (2009) Comprehensive analysis of excision repair complementation group 1, glutathione S-transferase, thymidylate synthase and uridine diphosphate glucuronosyl transferase 1A1 polymorphisms predictive for treatment outcome in patients with advanced gastric cancer treated with FOLFOX or FOLFIRI. *Oncol Rep* **22**: 127-136
- Seroz T, Perez C, Bergmann E, Bradsher J, Egly JM (2000) p44/SSL1, the regulatory subunit of the XPD/RAD3 helicase, plays a crucial role in the transcriptional activity of TFIIH. *J Biol Chem* **275**: 33260-33266
- Settheetham-Ishida W, Yuenyao P, Natphopsuk S, Settheetham D, Ishida T (2011) Genetic risk of DNA repair gene polymorphisms (XRCC1 and XRCC3) for high risk human papillomavirus negative cervical cancer in Northeast Thailand. *Asian Pac J Cancer Prev* **12**: 963-966
- Shen MR, Jones IM, Mohrenweiser H (1998) Nonconservative amino acid substitution variants exist at polymorphic frequency in DNA repair genes in healthy humans. *Cancer Res* **58**: 604-608
- Sherry ST, Ward MH, Kholodov M, Baker J, Phan L, Smigielski EM, Sirotkin K (2001) dbSNP: the NCBI database of genetic variation. *Nucleic acids research* **29**: 308-311
- Shiloh Y (2003) ATM and related protein kinases: safeguarding genome integrity. *Nat Rev Cancer* **3**: 155-168
- Shirasawa S, Furuse M, Yokoyama N, Sasazuki T (1993) Altered growth of human colon cancer cell lines disrupted at activated Ki-ras. *science* **260**: 85-88
- Shu XO, Cai Q, Gao YT, Wen W, Jin F, Zheng W (2003) A population-based case-control study of the Arg399Gln polymorphism in DNA repair gene XRCC1 and risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **12**: 1462-1467

- Siciliano MJ, Bachinski L, Dolf G, Carrano AV, Thompson LH (1987) CHROMOSOMAL ASSIGNMENTS OF HUMAN DNA-REPAIR GENES THAT COMPLEMENT CHINESE-HAMSTER OVARY (CHO) CELL MUTANTS. *Cytogenetics and Cell Genetics* **46**: 691-692
- Skjelbred CF, Saebo M, Wallin H, Nexø BA, Hagen PC, Lothe IM, Aase S, Johnson E, Hansteen IL, Vogel U, Kure EH (2006) Polymorphisms of the XRCC1, XRCC3 and XPD genes and risk of colorectal adenoma and carcinoma, in a Norwegian cohort: a case control study. *BMC Cancer* **6**: 67
- Slee EA, O'Connor DJ, Lu X (2004) To die or not to die: how does p53 decide? *Oncogene* **23**: 2809-2818
- Sliwinski T, Krupa R, Wisniewska-Jarosinska M, Lech J, Morawiec Z, Chojnacki J, Blasiak J (2008) No association between the Arg194Trp and Arg399Gln polymorphisms of the XRCC1 gene and colorectal cancer risk and progression in a Polish population. *Exp Oncol* **30**: 253-254
- Smith TR, Miller MS, Lohman K, Lange EM, Case LD, Mohrenweiser HW, Hu JJ (2003) Polymorphisms of XRCC1 and XRCC3 genes and susceptibility to breast cancer. *Cancer Lett* **190**: 183-190
- Soulie P, Raymond E, Brienza S, Cvitkovic E (1997) [Oxaliplatin: the first DACH platinum in clinical practice]. *Bull Cancer* **84**: 665-673
- Spindler K-LG, Andersen RF, Jensen LH, Ploen J, Jakobsen A (2010) EGF61A>G polymorphism as predictive marker of clinical outcome to first-line capecitabine and oxaliplatin in metastatic colorectal cancer. *Annals of Oncology* **21**: 535-539
- Spirio L, Olschwang S, Groden J, Robertson M, Samowitz W, Joslyn G, Gelbert L, Thliveris A, Carlson M, Otterud B, et al. (1993) Alleles of the APC gene: an attenuated form of familial polyposis. *Cell* **75**: 951-957
- Stern MC, Conti DV, Siegmund KD, Corral R, Yuan JM, Koh WP, Yu MC (2007) DNA repair single-nucleotide polymorphisms in colorectal cancer and their role as modifiers of the effect of cigarette smoking and alcohol in the Singapore Chinese Health Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **16**: 2363-2372
- Stern MC, Siegmund KD, Corral R, Haile RW (2005) XRCC1 and XRCC3 polymorphisms and their role as effect modifiers of unsaturated fatty acids and antioxidant intake on colorectal adenomas risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **14**: 609-615
- Sterpone S, Cozzi R (2010) Influence of XRCC1 Genetic Polymorphisms on Ionizing Radiation-Induced DNA Damage and Repair. *Journal of Nucleic Acids* **2010**: 6
- Stoehlmacher J, Ghaderi V, Iobal S, Groshen S, Tsao-Wei D, Park D, Lenz HJ (2001) A polymorphism of the XRCC1 gene predicts for response to platinum based treatment in advanced colorectal cancer. *Anticancer Res* **21**: 3075-3079
- Stoehlmacher J, Park DJ, Zhang W, Yang D, Groshen S, Zahedy S, Lenz HJ (2004) A multivariate analysis of genomic polymorphisms: prediction of clinical outcome to 5-

