

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université Blida 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de biologie et physiologie cellulaire



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

Option : Bio signalisation Cellulaire et Moléculaire Immunologie

Thème

**Etude des biomarqueurs sériques dans les cancers
De l'appareil digestif**

Présenté par :

M^{elle} SEBAA A.E.K THORAYA

M^{me} ARKATI IMENE

Devant le jury composé de

M^{me} SOUR S.

MCB UB1

Présidente

M^{me} KESKAS S.

MAA UB1

Examinatrice

M^{me} OUID BESSI N.

MCA CPMC

Co-promotrice

M^{elle} ZEROUTI K.

MAA UB1

Promotrice

Promotion 2016-2017

Résumé

Le cancer est un problème majeur de santé est en passe de devenir la première cause de décès dans le monde. Les cancers digestifs (colo-rectal, estomac, voies biliaires) sont parmi les plus fréquents. Dans cette optique, notre étude porte sur la détermination de la place des marqueurs tumoraux sérique (ACE, CA19.9, AFP) dans l'évaluation du pronostic, le suivi de l'efficacité d'un traitement, la détection précoce des rechutes des pathologies cancéreuses (cancer colon-rectal, cancer des voies biliaires, cancer de l'estomac, cancer du foie et de la rate) chez les patients atteints d'un cancer digestif et traités par chirurgie et /ou chimiothérapie. A coté de l'étude de profil inflammatoire. Les résultats obtenus ont démontré que les pathologies cancéreuses digestives étudiées touchent les personnes âgées de plus de 50 ans, avec une prédominance du sexe masculin. Par ailleurs, les résultats obtenus pour le dosage des marqueurs tumoraux (l'ACE, CA19.9, L'AFP) indiquent que le taux de l'CA 19.9 est élevé dans le cas du cancer de colon et de l'estomac par rapport aux faible taux d'ACE et de l'AFP. En plus, les résultats obtenus pour les marqueurs de stress oxydative (NO) et inflammatoire (MPO) indique une augmentation qui reste non significative et sans aucune relation avec le taux des facteurs tumoraux. L'indication des marqueurs tumoraux sont limitées dans le diagnostic et le dépistage Des tumeurs digestives. Leur intérêt et surtout dans la surveillance des patients après Intervention a visée curative ou sous traitement pour apprécier l'efficacité de celui-ci.

Mots –clés : Cancers digestifs, ACE, CA19:9, AFP, stress oxydative

Abstract

Cancer is a major health problem is fast becoming the leading cause of deaths worldwide. Digestive cancers (colo- rectal, stomach, biliary tract) are among the most frequent. In this study, our goal is to focus on the determination of the role of serum tumor markers (ACE, CA19.9, AFP) in the assessment of prognosis, monitoring of treatment efficacy, early detection of relapses cancer diseases (colon-rectal cancer, bile duct cancer, stomach cancer, liver and spleen cancer) in patients with digestive cancer and treated with surgery and / or chemotherapy. Next to the study of inflammatory profile. The results obtained demonstrated that the digestive cancer pathologies studied affect people over 50 years of age, with a predominance of the male sex. Furthermore, the results obtained for the determination of tumor markers (ACE, CA19.9, AFP) indicate that the level of CA 19.9 is high in the case of colon cancer and stomach compared with low ACE and AFP rates. In addition, the results obtained for the markers of oxidative stress (NO) and inflammatory markers (MPO) indicate an increase that remains insignificant and irrelevant to the rate of tumor factors. The indication of tumor markers is limited in diagnosis and screening Digestive tumors. Their interest and especially in the monitoring of patients after Intervention has been curative or under treatment to assess the effectiveness of it.

Key words: Digestive cancers, ACE, CA19.9, AFP, oxidative stress.

ملخص

السرطان هو مشكلة صحية رئيسية تتحول بسرعة إلى السبب الرئيسي للوفيات في جميع أنحاء العالم. سرطان الجهاز الهضمي (القولون المستقيم، المعدة، القناة الصفراوية) هي من بين الأكثر شيوعاً في هذه الدراسة، تركز دراستنا على تحديد دور علامات الورم في الدم (AFP،CA19.9،ACE) في تقييم التشخيص، ورصد فعالية العلاج، والكشف المبكر عن انتكاسات أمراض السرطان (سرطان القولون المستقيم، وسرطان القناة الصفراوية، وسرطان المعدة، وسرطان الكبد والطحال) لدى المرضى الذين يعانون من سرطان الجهاز الهضمي ويعالجون بالجراحة و / أو العلاج الكيميائي. بجانب دراسة الملف الالتهابي. وأظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن أمراض سرطان الجهاز الهضمي تؤثر على الأشخاص فوق 50 سنة من العمر، مع هيمنة لجنس الذكور. وعلاوة على ذلك، تشير النتائج التي تم الحصول عليها لتحديد علامات الورم (L'AFP،CA19.9،ACE) أن مستوى CA19.9 مرتفع في حالة سرطان القولون والمعدة مقارنة مع انخفاض معدلات L'AFP،ACE، وبالإضافة إلى ذلك، تشير النتائج التي تم الحصول عليها لعلامات الأوكسدة (NO) وعلامات التهاب (MPO) إلى زيادة لا تزال ضئيلة وغير ذات صلة لمعدل عوامل الورم. استعمال علامات الورم محدود في التشخيص وفحص أورام الجهاز الهضمي. أهميتهم تتمثل خاصة في متابعة المرضى بعد التدخل العلاجي أو قيد المعالجة لتقييم فعالية ذلك.

الكلمات المفتاحية: سرطان الجهاز الهضمي،AFP، CA19.9،ACE،الأوكسدة.

Liste des abréviations

5- HIAAu	Acide 5 Hydroxy Indole Acétique
5-HT	5-Hydroxytryptamine
5-HTPu	5- HIV Prevention Trials Unit
ACE	Antigène Carcino-Embryonnaire
AcM	Anticorps Monoclonaux
ACTH	Corticotrophine
ADN	Acide Désoxyribo Nucléique
AFP	Alpha-foetoprotéine
AM Pc	Adénosine 3', 5' – Mono fosfat cyclique
AP-1	Activator protein 1
Arg-I	Arginase Inhibitors
ATP	Adénosine Triphosphate
Bcl-2	B-cell lymphoma 2
CA 125	Cancer Antigen 125
CA 72-4	Carbohydrate antigen 72.4
CA15-3	Cancer Antigen 15.3
CA195	Cancer Antigen 195
CA19-9	Carbohydrate antigen 19.9
CA242	Cancer Antigen 242
CA50	Cancer Antigen 50
c-abl	Abelson murine leukemia viral onco gene homolog 1
Casp-3	Caspase -3
cGMP	Guanosine Monophosphate cyclique
cGTP	Guanosine Triphosphate cyclique
CHC	Carcinome hépatocellulaire
C-myc	C-Myelocytomatosis
cNOS	Constitutive Monoxyde d'Azote Synthase
COX-2	Cytochrome c oxidase
Cyfra21-1	Cytokeratine-21-Fragment
Cyt c	Cytochrome c
DO	Densité optique
DR4/DR5	Death receptors 4/5
ECLIA	Electro-chimioluminescence
ELAM-1	Molécule Endothéliale d'Adhésion Leucocytaire
EOA	Espèces oxygénées activées
ERK1 / 2	Extra cellular signal-Regulated Kinase
ERO	Espèces radicalaires
FGF-2	Fibroblast Growth Factor -2
GAG	Acide hyaluronique
GICA	Gastro Intestinal Carbohydrate
GTP	Guanosine Triphosphate
H2O2	Hydrogenperoxide
HCG	Hormone Chorionique Gonadotrope
HClO	Acide hypochloreux
HIF	Hypoxia inductible factor
IGF-1	Insulin-like growth factor-1
Il-1	Interleukin-1
iNOS	Inductible Monoxyde d'Azote Synthase
LDH	Lactate Deshydrogenase
M1	Macrophages 1
M2	Macrophages 2

MAPK	Mitogen-Activated Protein Kinase
MMP	Matrix MetalloProteinase
MMPs	Matrix metalloproteinases
MPO	Myéloperoxydase
MT	Marqueurs Tumoraux
NaNO ₂	Nitrite de sodium
NF-κB	Nuclear Factor-κ b
NO	Monoxyde d'azote
NO ₂ -	Nitrites
NOS	Monoxyde d'Azote Synthase
NSE	Enolase NeuroSpécifique
O ₂ -	Anion super oxide
PAL	Phosphatase Alcaline
PDGF	platelet-derived growth factor
PDH	Pyruvate dehydrogenase
PGE ₂	Prostaglandines 2
PGHS	Prostaglandine H Synthase
PI3K	Phosphoinositide 3-Kinase
PMN	Polymorphonucléaires Neutrophiles
PTH	Parathormone
RAS	Rat sarcoma
Rb	Rétinoblastome
RNS	Reactive Nitrogen Species
RONS	Espèce Réactives d'Oxygènes et d'Azote
ROS	Reactive Oxygen Species
SCC	Squamous cell carcinoma
sGC	Guanylatecyclase soluble
SNAP	S-Nitro-N-Acetyl-Penicillamine
TAG72	Tumor-Associated Glycoprotein 72
TGF β	Transforming growth factor beta
TNFR1	Tumor necrosis factor receptor 1
TPA	Antigène Polypeptidique Tissulaire
UDP	Unité de Prélèvement
UI	Unité Interactionnelle
VEGF	Vascular endothelial growth factor
Yy1	Yin Yang 1

Glossaire

Epigénétiques :

L'épigénétique correspond au domaine se focalisant sur toutes les modifications (ou facteurs) qui ne sont pas codées par la séquence d'ADN (méthylations, prions...). Elle régule l'activité des gènes en facilitant ou en empêchant leur expression.

Microbiote :

Le microbiote correspond à l'ensemble des micro-organismes peuplant un microbiome, c'est-à-dire un milieu de vie bien défini.

Adénocarcinome :

Un adénocarcinome, contrairement à l'adénome, est une tumeur maligne (cancer) qui s'est développée dans les cellules d'une muqueuse glandulaire (estomac, côlon, bronches, etc.) ou d'une glande (prostate, ovaire, sein, thyroïde, etc.).