FU/oxaliplatin combination chemotherapy in refractory colorectal cancer. *Br J Cancer* **91**: 344-354

-Stojic L, Brun R, Jiricny J (2004) Mismatch repair and DNA damage signalling. *DNA Repair* **3**: 1091-1101

-Sugasawa K (2006) UV-induced ubiquitylation of XPC complex, the UV-DDB-ubiquitin ligase complex, and DNA repair. *J Mol Biol* **37**: 189-202

-Sung P, Bailly V, Weber C, Thompson LH, Prakash L, Prakash S (1993) Human xeroderma pigmentosum group D gene encodes a DNA helicase. *Nature* **365**: 852-855

-Sung P, Guzder SN, Prakash L, Prakash S (1996) Reconstitution of TFIIH and requirement of its DNA helicase subunits, Rad3 and Rad25, in the incision step of nucleotide excision repair. *J Biol Chem* **271**: 10821-10826

-T-

-Tabor HK, Risch NJ, Myers RM (2002) Candidate-gene approaches for studying complex genetic traits: practical considerations. *Nat Rev Genet* **3**: 391-397

-Tagu D, Moussard C (2003) *Principes des techniques de biologie moléculaire*: Institut National de la Recherche Agronomique.

-Tebbs RS, Zhao Y, Tucker JD, Scheerer JB, Siciliano MJ, Hwang M, Liu N, Legerski RJ, Thompson LH (1995) Correction of chromosomal instability and sensitivity to diverse mutagens by a cloned cDNA of the XRCC3 DNA repair gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **92**: 6354-6358

-Thompson LH, Brookman KW, Jones NJ, Allen SA, Carrano AV (1990) Molecular cloning of the human XRCC1 gene, which corrects defective DNA strand break repair and sister chromatid exchange. *mol cell bio* **10**: 6160-6171

-Thompson LH, West MG (2000) XRCC1 keeps DNA from getting stranded. *Mutat Res* **459**: 1-18

-Tian Z, Li Y-L, Liu J-G (2013) XRCC1 Arg399Gln polymorphism contributes to increased risk of colorectal cancer in Chinese population. *Molecular biology reports* **40**: 4147-4151

-Tirode F, Busso D, Coin F, Egly JM (1999) Reconstitution of the transcription factor TFIIH: assignment of functions for the three enzymatic subunits, XPB, XPD, and cdk7. *Mol Cell* **3**: 87-95

-Tregouet DA, Garelle V (2007) A new JAVA interface implementation of THESIAS: testing haplotype effects in association studies. *Bioinformatics* **23**: 1038-1039

-V-

-van Duin M, de Wit J, Odijk H, Westerveld A, Yasui A, Koken MH, Hoeijmakers JH, Bootsma D (1986) Molecular characterization of the human excision repair gene ERCC-1: cDNA cloning and amino acid homology with the yeast DNA repair gene RAD10. *Cell* **44**: 913-923

-van Duin M, Koken MH, van den Tol J, ten Dijke P, Odijk H, Westerveld A, Bootsma D, Hoeijmakers JH (1987) Genomic characterization of the human DNA excision repair gene ERCC-1. *Nucleic acids research* **15**: 9195-9213

-Varzim G, Monteiro E, Silva RA, Fernandes J, Lopes C (2003) CYP1A1 and XRCC1 gene polymorphisms in SCC of the larynx. *Eur J Cancer Prev* **12**: 495-499

-Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, Smith HO, Yandell M, Evans CA, Holt RA, Gocayne JD, Amanatides P, Ballew RM, Huson DH, Wortman JR, Zhang Q, Kodira CD, Zheng XH, Chen L, Skupski M, Subramanian G, Thomas PD, Zhang J, Gabor Miklos GL, Nelson C, Broder S, Clark AG, Nadeau J, McKusick VA, Zinder N, Levine AJ, Roberts RJ, Simon M, Slayman C, Hunkapiller M, Bolanos R, Delcher A, Dew I, Fasulo D, Flanigan M, Florea L, Halpern A, Hannenhalli S, Kravitz S, Levy S, Mobarry C, Reinert K, Remington K, Abu-Threideh J, Beasley E, Biddick K, Bonazzi V, Brandon R, Cargill M, Chandramouliswaran I, Charlab R, Chaturvedi K, Deng Z, Di Francesco V, Dunn P, Eilbeck K, Evangelista C, Gabrielian AE, Gan W, Ge W, Gong F, Gu Z, Guan P, Heiman TJ, Higgins ME, Ji RR, Ke Z, Ketchum KA, Lai Z, Lei Y, Li Z, Li J, Liang Y, Lin X, Lu F, Merkulov GV, Milshina N, Moore HM, Naik AK, Narayan VA, Neelam B, Nusskern D, Rusch DB, Salzberg S, Shao W, Shue B, Sun J, Wang Z, Wang A, Wang X, Wang J, Wei M, Wides R, Xiao C, Yan C, Yao A, Ye J, Zhan M, Zhang W, Zhang H, Zhao Q, Zheng L, Zhong F, Zhong W, Zhu S, Zhao S, Gilbert D, Baumhueter S, Spier G, Carter C, Cravchik A, Woodage T, Ali F, An H, Awe A, Baldwin D, Baden H, Barnstead M, Barrow I, Beeson K, Busam D, Carver A, Center A, Cheng ML, Curry L, Danaher S, Davenport L, Desilets R, Dietz S, Dodson K, Doup L, Ferriera S, Garg N, Gluecksmann A, Hart B, Haynes J, Haynes C, Heiner C, Hladun S, Hostin D, Houck J, Howland T, Ibegwam C, Johnson J, Kalush F, Kline L, Koduru S, Love A, Mann F, May D, McCawley S, McIntosh T, McMullen I, Moy M, Moy L, Murphy B, Nelson K, Pfannkoch C, Pratts E, Puri V, Qureshi H, Reardon M, Rodriguez R, Rogers YH, Romblad D, Ruhfel B, Scott R, Sitter C, Smallwood M, Stewart E, Strong R, Suh E, Thomas R, Tint NN, Tse S, Vech C, Wang G, Wetter J, Williams S, Williams M, Windsor S, Winn-Deen E, Wolfe K, Zaveri J, Zaveri K, Abril JF, Guigo R, Campbell MJ, Sjolander KV, Karlak B, Kejariwal A, Mi H, Lazareva B, Hatton T, Narechania A, Diemer K, Muruganujan A, Guo N, Sato S, Bafna V, Istrail S, Lippert R, Schwartz R, Walenz B, Yooseph S, Allen D, Basu A, Baxendale J, Blick L, Caminha M, Carnes-Stine J, Caulk P, Chiang YH, Coyne M, Dahlke C, Mays A, Dombroski M, Donnelly M, Ely D, Esparham S, Fosler C, Gire H, Glanowski S, Glasser K, Glodek A, Gorokhov M, Graham K, Gropman B, Harris M, Heil J, Henderson S, Hoover J, Jennings D, Jordan C, Jordan J, Kasha J, Kagan L, Kraft C, Levitsky A, Lewis M, Liu X, Lopez J, Ma D, Majoros W, McDaniel J, Murphy S, Newman M, Nguyen T, Nguyen N, Nodell M, Pan S, Peck J, Peterson M, Rowe W, Sanders R, Scott J, Simpson M, Smith T, Sprague A, Stockwell T, Turner R, Venter E, Wang M, Wen M, Wu D, Wu M, Xia A, Zandieh A, Zhu X (2001) The sequence of the human genome. *Science* **291**: 1304-1351