Epidermoïde :

Epithélioma ou carcinome : cancer se développant aux dépens des épithéliums, c'est à dire des tissus de recouvrement de la surface et des cavités de l'organisme.

Carcinoïde :

Carcinoïde ou tumeur argentaffine ou tumeur entérochromaffine ou tumeur neuroendocrine. Tumeur bénigne ou maligne peu volumineuse qui se développe surtout dans les muqueuses digestives, parfois dans la muqueuse bronchique, aux dépens des cellules endocrines dites argentaffines (colorables par certains sels d'argent).

Lymphomes :

Un lymphome correspond à une tumeur se développant dans les tissus appelés organes lymphoïdes, mais ayant la particularité de pouvoir, également apparaître dans d'autres organes. Il existe de nombreuses sortes de lymphomes, mais la majeure partie d'entre eux se développe dans les ganglions lymphatiques.

Mélanome :

Le mélanome est un cancer de la peau ou des muqueuses, développé aux dépens des mélanocytes (tumeur mélanocytaire). Son siège initial est la peau dans l'immense majorité des cas.

Modifications post-traductionnelles :

Une modification post-traductionnelle est une modification chimique d'une protéine, réalisée le plus souvent par une enzyme, après sa synthèse ou au cours de sa vie dans la cellule.

Liste des tableaux

Tableau I :	Tumeurs digestives et marqueurs associés	4
Tableau II :	Subdivision des patients en fonction de leur taux en ACE, CA19.9 et AFP	22
Tableau III :	Subdivision des pathologies en fonction de leur taux en ACE, CA19.9 et AFP.....	23

Liste des figures

Figure 1 :	Appareil digestif de l'être humain.....	2
Figure 2 :	Rôle du NO dans la cancérogénèse des cellules épithéliales gastro –intestinale.....	9
Figure 3 :	Interactions des cellules immunitaires et la tumeur.....	10
Figure 4 :	Effet du Macrophage sur la cancérogénèse tumorale, l'apoptose et l'angiogenèse....	10
Figure 5 :	Fonctions immunitaires et pro-tumorales des polynucléaires neutrophiles.....	11
Figure 6 :	Relation entre l'inflammation et le cancer.....	12
Figure 7 :	Réaction immunologique et émission du signal lumineux.....	14
Figure 8 :	Pathologies cancéreuses rencontrées dans la population étudiée.....	17
Figure 9 :	Répartition des patients selon le sexe.....	18
Figure 10 :	Répartition des pathologies cancéreuses étudiées selon le sexe.....	19
Figure 11 :	Répartition des pathologies cancéreuses étudiées selon l'âge.....	20
Figure 12 :	Répartition des patients selon le statut tabagique.....	21
Figure 13 :	Répartition des pathologies cancéreuses étudiées selon le statut tabagique.....	21
Figure 14 :	Taux des marqueurs tumoraux étudiés.....	23
Figure 15 :	Taux du NO pour l'ensemble des patients et selon la pathologie.....	25
Figure 16 :	Taux de l'activité MPO pour l'ensemble des patients et selon la pathologie.....	26
Figure 17 :	Test de corrélation entre les marqueurs tumoraux et les taux du NO et MPO (test de corrélation, nuages de point, test de Pearson).....	27

Sommaire

Introduction	1
 Chapitre I : Rappels Bibliographiques	
I. Cancers digestifs et marqueurs tumoraux	2
I. 1. Rappels anatomiques de l'appareil digestif	2
I.2. Oncogenèse des cancers digestifs.....	2
I.3. Marqueurs tumoraux.....	3
I.4. Marqueurs tumoraux des cancers digestifs.....	4
I.4.1. Antigène Carcino-Embryonnaire (ACE).....	5
I.4.2. Antigène carbohydate CA19-9.....	5
I.4.3. Alpha fœto-protéine (AFP)	5
I.5. Cancers et stress oxydatif.....	6
I.5.1. Implication du stress oxydatif dans l'apparition et l'évolution du cancer	6
I.5.2 Monoxyde d'azote et la cancérogénèse.....	7
II. Implication des cellules immunitaires et l'inflammation au cours de la Cancérogénèse	9
 Chapitre II : Matériel et Méthode	
II.1. Matériel.....	13
II.1.1. Matériel biologique	13
II.1.2. Matériel non biologique.....	13
II.2. Méthodes.....	13
II.2.1. Dosage des facteurs tumoraux sériques.....	13
II.2.2. Dosage du monoxyde d'azote	14
II.2.3. Dosage de la myéloperoxydase.....	15
II.2.4. Expression statistique des résultats.....	15

Chapitre III : Résultat et Discussion

III.1. Etude descriptive de la population étudiée.....	16
III. 1.1. Répartition des patients selon la pathologie.....	16
III. 1.2. Répartition des patients selon le sexe.....	17
III. 1.3. Répartition des pathologies cancéreuses selon l'âge.....	18
III. 1.4. Répartition des patients selon leur statut tabagique.....	19
III.2. Etude biochimique.....	20
III.2.1.Taux des marqueurs tumoraux.....	20
III.2.2.Etude du profil inflammatoire.....	22
III.2.3.Taux du NO.....	22
III.2.4.Activité MPO.....	23
III.2.5.Etude de la corrélation entre les marqueurs tumoraux et le profil inflammatoire.....	24

Conclusion

Références bibliographiques

Annexe

Introduction

Dans le monde, le cancer est une cause majeure de décès à l'origine de 8,2 millions de cas rapportés en 2012 (World Cancer Report. 2014). Les cancers digestifs sont très fréquents et touchent les deux sexes indifféremment ; ils affectent principalement le tube digestif (le colon, le rectum, l'estomac et beaucoup moins l'intestin grêle et l'œsophage) ainsi que les glandes qui lui sont associées : pancréas, foie et vésicule biliaire. L'Algérie est parmi les premiers pays de l'Afrique et du monde arabe qui détiennent un chiffre record des personnes atteints de cancer. En effet, elle enregistre annuellement 30.000 nouveaux cas de différents types de cancer dont environ 30% sont des cancers digestifs. Ces cancers occupent la troisième place chez l'homme après celui du poumon et de la prostate et la deuxième chez la femme, après le cancer du sein (Mihoubi, 2009 ; OMS, 2012).

La présence ou la progression d'une tumeur est accompagnée par la présence de certaines biomolécules ou marqueurs tumoraux ; il peut s'agir d'enzymes, d'autres protéines ou peptides de faible poids moléculaire sécrétés par les tumeurs dans différents milieux biologiques. Comme il peut s'agir aussi d'antigènes (antigène carbohydre) exprimés à la surface de la cellule cancéreuse et qui peuvent être libérés et détectés dans la circulation. Durant ces 20 dernières années, le développement de nouvelles techniques de dosage rapide avec l'emploi d'anticorps monoclonaux a permis de mettre en évidence de très nombreux marqueurs tumoraux sériques d'un grand intérêt pour le diagnostic, la surveillance thérapeutique, l'évolution de la maladie et le pronostic des différents cancers, notamment des cancers digestifs (Prost et al; 2002).

D'un autre côté, l'interaction de la tumeur et l'organisme est très complexe faisant intervenir plusieurs mécanismes. En effet, elle est étroitement liée au système immunitaire qui joue un double rôle comme un processus d'immunosurveillance pour la protection d'un côté et de l'autre côté favorisant parfois le développement et la progression tumorale (Calmels,2004).

A la lumière de ces données, nous avons tracé comme objectif à notre étude d'établir un profil des marqueurs tumoraux sériques (AC19-9, ACE et AFP) chez des patients présentant un cancer de l'appareil digestif (estomac, colorectal, hépatique, pancréatique), à côté de la détermination de certains paramètres immunologiques liés au stress oxydant (monoxyde d'azote,NO) et à l'inflammation (myéloperoxydase neutrophile, MPO). Tout en cherchant l'existence ou non d'une corrélation entre ces différents paramètres.

Rappels bibliographiques

I. Cancers digestifs et marqueurs tumoraux

I. 1. Rappels anatomiques de l'appareil digestif

L'appareil digestif est l'ensemble des organes qui assurent la transformation et l'assimilation des aliments, source unique d'énergie et de matière indispensable au fonctionnement du corps. Les organes du système digestif sont divisés en 2 grands groupes :

- Les organes du tube digestif (la bouche, le pharynx, l'œsophage, l'estomac, l'intestin Grêle et le gros intestin).
- Les organes digestifs annexes (les glandes salivaires, les dents, le pancréas, le foie et la Vésicule biliaire) concourent chacun à leur manière à la dégradation des aliments (**Figure1**) (Eliane, 2008).

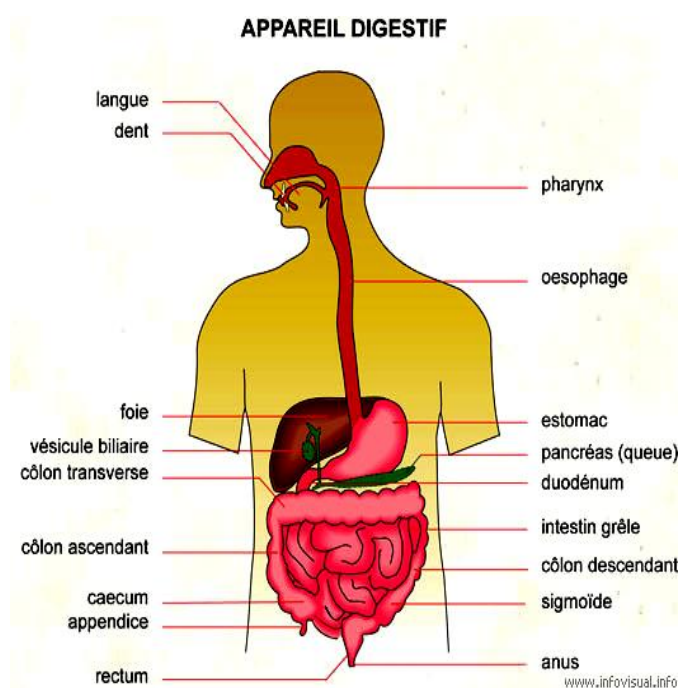


Figure1. Appareil digestif de l'être humain.