-Viguiier J, Boige V, Miquel C, Pocard M, Giraudeau B, Sabourin JC, Ducreux M, Sarasin A, Praz F (2005) ERCC1 codon 118 polymorphism is a predictive factor for the tumor response to oxaliplatin/5-fluorouracil combination chemotherapy in patients with advanced colorectal cancer. *Clin Cancer Res* **11**: 6212-6217

-Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, Kern SE, Preisinger AC, Leppert M, Nakamura Y, White R, Smits AM, Bos JL (1988) Genetic alterations during colorectal-tumor development. *N Engl J Med* **319**: 525-532

-W-

-Wang B, Wang D, Huang G, Zhang C, Xu DH, Zhou W (2010a) XRCC1 polymorphisms and risk of colorectal cancer: a meta-analysis. *Int J Colorectal Dis* **25**: 313-321

-Wang J, Zhao Y, Jiang J, Gajalakshmi V, Kuriki K, Nakamura S, Akasaka S, Ishikawa H, Suzuki S, Nagaya T, Tokudome S (2010b) Polymorphisms in DNA repair genes XRCC1, XRCC3 and XPD, and colorectal cancer risk: a case-control study in an Indian population. *J Cancer Res Clin Oncol* **136**: 1517-1525

-Wang XW, Vermeulen W, Coursen JD, Gibson M, Lupold SE, Forrester K, Xu G, Elmore L, Yeh H, Hoeijmakers JH, Harris CC (1996) The XPB and XPD DNA helicases are components of the p53-mediated apoptosis pathway. *Genes & Development* **10**: 1219-1232

-Wang Y, Spitz MR, Zhu Y, Dong Q, Shete S, Wu X (2003) From genotype to phenotype: correlating XRCC1 polymorphisms with mutagen sensitivity. *DNA Repair* **2**: 901-908

-Wang Z, Zhang W (2013) Association between XRCC3 Thr241Met polymorphism and colorectal cancer risk. *Tumour Biol* **34**: 1421-1429

-Watson M, Stewart R, Smith G, Massey T, Bell D (1998) Human glutathione S-transferase P1 polymorphisms: relationship to lung tissue enzyme activity and population frequency distribution. *Carcinogenesis* **19**: 275-280

-Weber CA, Salazar EP, Stewart SA, Thompson LH (1988) Molecular cloning and biological characterization of a human gene, ERCC2, that corrects the nucleotide excision repair defect in CHO UV5 cells. *Mol Cell Biol* **8**: 1137-1146

-Weber CA, Salazar EP, Stewart SA, Thompson LH (1990) ERCC2: cDNA cloning and molecular characterization of a human nucleotide excision repair gene with high homology to yeast RAD3. *Embo J* **9**: 1437-1447

-Weeda G, Donker I, de Wit J, Morreau H, Janssens R, Vissers CJ, Nigg A, van Steeg H, Bootsma D, Hoeijmakers JHJ (1997) Disruption of mouse ERCC1 results in a novel repair syndrome with growth failure, nuclear abnormalities and senescence. *Current Biology* **7**: 427-439

-Weitz J, Koch M, Debus J, Hohler T, Galle PR, Buchler MW (2005) Colorectal cancer. *Lancet* **365**: 153-165

-Winkler GS, Araujo SJ, Fiedler U, Vermeulen W, Coin F, Egly JM, Hoeijmakers JH, Wood RD, Timmers HT, Weeda G (2000) TFIID with inactive XPD helicase functions in transcription initiation but is defective in DNA repair. *J Biol Chem* **275**: 4258-4266

-Winsey SL, Haldar NA, Marsh HP, Bunce M, Marshall SE, Harris AL, Wojnarowska F, Welsh KI (2000) A variant within the DNA repair gene XRCC3 is associated with the development of melanoma skin cancer. *Cancer Res* **60**: 5612-5616

-Wu K, Su D, Lin K, Luo J, Au WW (2011) XRCC1 Arg399Gln gene polymorphism and breast cancer risk: a meta-analysis based on case-control studies. *Asian Pac J Cancer Prev* **12**: 2237-2243

-Wu Q, Christensen LA, Legerski RJ, Vasquez KM (2005) *Mismatch repair participates in error-free processing of DNA interstrand crosslinks in human cells*, Vol. 6.

-X-

-Xiao H, Pearson A, Coulombe B, Truant R, Zhang S, Regier JL, Triezenberg SJ, Reinberg D, Flores O, Ingles CJ, et al. (1994) Binding of basal transcription factor TFIID to the acidic activation domains of VP16 and p53. *Mol Cell Biol* **14**: 7013-7024

-Xiaodong Zhang SM, Paul A. Bates, Philip C. Whitehead, Arnold I. Coffey, Karl Hainbucher, Rachel A. Nash, Michael J.E. Sternberg, Tomas Lindahl and Paul S. Freemont (1998) Structure of an XRCC1 BRCT domain: a new protein-protein interaction module. *EMBO J* **17**: 6404 - 6411

-Xu YH, Gu LP, Sun YJ, Cheng BJ, Lu S (2013) No significant association between the XRCC3 Thr241Met polymorphism and lung cancer risk: a meta-analysis. *Tumour Biol* **34**: 865-874

-Xu Z, Hua LX, Qian LX, Yang J, Wang XR, Zhang W, Wu HF (2007) Relationship between XRCC1 polymorphisms and susceptibility to prostate cancer in men from Han, Southern China. *Asian journal of andrology* **9**: 331-338

-Xue H, Lu Y, Lin B, Chen J, Tang F, Huang G (2012) The Effect of XPD/ERCC2 Polymorphisms on Gastric Cancer Risk among Different Ethnicities: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One* **7**: e43431

-Y-

-Yamada NA, Hinz JM, Kopf VL, Segalle KD, Thompson LH (2004) XRCC3 ATPase activity is required for normal XRCC3-Rad51C complex dynamics and homologous recombination. *J Biol Chem* **279**: 23250-23254

-Yeh CC, Sung FC, Tang R, Chang-Chieh CR, Hsieh LL (2005) Polymorphisms of the XRCC1, XRCC3, & XPD genes, and colorectal cancer risk: a case-control study in Taiwan. *BMC Cancer* **5**: 12

-Yin J, Vogel U, Guo L, Ma Y, Wang H (2006) Lack of association between DNA repair gene ERCC1 polymorphism and risk of lung cancer in a Chinese population. *Cancer Genet Cytogenet* **164**: 66-70

-Yin M, Yan J, Martinez-Balibrea E, Graziano F, Lenz HJ, Kim HJ, Robert J, Im SA, Wang WS, Etienne-Grimaldi MC, Wei Q (2011) ERCC1 and ERCC2 polymorphisms predict clinical outcomes of oxaliplatin-based chemotherapies in gastric and colorectal cancer: a systemic review and meta-analysis. *Clin Cancer Res* **17**: 1632-1640

-Yoshiko K, Rachel AN, Arne K, Primo S, Deborah EB, Tomas L (1996) Reconstitution of DNA base excision-repair with purified human proteins: interaction between DNA polymerase beta and the XRCC1 protein. *EMBO J* **15** 6662-6670

-Yu JJ, Lee KB, Mu C, Li Q, Abernathy TV, Bostick-Bruton F, Reed E (2000) Comparison of two human ovarian carcinoma cell lines (A2780/CP70 and MCAS) that are equally resistant to platinum, but differ at codon 118 of the ERCC1 gene. *Int J Oncol* **16**: 555-560

-Yu JJ, Mu C, Lee KB, Okamoto A, Reed EL, Bostick-Bruton F, Mitchell KC, Reed E (1997) A nucleotide polymorphism in ERCC1 in human ovarian cancer cell lines and tumor tissues. *Mutation Research/Mutation Research Genomics* **382**: 13-20