I.2. Oncogenèse des cancers digestifs

Les cancers digestifs résultent d'une prolifération cellulaire anormale au sein d'un tissu de l'appareil digestif (les plus fréquents sont : le cancer colorectal, cancer de l'estomac, cancer de l'œsophage, cancer du foie et du pancréas). Ces cellules qui dérivent généralement d'un clone cellulaire sont dotées de capacités de migration et d'invasion.

Cette prolifération anormale est liée à des altérations génétiques ou épigénétiques au niveau des proto-oncogènes (comme les gènes Ras et c-abl) et des gènes suppresseurs de tumeurs (par exemple le gène p53) ainsi qu'à un dysfonctionnement de l'ADN face à la régulation du cycle cellulaire et au système de réparation du génome (Guimbaud.,2015).

A coté de ces altérations s'ajoute des facteurs environnementaux favorisant la dysfonction cellulaire rencontrée au cours de la cancérogénèse. L'exposition à des substances toxiques, l'alimentation, la modification de microbiote intestinal, le tabagisme et la consommation régulière et excessive d'alcool accroissent les risques des cancers digestifs (De Korwin., 2014 ; Landman et Quévrain,2016).

I.3. Marqueurs tumoraux

Les marqueurs tumoraux (MT) sont des biomolécules, de différentes natures, produites par les cellules cancéreuses. Ils peuvent être détectés dans les différents liquides biologiques (MT circulants ou solubles) par différentes techniques. Certains MT ne sont pas solubles mais exprimés à la surface des cellules tumorales et peuvent être identifiés sur des coupes histologiques (MT tissulaires) (Lynn et al., 2012 ; Mercadal,2015).

Les MT circulants peuvent être subdivisés en deux groupes :

- **MT sécrétés par la tumeur** : sont les plus utilisés en clinique, tels que les Antigènes oncofoetaux (antigène carcino-embryonnaire ou ACE, Alpha foetoprotéine ou AFP), les antigènes extraits des tumeurs (CA 125, CA15.3, CA 19.9 et l'Antigène Spécifique de la Prostate ou PSA) et certains enzymes (La phosphatase alcaline ou PAL, La neuron spécifique éolase ou NSE, la lactate déshydrogénase ou LDH) et hormones (L'hormone chorionique gonadotrope ou l'HCG, calcitonine)
- **MT témoignant une réaction de l'hôte à l'invasion tumorale** : non spécifiques d'une pathologie tumorale, par exemple la ferritine, la 2-microglobuline et la thyroglobuline (Leininger,2013).

Théoriquement un MT est qualifié comme idéal s'il présente les caractéristiques suivantes (Riedinger et al., 2005):

- C'est une substance produite par la seule cellule cancéreuse et libérée dans un liquide biologique facilement accessible, sérum en particulier.
- Il a une concentration qui reflète la masse tumorale et sa cinétique.
- Son dosage prévoit l'évolution et prédire l'extension d'une tumeur.
- Capable d'évaluer l'efficacité du traitement et de surveiller les populations à risque.
- Son dosage est fiable, sensible, facile à mettre en œuvre, suffisamment rapide et peu onéreux.

Cependant, à nos jours aucun marqueur utilisé en pratique n'est considéré comme idéal. En effet, l'augmentation de la concentration sérique d'un MT n'est pas toujours

synonyme de présence ou d'évolution d'un cancer, car ils pourraient être élevés dans certaines maladies non cancéreuses, donc, en général ces MT ne sont ni spécifiques ni sensibles pour le diagnostic d'un cancer. En plus, la plupart des MT ne sont pas spécifiques d'un organe, seule une relative spécificité selon les types histologiques peut être décrite (Riedinger et al., 2005).

Malgré leur rôle limité dans le diagnostic, les MT peuvent être utiles pour détecter la récurrence ou les rechutes d'une maladie cancéreuse après le traitement initial ou pour surveiller l'efficacité d'une démarche thérapeutique (Riedinger et al., 2005 ; Samalin-Scalzi et Ychou , 2009).

I.4. Marqueurs tumoraux des cancers digestifs

Aucun marqueur sérique disponible en cancérologie digestive n'a montré son efficacité dans le dépistage des cancers digestifs, néanmoins certains MT sont très utiles pour préciser le stade évolutif du cancer et évaluer son pronostic car leur concentration initiale est un bon indicateur de la masse tumorale et constitue souvent un facteur pronostique reconnu (Moser et al.,2004).

La plupart des MT sont surtout utiles pour la surveillance des patients au cours de leur traitement ce qui assure une meilleure gestion des différentes lignes de traitement et de déceler des signes de progression ou de rémission partielle (Schillinger, 2011). Le tableau I montre la localisation des tumeurs digestives et leurs types histologiques; ainsi que les marqueurs principaux et secondaires associés (Prost, 2002).

Tableau I. Tumeurs digestives et marqueurs associés.

Organe	Type histologique	Marqueur principal	Marqueur Secondaire
Œsophage	Adénocarcinome	ACE	CA19.9
Estomac	Epidermoïde	SCC ou CYFRA 21-1 ou TPA	
	Adénocarcinome	CA72-4	CA19.9. ACE
	Carcinoïde	5- HIAAu	5-HTPu. 5-HT, NSE
Foie	Carcinome	AFP	
	Métastase	ACE. AFP. CA19.9. CA15-3. NSE	
Voie Biliaires	Adenocarcinome	CA19.9	ACE
Pancréas	Adénocarcinome	CA19.9	ACE. CA50
	Endocrine	Hormone digestives	NSE
Intestin grêle	Carcinoïde	5-HIAAu	5-HT. NSE
Colon-Rectum	Adénocarcinome	ACE	CA19.9, CA50. CA195, CA72- 4. TAG72,CA242.

I.4.1. Antigène Carcino-Embryonnaire (ACE)

L'ACE est une glycoprotéine d'environ 150 kDa appartenant à la superfamille des immunoglobulines dont plusieurs membres sont impliqués dans les processus d'adhérence et de reconnaissance cellulaire (Gauchez et Brand, 2005).

L'ACE est synthétisé essentiellement chez le fœtus (intestin, foie et pancréas) pendant les deux premiers mois de la gestation. C'est un antigène présent à la surface du pôle apical des cellules épithéliales embryonnaires du tube digestif. Chez l'adulte, on le retrouve à la surface des cellules de l'intestin grêle, du colon, du rectum, du pancréas, du poumon et du sein (Eche et al., 2001).

Cette protéine est essentiellement sécrétée par les cancers glandulaires du tube digestif (du côlon, du pancréas et de l'estomac) et leurs métastases où il joue un rôle dans les contacts cellulaires, l'adhésion à la matrice extracellulaire, la régulation de la croissance cellulaire et l'acquisition de phénotype métastatique (Hackbarth, 2010).

L'ACE est également présent dans de nombreux cancers d'origine épithéliale autres que le tractus digestif (dont ceux de l'ovaire, du poumon, du foie, de l'utérus, du sein et de la thyroïde), certaines tumeurs neuroendocrines, lymphomes et mélanomes (Bertier, 2000).

I.4.2. Antigène carbohydate CA19.9

L'antigène carbohydate CA 19.9 ou GICA (Gastro Intestinal Carbohydate) est une glycoprotéine appartenant à la famille des mucines. Il est synthétisé ou exprimé par le pancréas humain normal ainsi que par les épithéliales biliaires, gastriques, coliques, œsophagiens, endométriaux et salivaires. Son augmentation est en faveur d'une tumeur pancréatique mais comme il manque de spécificité il ne peut pas être utilisé seul pour la recherche des tumeurs pancréatiques ; il augmente également dans les cancers colorectaux et gastriques (Gaillard, 2002 ; Gauchez et Brand., 2005).

Le CA 19.9 est un ligand pour la molécule endothéliale d'adhésion leucocytaire (ELAM-1), il permet l'adhésion des cellules malignes à l'endothélium vasculaire et la dissémination hématogène des cancers exprimant cet antigène (Gauchez, 2005).

I.4.3. Alpha fœto-protéine (AFP)

L'AFP est une glycoprotéine fœtale sécrétée au cours du développement, tout d'abord par les cellules du sac vitellin puis essentiellement par le foie jusqu'à la naissance et accessoirement par les cellules du tractus intestinal (Beaudeau, 2008).

Elle exerce différentes activités physiologiques comme transporteur et facteur de croissance cellulaire. Elle joue un rôle important pendant la vie embryonnaire comme transporteur d'ions, de la bilirubine, et des acides gras polyinsaturés. Elle pourrait aussi avoir un rôle immunosuppresseur en protégeant les antigènes paternels du fœtus des anticorps circulants maternels (Christelle, 2005).

L'AFP est recherchée dans le cas d'hépatocarcinome où sa concentration sérique est corrélée à la masse tumorale, en revanche elle est faible dans les tumeurs de petite taille. Le taux de l'AFP peut être élevé dans d'autres tumeurs, en particulier les tumeurs germinales ou d'autres tumeurs embryonnaires, plus rarement dans d'autres cancers, notamment gastriques. Le taux de l'AFP peut être augmenté en cas d'hépatopathies bénigne (hépatite, cirrhose) et ainsi au cours de la grossesse (Kohlwes et al., 2003).

I.5. Cancers et stress oxydatif

A l'état physiologique, la production contrôlée des espèces réactives oxygénées (ROS) ou azotées (RNS) apparaît comme un mécanisme essentiel de la signalisation cellulaire et participent aussi au maintien de l'homéostasie en neutralisant les pathogènes. En effet, ils modulent l'activité de certains facteurs de transcription qui ont un rôle prépondérant dans l'initiation de l'apoptose, le mécanisme le plus impliqué pour empêcher une cellule saine présentant des lésions d'évoluer vers un état cancéreux (Camille et Serres, 2001 ; Wang et al., 2002 ; Basuroy et al., 2009).

A l'état pathologique, la surproduction des ROS et des RNS, génère le stress oxydatif qui se définit par un déséquilibre entre la production d'espèces réactives oxygénées ou azotées et les capacités cellulaires anti-oxydantes. Il se traduit par l'accumulation de produits d'oxydation des biomolécules (lipides, protéines, acides nucléiques) au niveau plasmatique et au niveau cellulaire, ce qui permet d'évaluer ce stress oxydant par la détermination de ces produits d'oxydation (Michel et al., 2017).

I.5.1. Implication du stress oxydatif dans l'apparition et l'évolution du cancer

Plusieurs travaux ont montré que la modification du statut redox de la cellule est associé au développement de certaines pathologies notamment les cancers.

En effet, les ROS jouent un rôle central dans l'altération de l'ADN ; le radical hydroxyle de ces espèces s'attaque à la guanine de l'ADN produisant ainsi une guanine oxydée (8 hydroxy-2'desoxyguanosine). Au cours de la réplication, cette dernière s'associe

anormalement avec la l'adénine provoquant une mutation dans le brin d'ADN néoformé (Barouki., 2006 ; Tubiana.,2008).

L'induction du stress oxydatif et la production des ROS peuvent également engendrer une activation de certains facteurs de transcription impliqués dans le processus de cancerogénèse, tels que le NFκB et la famille des AP-1 (c-Jun et c-Fos). Ces facteurs activent l'expression et la synthèse de nombreux médiateurs favorisant la progression et l'invasion des cellules tumorales, notamment les protéines d'adhésion (Plamer et al., 1997 ; Michel et al.,2017).

Les ERO peuvent provoquer des modifications post-traductionnelles des protéines impliquées dans la cancerogénèse, aboutissant à la dérégulation de plusieurs processus cellulaires comme la réparation de l'ADN, le cycle cellulaire et l'apoptose (Whang et al., 2002 ; Pervin et al., 2001 ; Melino et al., 1997).

Ils peuvent également activer l'expression des médiateurs indispensables à la cancerogénèse tels que le VEGF impliqué dans l'angiogénèse et la vascularisation tumorale ou encore la COX-2 qui démarre la voie de signalisation aboutissant à la synthèse des prostaglandines (PGE2) ; molécules qui d'une part favorisent la progression tumorale en stimulant la prolifération cellulaire et l'angiogénèse et d'autre part, inhibent l'apoptose en augmentant le pouvoir invasif des cellules tumorales (Landino et al., 1996 ; Ambs et al., 1998 ; Backlund et al., 2005).

I.5.2. Monoxyde d'azote et la cancerogénèse

Le monoxyde d'azote (NO) est une molécule ubiquitaire, impliquée dans de multiples processus physiologiques et physiopathologiques. Il dérive de L-arginine sous l'action catalytique d'une enzyme de synthèse (NOS) avec formation équimoléculaire de NO et de citrulline. Cet enzyme de synthèse existe sous forme constitutive dans les cellules endothéliales et neuronales (cNOSI et cNOSII), ou sous forme inductible dans les cellules immunitaires principalement le macrophage/monocytes (iNOSIII) (Buzelin,1995 ; De backer, 2006).

Le NO ainsi formé est un gaz dont la demi-vie n'est que de 5 secondes qui intervient dans de nombreuses voies de signalisation en activant des kinases protéiques spécifiques au niveau du système nerveux central et du système nerveux périphérique aboutissant à un effet myorelaxant (Buzelin, 1995).

Le NO est impliqué également dans des processus de réponse immunitaire comme l'inflammation grâce à son activité antivirale, antibactérienne et antiparasitaire. Il bloque aussi la prolifération des cellules cancéreuses. Pour cette fonction, le NO est généralement synthétisé par la iNOSII, en forte quantité (Ghafari, 2003).

Cependant, dans certaines situations pathologiques le NO est libéré en quantité anormalement élevée perd alors ses propriétés physiologiques et devient au contraire très toxique. En carcinogénèse, il joue un rôle ambivalent comme un médiateur pro-tumoral ou anti-tumoral. Les effets de faibles concentrations de NO sont en général qualifiés de pro-tumoraux, alors qu'à très fortes concentrations le NO agit comme un puissant agent anticancéreux favorisant l'apoptose et la nécrose et inhibant l'angiogénèse (Gauthier et al., 2004 ; Huerta et al., 2008).

Au cours de cancerogénèse des cellules épithéliales gastro-intestinales, le NO en présence des ERO et des ERN favorise la transformation maligne de ces cellules et potentialise leur invasion (**Figure 2**). Les études décrivent pour le NO plusieurs mécanismes moléculaires capables d'être incriminés dans cette transformation ; il module certains facteurs de transcription, active l'expression des oncogènes et inhibe l'apoptose des cellules tumorales. Le NO induit l'endommagement de l'ADN tout en inhibant les systèmes de réparation nucléaires. Il est également décrit comme un facteur stimulant l'angiogénèse au sein des tumeurs en induisant les facteurs de croissance VEGF et de les métalloprotéase matricielle (MMP), cette réaction induit la dégradation de la matrice extracellulaire et favorise la migration des cellules tumorales. (Jaiswal et al., 2001 ; Vannini F., 2015).

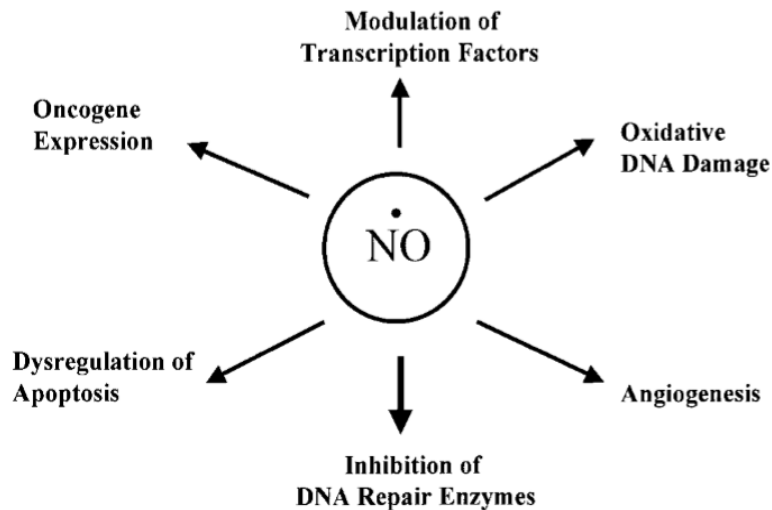


Figure 2. Rôle du NO dans la cancérogénèse des cellules épithéliales gastro-intestinales (Jaiswal et al., 2001)

II. Implication des cellules immunitaires et l'inflammation au cours de la cancérogénèse

Le développement d'une tumeur au sein d'un organisme est étroitement lié à son système immunitaire. Il est clairement établi qu'il existe un processus d'immunosurveillance qui protège l'hôte de la mise en place d'un foyer tumoral. Cependant, il est également admis que le système immunitaire facilite la progression tumorale, notamment en façonnant le phénotype immunogénique de la tumeur au cours de son développement et en favorisant sa croissance. Le système immunitaire avec ces cellules, joue donc un double rôle dans les relations complexes existantes entre l'hôte et la tumeur (**Figure 3**) (Calmels, 2004).

Le foyer tumoral est souvent entouré par des cellules immunitaires dont le rôle n'est pas clairement élucidé et souvent controversé. Les macrophages activés de type M1 sont une source importante des espèces réactives, elles produisent des quantités élevées de NO/RNS aident à la carcinogénèse en augmentant les ruptures et les mutations de l'ADN, en arrêtant le système de réparation de l'ADN et en induisant des oncogènes ou en inhibant les gènes suppresseurs de tumeurs. Des niveaux élevés de NO / RNS peuvent également entraîner l'apoptose des cellules tumorales établies, en modifiant les récepteurs de la mort et en augmentant leur expression, en inhibant NF- κ B et en améliorant la libération de cytochrome c des mitochondries. (**Figure 4**). L'hypoxie rencontrée dans les tumeurs solide attire les macrophages M2, stabilisent l'activation les facteurs de transcription HIF et stimule les voies MAPK ERK1 / 2 et PI3K, ce qui induit l'expression de facteurs pro-angiogéniques (Michal et al., 2013).