-Yu Z, Chen J, Ford BN, Brackley ME, Glickman BW (1999) Human DNA repair systems: an overview. *Environmental and molecular mutagenesis* **33**: 3-20

-Yuan C, Liu X, Yan S, Wang C, Kong B (2014) Analyzing Association of the XRCC3 Gene Polymorphism with Ovarian Cancer Risk. *BioMed Research International* **2014**: 9

-Z-

-Zhang T, Zhang DM, Zhao D, Hou XM, Ma SC, Liu XJ (2014) Lack of association between the XPD Lys751Gln polymorphism and colorectal cancer risk: a meta-analysis. *Onco Targets Ther* **7**: 1255-1260

-Zhang Y, Ding D, Wang X, Zhu Z, Huang M, He X (2011) Lack of association between XPD Lys751Gln and Asp312Asn polymorphisms and colorectal cancer risk: a meta-analysis of case-control studies. *Int J Colorectal Dis* **26**: 1257-1264

-Zhao Y, Deng X, Wang Z, Wang Q, Liu Y (2012) Genetic polymorphisms of DNA repair genes XRCC1 and XRCC3 and risk of colorectal cancer in Chinese population. *Asian Pac J Cancer Prev* **13**: 665-669

-Zhenqiang F, Fanglin C, Xiangwei W, Shanhong Y, Wei C, Gang Y (2013) XRCC1 Arg194Trp and Arg280His Polymorphisms Increase Bladder Cancer Risk in Asian Population: Evidence from a Meta-Analysis. *PLoS One* **8**: 64001

-Zhu M, Zhao S (2007) Candidate gene identification approach: progress and challenges. *International journal of biological sciences* **3**: 420-427

Résumé

En Algérie, le cancer colorectal (CCR) représente un réel problème de santé publique. Celui-ci combine l'implication de facteurs génétiques et environnementaux. De nombreux gènes sont associés au risque de survenue de cette pathologie dont certains codent pour des protéines intervenant dans les mécanismes de réparation de l'ADN.

Afin de rechercher une éventuelle association entre les polymorphismes des gènes de réparation et la survenue du CCR sporadique dans la population de l'Ouest Algérien, nous avons développé une étude d'association cas/témoins portant sur les variants génétiques suivants : le SNP c.1196G>A du gène *XRCC1* (p.Arg399Gln, [rs25487](#)), le SNP c.722C>T du gène *XRCC3* (p.Thr241Met, [rs861539](#)), le SNP c.354C>T du gène *ERCC1* (p.Asn118=, [rs11615](#)) et le SNP c.2251A>C du gène *ERCC2* (p.Lys751Gln, [rs13181](#)). Cette étude préliminaire est la première du genre sur une population algérienne.

Cette étude de type cas/témoins a concerné 129 sujets atteints de CCR et 148 sujets normaux non apparentés. Le génotypage des différents polymorphismes a été réalisé par pyroséquençage. La comparaison des fréquences alléliques, génotypiques et haplotypiques entre les deux groupes a été établie par le calcul de l'odds ratio avec un intervalle de confiance à 95%.

L'analyse statistique a montré qu'il n'existait aucune différence significative de distribution des fréquences alléliques et génotypiques des polymorphismes explorés entre les cas et les contrôles ($p > 0,05$). Par ailleurs, nous avons noté une association significative entre le génotype combiné *XRCC3* (CT) et *ERCC2* (CC) avec le risque du CCR (OR = 7,33; $p = 0,02$).

En conclusion, il serait intéressant d'explorer d'autres polymorphismes des gènes de réparation de l'ADN afin de caractériser d'une manière plus précise le déterminisme génétique du CCR dans notre population. De plus, des études ultérieures sur l'implication des facteurs environnementaux au sein d'une population à effectif plus large seront nécessaires afin de proposer les stratégies de prévention du CCR les mieux adaptées à notre population.

Mots clés : CCR- *XRCC1*- *XRCC3*- *ERCC1*- *ERCC2*- polymorphisme- association- Ouest Algérien.