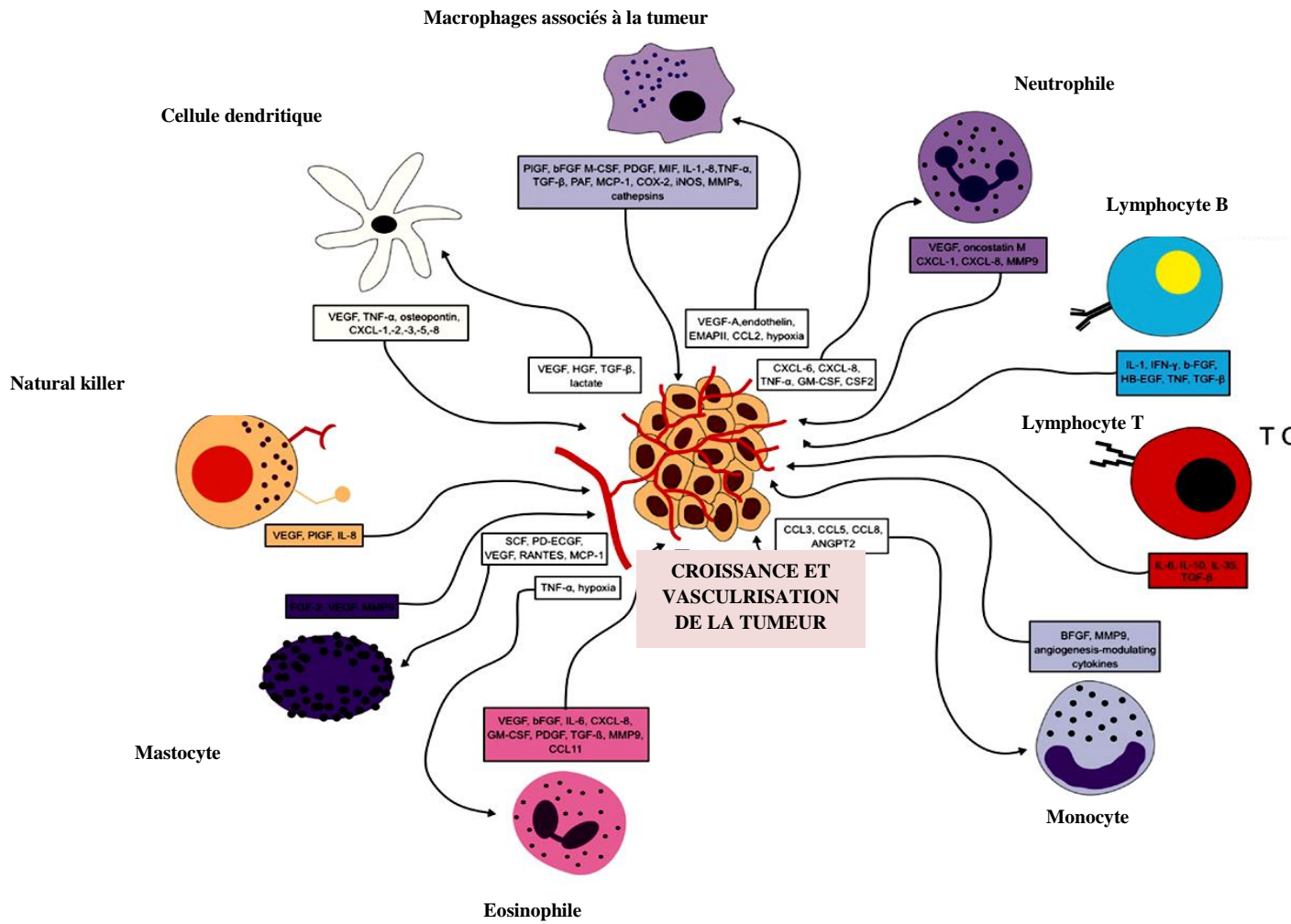


Figure 3. Interactions des cellules immunitaires et la tumeur (Stockmann et al.,2014)

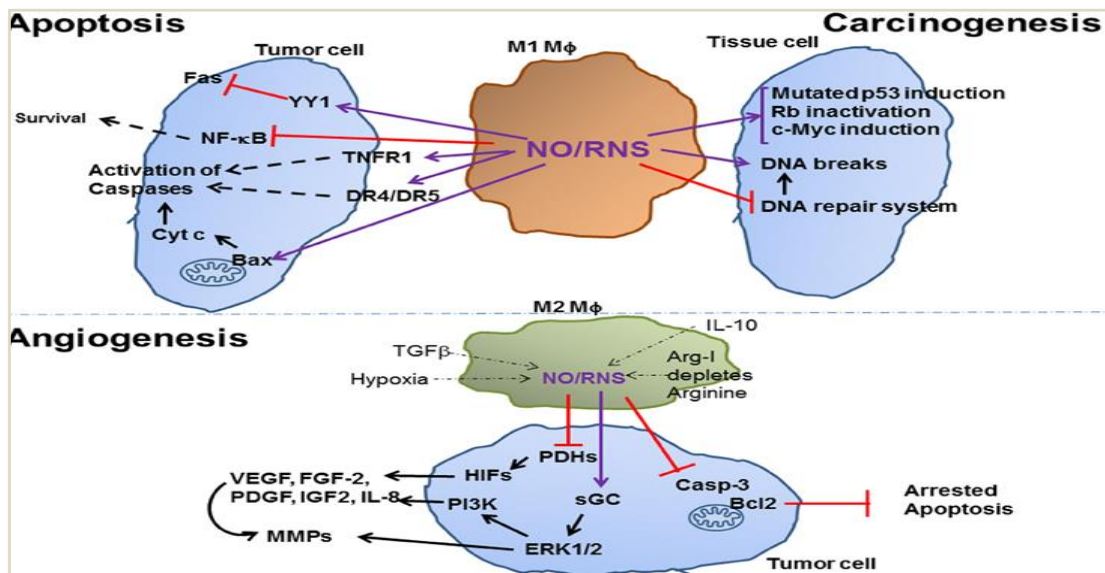


Figure 4. Effet du Macrophage sur la cancérogénèse tumorale, l'apoptose et l'angiogénèse (Michal et al.,2013)

Le polynucléaire neutrophile est une autre cellule immunitaire qui peut être impliquée. Bien que sa présence sur le site de la tumeur ait été reconnue dans les années 1970, jusqu'à récemment, cette cellule a été négligée et considérée comme jouant un rôle neutre dans la progression de la tumeur.

En effet, au cours des dernières années, on a reconnu que les neutrophiles jouaient un double rôle dans le développement de la tumeur en aidant la croissance, l'angiogenèse, l'invasion et la métastase ou en exerçant une action tumoricide directement par la sécrétion de composés anti tumoraux, ou indirectement par l'orchestration de l'immunité anti tumorale (Jablonska et al.,2010 ; Liang W et al .,2016) (**Figure 5**) .

De même, les neutrophiles ont été liés à une multitude de mécanismes différents impliqués dans la progression de la tumeur. Ils peuvent soutenir directement la croissance tumorale, par exemple en favorisant l'angiogenèse tumorale et en produisant des chimiokines et des facteurs de croissance capables de moduler la prolifération des cellules tumorales (Delano MJ et al., 2007 ; Liu CY et al .,2010 ; Zhang J et al .,2015). Ils peuvent également induire une suppression immunitaire et favoriser la dégradation de la matrice extracellulaire et la génération de la niche pré-métastatique, ce qui facilite la dissémination des cellules cancéreuses (Kalluri R et al .,2009 ; Bekes EM et al .,2011 ;Toh et al., 2011 ; Grosse-Steffen T et al .,2012 ; Hu P et al .,2015 ; Seubert B et al., 2015 ; Liang W et al .,2016).

L'ensemble des cellules immunitaires activées par la tumeur elle-même ou par d'autres stimuli (infections bactérienne comme *Helicobacter pylori* dans les cancers gastriques ou des molécules toxiques) créent une inflammation chronique qui peut favoriser la transformation maligne des cellules épithéliales (**Figure 6**)

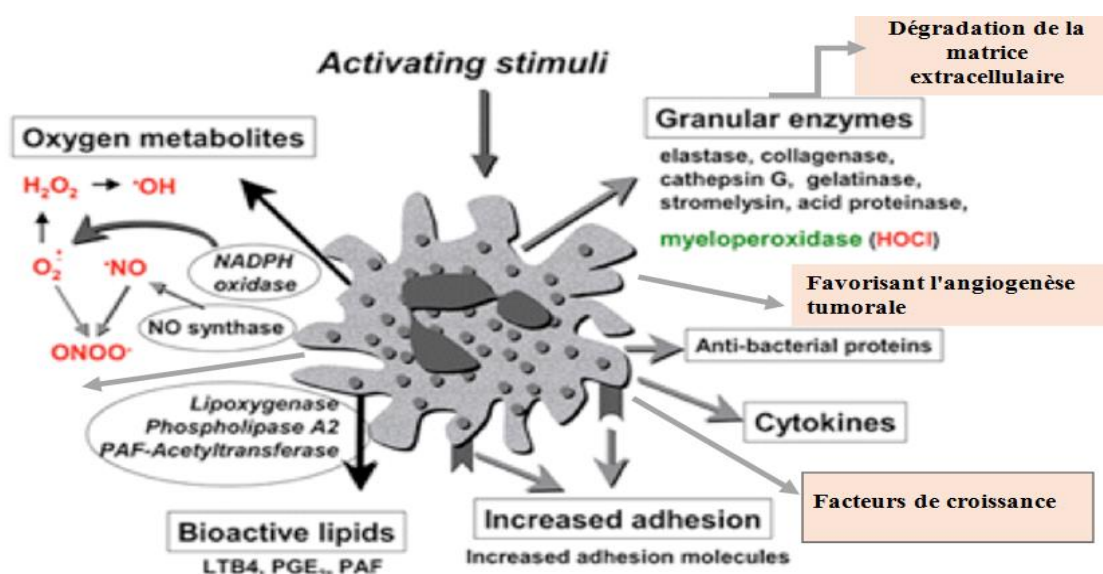


Figure 5. Fonctions immunitaires et pro-tumorales des polynucléaires neutrophiles (Equine et al., 2007 ; Hu P et al .,2015 ; Seubert B et al., 2015 ; Liang W et al .,2016).

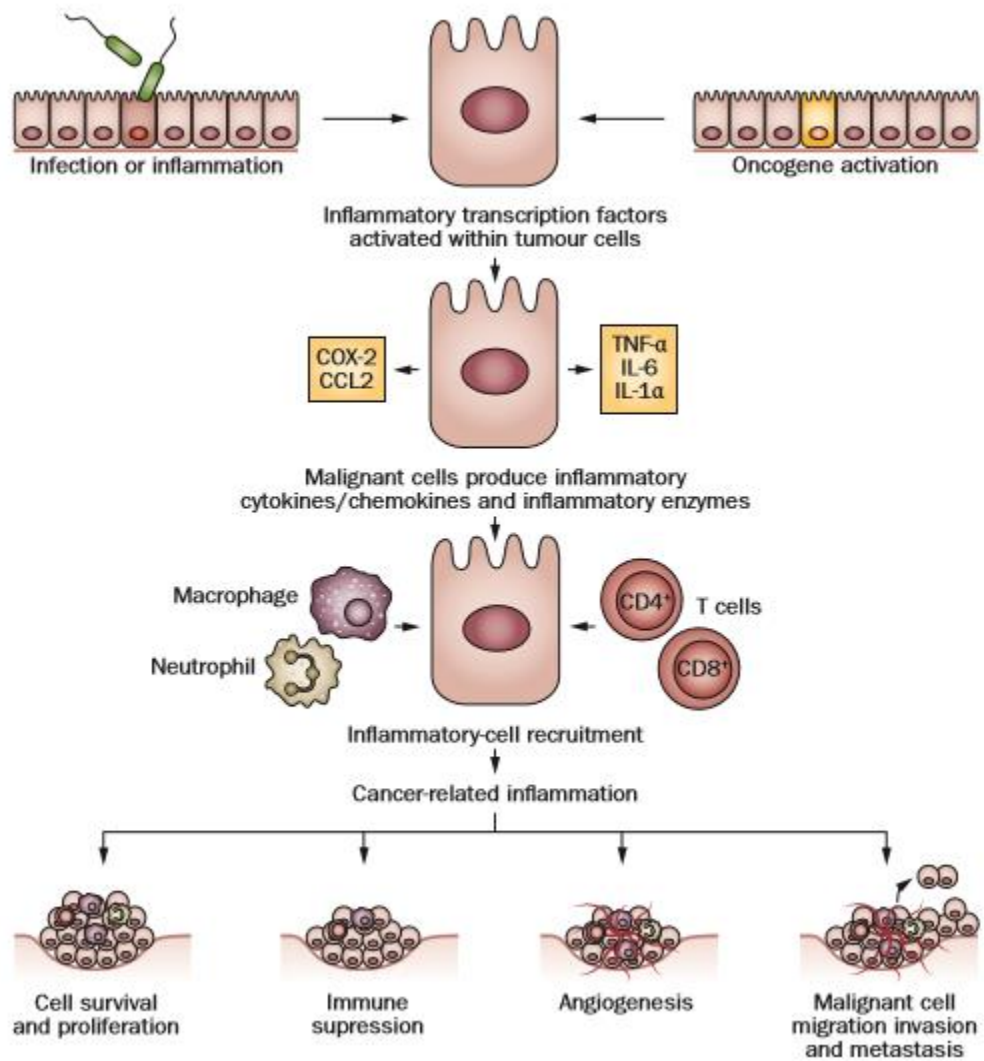


Figure 6. Relation entre l'inflammation et le cancer (Crusz et al., 2015).

Matériel et Méthodes

Le but de ce travail est d'établir le profil des marqueurs tumoraux sérique (ACE, CA19.9, AFP) chez les patients atteints d'une pathologie cancéreuse de tube digestif (cancer colorectal, cancer des voies biliaires, cancer de l'estomac, cancer du foie) et d'étudier le profil inflammatoire et le stress oxydatif associé à cette pathologie.

II.1. Matériel

Il s'agit d'une étude rétrospective qui s'est déroulée du 9 mars jusqu'au 9 août 2017 au niveau de Centre Pierre et Marie Curie à Alger.

II.1.1. Matériel biologique

- **Patients**

Notre étude a porté sur un échantillon de 38 patients (n=38) atteints d'un cancer digestif qui ont été en phase de suivi post thérapeutique après un traitement par chimiothérapie et/ou par intervention chirurgicale. Une fiche de renseignements a été établie pour chaque patient comportant l'âge, le type de cancer et autres informations supplémentaires telles que le statut tabagique (**Annexe I**).

Le recrutement des patients a été réalisé au niveau de l'unité de prélèvement au centre CPMC. Les prélèvements sanguins ont été effectués par ponction veineuse et récoltés dans des tubes puis centrifugés à 4000 tours par minute pendant 10 minutes. Les plasmas ont été conservés à -20°C pendant un mois jusqu'à l'utilisation.

- **Témoins**

Les témoins utilisés (n=15) dans cette étude sont des personnes saines, les critères d'inclusion utilisés pour le choix du témoin sont :

- Absence d'une pathologie digestive diagnostiquée.
- Absence d'inflammation ou une pathologie inflammatoire.

II.1.2. Matériel non biologique

Les produits chimiques, les réactifs et l'appareillage utilisé pour la réalisation des différentes expérimentations sont représentés dans la partie annexe (**Annexe II**).

II.2. Méthodes

II.2.1. Dosage des facteurs tumoraux sériques

Le dosage des marqueurs tumoraux a été effectué par la méthode ELISA-sandwich réalisée par la technique d'électro-chimioluminescence sur analyseur Cobas® e411 Roche Diagnostics.

Le principe de cette méthode est basé sur l'utilisation de deux anticorps monoclonaux spécifiques pour l'antigène, l'un marqués à la biotine, l'autre est marqué au ruthénium. Un complexe immunologique se forme où l'antigène est pris en sandwich entre les deux anticorps. Ensuite des microparticules magnétiques tapissées de streptavidine sont ajoutées dans la cuvette réactionnelle pour fixer le complexe immunologique grâce à la liaison streptavidine-biotine (**Figure 7**).

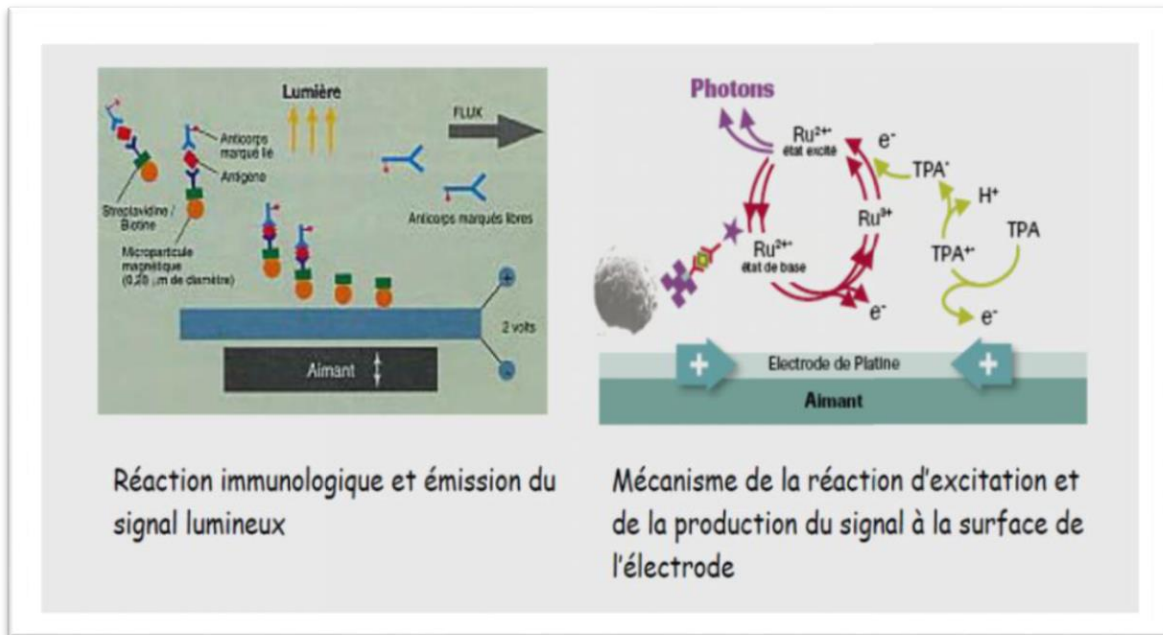


Figure 7. Réaction immunologique et émission du signal lumineux.

Le mélange réactionnel est transféré dans la cellule de mesure, à ce stade les microparticules sont maintenues au niveau de l'électrode par un aimant. L'élimination de fraction libre non spécifique est effectuée par le passage d'un tampon de lavage. Une différence de potentiel appliquée à l'électrode déclenche la production de luminescence qui est mesurée par un photomultiplicateur. Les résultats sont obtenus à partir d'une courbe de calibration générée, par l'analyseur utilisé, grâce aux 2 points de calibration et une courbe de référence mémorisée dans le code-barres du réactif. Les valeurs sont exprimées en ng/ml pour le AFP et ACE et en µg/ml pour le CA19-9.

II.2.2. Dosage du monoxyde d'azote

La production de NO dans le sérum et les surnageants des organes, a été évaluée par la détermination de la concentration de son métabolite physiologiquement stable, les nitrites (NO₂⁻).

Les teneurs en nitrites sont évaluées selon la méthode de Griess (Green et al.,1981 ; Sun, 2003). Les échantillons ont été déprotéinisés par l'acétonitrile (v/v) ensuite déposés dans une microplaque de 96 puits à raison de 50 µl/puits, le réactif de Griess (2% de sulfanilamide

et 0.1 % naphthylendiamine hydrochloride dans l'acide orthophosphorique) est rajouté à chaque puits. Après incubation de la microplaque pendant 20 minutes à l'obscurité, l'absorbance ou la densité optique (DO) est mesurée à 540 nm en utilisant un lecteur de microplaques. La détermination de la concentration des nitrites se fait par extrapolation de la valeur de DO obtenue sur le courbe étalon de la DO en fonction de la concentration de NaNO_2 (**Annexe III**).

II.2.3. Dosage de la myéloperoxydase

La myéloperoxydase est une enzyme hémique contenue dans les granules azurophiles des cellules polynucléaires neutrophiles. Des concentrations élevées en MPO dans le plasma, dans les liquides biologiques et dans les tissus, sont marqueurs d'une activation et une infiltration des neutrophiles (Serteyn et al., 2003).

L'activité de la MPO a été estimée par la méthode colorimétrique de Bradely, 1983. Un volume de 20 μl d'échantillons est homogénéisé avec 960 μl de milieu réactionnel contenant 0,167 mM d'O-dianisidine préparé dans du tris-HCl 50 mM; pH 6,6 et H_2O_2 8,8 mM) (**Annexe IV**). L'activité enzymatique a été déterminée en mesurant les variations de l'absorbance (DO) de chaque échantillon toutes les 60 secondes sur une période de 5 minutes à 460 nm et l'activité est exprimée en $\Delta\text{DO}/\text{min}$.

II.2.8. Expression statistique des résultats

Tous les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type, leur homogénéité et normalité sont vérifiés respectivement par le test de Fisher et Shapiro-wilk. La différence entre les deux groupes étudiés, témoins et patients, est effectuée soit par le test de Student si l'homogénéité est confirmée ou avec le test de Welch qui est une adaptation corrigée de ce test si la

différence des variances est hautement significative. La corrélation entre les différents paramètres étudiés est réalisée par le test de corrélation de Pearson. Toute l'étude statistique est effectuée en utilisant le logiciel Prism.5. Le degré de la signification statistique est en fonction de la valeur de la probabilité P, il est :

- Significatif (*) si $p \leq 0,05$
- Très significatif (**) si $p \leq 0,01$
- Hautement significatif (***) si $p \leq 0,001$

Résultats et Discussion

III. 1. Etude descriptive de la population étudiée

La population étudiée est constituée des patients diagnostiqués et confirmés atteints d'une pathologie cancéreuse digestive et qui ont été en phase de contrôle post-traitement (chirurgie ou/chimiothérapie). Le recrutement des patients était réalisé en collaboration avec le service d'oncologie-CPMC qui a fournit les informations nécessaires à la sélection des patients, cependant cette description est basée sur les informations relatives à chaque patient et établies grâce à la fiche de renseignements.

III. 1.1. Répartition des patients selon la pathologie

Notre étude a porté sur un échantillon de 38 patients dont l'âge est compris entre 33 à 84 ans avec une moyenne de 59 ans. La répartition suivant le type de cancer digestif donne :

- 21 cas de cancer de côlon,
- 8 cas de cancer de rectum,
- 6 cas de l'estomac,
- 2 cas de cancer de la vésicule biliaire,
- 1 cas pour le cancer de foie.
- 1 pour le cancer de la rate de la rate.

La figure 8 montre pourcentage relatif pour chaque pathologie cancéreuse ; Le cancer du côlon était le principal type de cancer digestif rencontré chez les patients avec un pourcentage de 52%, suivi de cancer de rectum (21%), le cancer de l'estomac (16%), cancer de la vésicule biliaire (5%), cancer de foie et de la rate (3%).

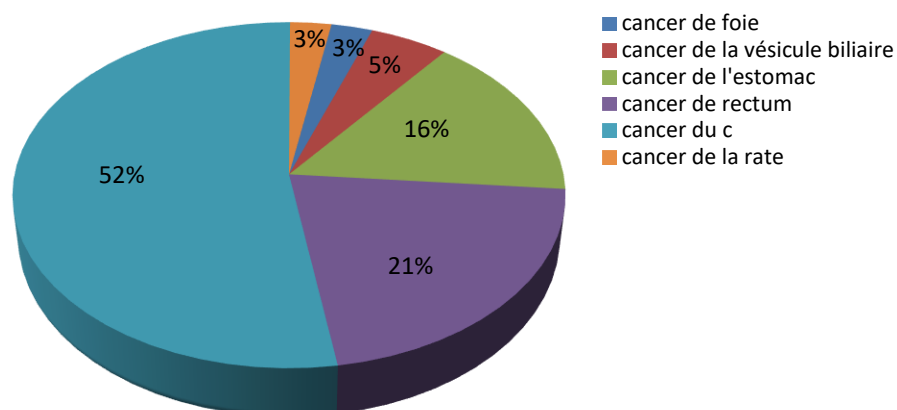


Figure 8. Pathologies cancéreuses rencontrées dans la population étudiée

Ces résultats sont en accord avec l'étude de (Larbaoui et Djillali, 2007) montrant que le cancer colorectal est le premier cancer digestif. En revanche d'autres études ont noté que le

cancer de l'estomac occupe la première place des cancers digestifs (Benelkhaiat et al., 2010 ; Diarra et al., 2012 ; Allem., 2014).

En effet, l'étude rétrospective réalisée par Allem (2014) sur une série de 388 patients algériens, montre que le cancer gastrique se situe au premier rang des cancers digestifs chez les deux sexes, suivi des cancers du côlon et du rectum. La différence retrouvée par rapport peut être justifiée par l'effectif réduit de notre série comparant aux études précédentes.

III. 1.2. Répartition des patients selon le sexe

Comme représenté dans **la figure9**, une légère prédominance de sexe masculin est notée ; un pourcentage de 58% (22 hommes) contre 42% pour les femmes (16 femmes), soit un sexe ratio de 1.37.

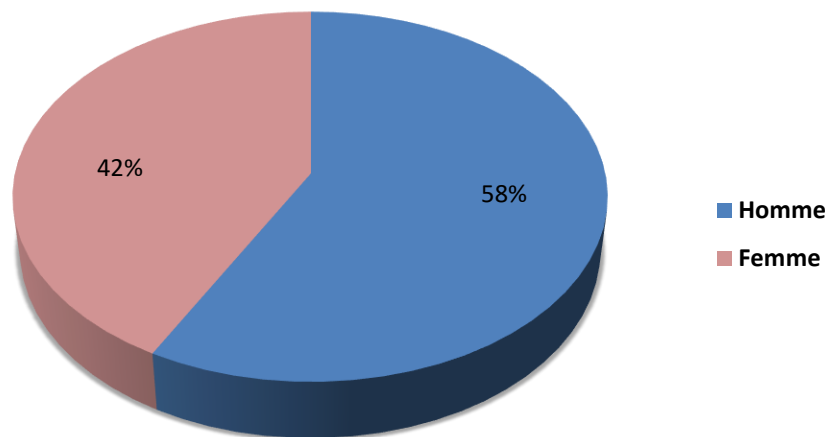


Figure 9. Répartition des patients selon le sexe.

Ce résultat concorde avec d'autres études montrant une prédominance masculine des cancers digestifs. D'après ces études les hommes se révèlent plus sujets aux cancers digestifs que les femmes à cause de certains facteurs de risque rencontrés (principalement dans notre société) chez les hommes comme l'alcoolisme et le tabagisme (Kadende et al., 1990 ; Diarra et al., 2012 ; Benelkhaiat et al., 2010 ; Salamatou et al., 2014).

Nous avons également étudié la répartition de différentes pathologies cancéreuses selon le sexe. La population est répartie comme représenté dans **la figure 10**:

- Le cancer du côlon représente 29 % chez les hommes et 24 % chez les femmes ; soit une sex-ratio (H/F)= 1.2.

- Le cancer du rectum est de 10% chez les hommes et 8% chez les femmes ; soit une sex-ratio (H/F)= 1.25.
- Le cancer de l'estomac touche d'une façon égale les hommes les femmes avec un pourcentage de 8 % ; soit une sex-ratio (H/F)= 1.
- Le cancer des voies biliaires, du foie et de la rate est présent que chez les hommes à un pourcentage de 5.4 %, 3% et 3% respectivement.

Dans notre étude, la dominance du sexe masculin observée dans le cancer du côlon et/ou rectum est en accord avec les données de la littérature qui jointent direct cette dominance aux facteurs environnementaux, notamment la consommation du tabac et/ou d'alcool fréquente chez les hommes. Le métabolisme de l'alcool génère des produits cancérigènes, comme l'acétaldéhyde qui peut causer des mutations au niveau des cellules de muqueuse colique (Meddah et al., 2009 ; Bruix.,2012).

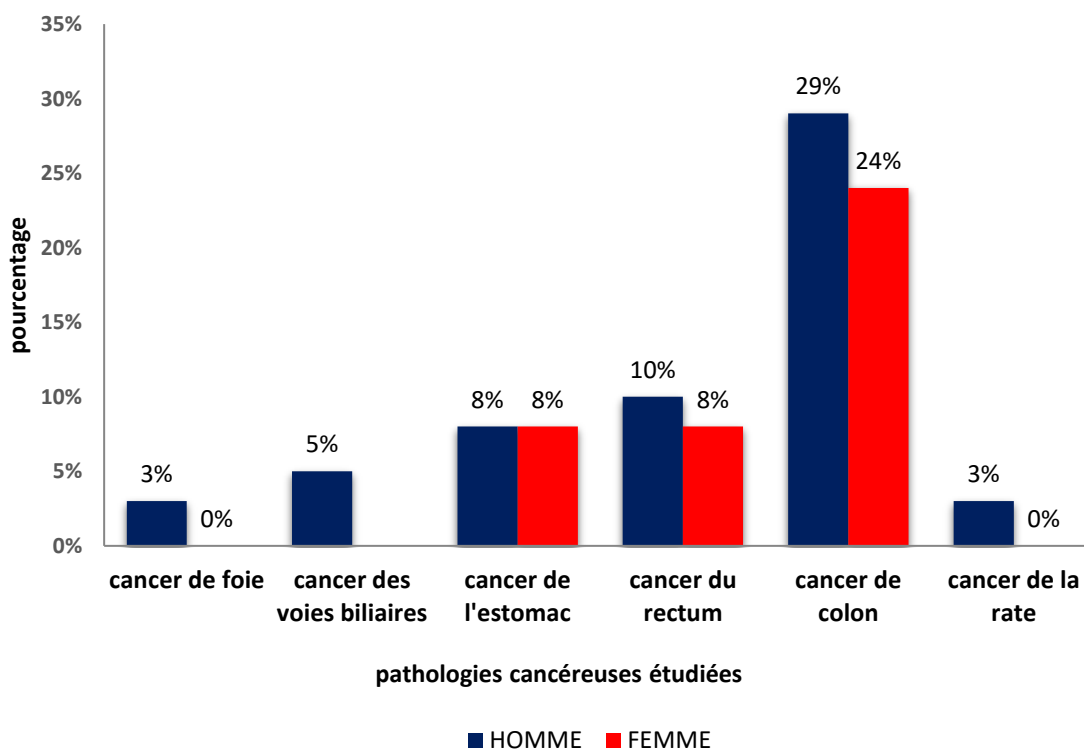


Figure 10. Répartition des pathologies cancéreuses étudiées selon le sexe

III. 1.3. Répartition des pathologies cancéreuses selon l'âge

La répartition des pathologies selon l'âge montre que la tranche d'âge de [55-65 ans] est la plus touchée avec 18% pour le cancer du côlon, 8% pour le cancer de rectum, 3% dans le cancer du rectum, le cancer de l'estomac, cancer des vois biliaire, cancer du foie et de la rate respectivement (**Figure 11**).

La prévalence des cancers (hépatique, vésicule biliaires, côlon, estomac, rate, rectum) est plus élevée chez les personnes âgées de plus de 50 ans. En effet, le vieillissement implique le ralentissement des processus de régénération (moléculaire et cellulaire) et physiologique (diminution de la capacité à réagir face aux stress environnementaux et dérèglement génétiques) favorisant la carcinogénèse et l'apparition du cancer (André et Hammel ,2014 ; Diarra, 2012).

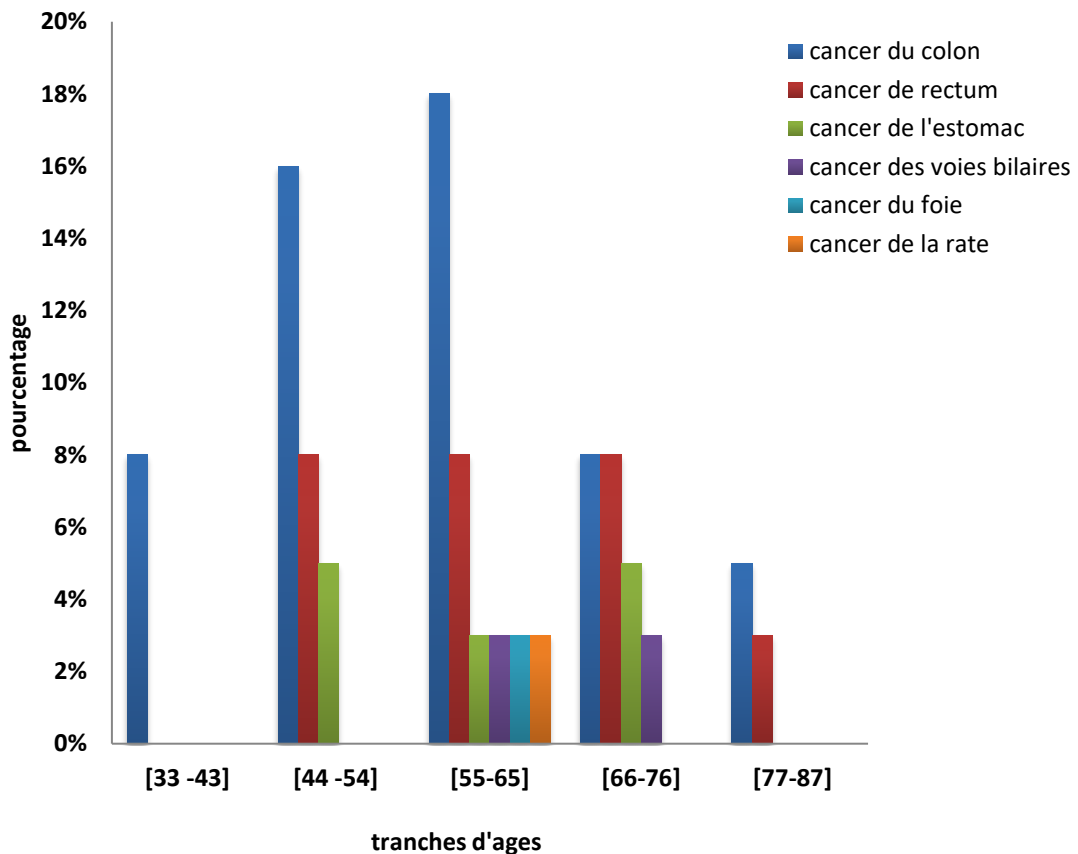


Figure 11. Répartition des pathologies cancéreuses étudiées selon l'âge.

III. 1.4. Répartition des patients selon leur statut tabagique

Dans la population étudiée, 10 malades de sexe masculin sont des fumeurs, soit 26% de la population totale et 45.45% des hommes. En effet, les facteurs de risques alimentaires ou environnementaux comme le tabac jouent un rôle majeur au cours de la cancérogenèse (Baillet, 2015). Certains facteurs, le tabac notamment, favorise le développement d'adénome du fait de la présence d'agents cancérogènes dans la cigarette comme le nickel, le polonium, nitrosamine. D'autres facteurs, comme l'alcool, accélèreraient sa transformation en tumeur maligne (Gauchez et Brand,2005) (**Figure 12**).

La répartition relative pour chaque pathologie montre un nombre élevé des fumeurs en cancer de colon (4 malades), suivi par cancer de l'estomac et cancer de rectum (2 malades), cancer des voies biliaires, cancer de foie et cancer de la rate sont présente par un malade (**Figure 13**). D'après l'étude de Gauchez,et Brand (2005) portant sur 852 patients, les fumeurs développaient précocement (moyenne de 6 ans) un cancer colorectal que les non fumeurs.

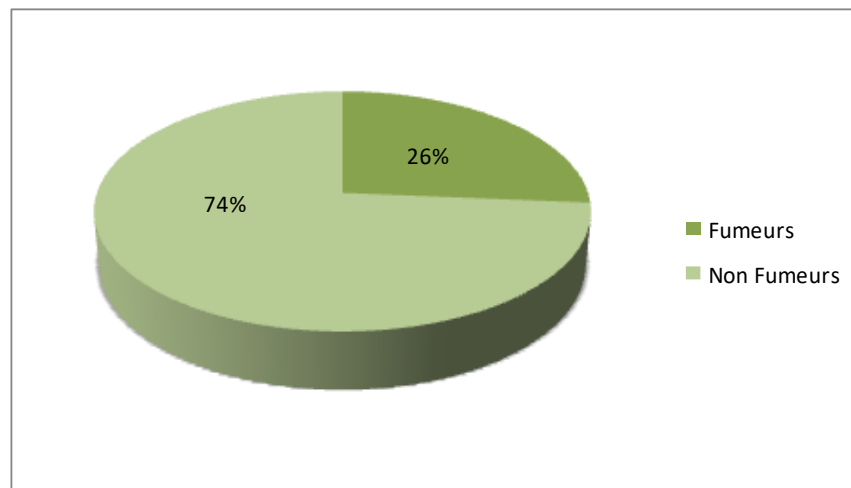


Figure 12. Répartition des patients selon le statut tabagique.

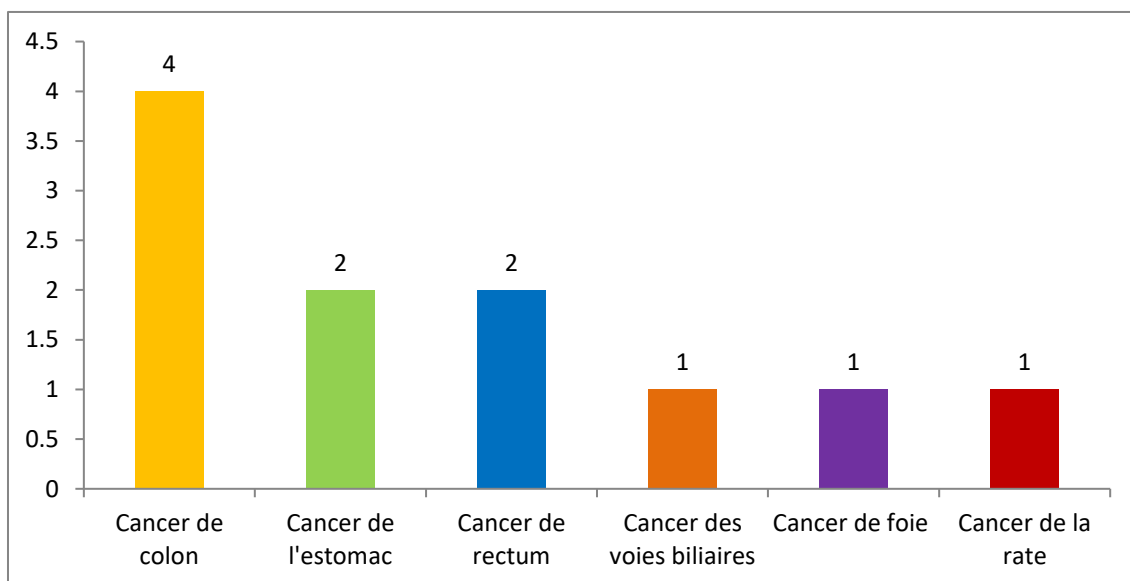


Figure 13. Répartition des pathologies cancéreuses étudiées selon le statut tabagique.

III.2. Etude biochimique

III.2.1. Taux des marqueurs tumoraux

Les marqueurs tumoraux étudiés étaient l'ACE, le CA19.9 et l'AFP, marqueurs habituellement utilisés en cancérologie digestif. Les résultats obtenus montrent que 71,05% des patients présentent des taux de marqueurs dans les normes, 23,6% présentent un taux

d'ACE élevé, 18.42% ont un taux de CA19.9 élevé et 5.26% présentant un taux élevé d'AFP. Un seul patient montre une augmentation des trois marqueurs, soit un pourcentage de 2.6%. Tandis que 15,78% enregistrent une augmentation simultanée de l'ACE et le CA19.9 (**Tableau II**).

Tableau II. Subdivision des patients en fonction de leur taux en ACE, CA19.9 et AFP

		Patients dans les normes (%)	ACE >norme (%)	CA19.9 >norme (%)	AFP >norme (%)	ACE et CA19.9 >norme (%)	ACE, CA19.9 et AFP >norme (%)
	Norme	71,05 (n=27)	23,6 (n=9)	18.42 (n=7)	5.26 (n=2)	15.78 (n=6)	2.6 (n=1)
ACE	0-4 ng/ml	[0,4-3,8]	[4,1-71,1]	[3,8-71,1]	[2-20]	[4,1-60]	20
CA19.9	0-37 UI/ml	[2-36,7]	[36,5-112]	[42-393]	[16-112]	[42,8-112]	112
AFP	0-13 ng/ml	[1,2-6,3]	[4,6-30]	30	[30-142,6]	[3,7-5]	30

La comparaison des moyennes de ces marqueurs avec ceux observées chez les témoins révèle une augmentation significative ($p=0.03$) de CA19.9 (34.85 ± 10.51 vs 12.61 ± 2.18 pour les témoins) et non significative de l'ACE (7.22 ± 2.39 vs 2.71 ± 0.50 pour les témoins) et l'AFP (3.81 ± 0.74 vs 2.72 ± 0.51) (**Figure 14**).

Relativement à chaque pathologie, le cancer de l'estomac montre une élévation des trois marqueurs. Le cancer colorectal note une augmentation de l'ACE et CA19.9 (**Tableau III**). Les marqueurs tumoraux peuvent témoigner une maladie cancéreuse. Ils sont utilisés pour le dépistage, le diagnostic, le suivi pendant et après traitement et comme facteur pronostique des tumeurs. Dans le contexte de notre étude, une élévation peut témoigner la récurrence de la pathologie cancéreuse, en revanche des valeurs dans les normes désignent une bonne réponse à la stratégie thérapeutique.

Selon l'étude de Graham et al (1998), l'ACE est le premier signe de récurrence dans 38,2 % des cas des cancers digestifs. De même, le CA19.9 est un marqueur qui oriente également vers des tumeurs digestives et plus spécifiquement vers une origine bilio-pancréatique. Son augmentation est fréquente dans les cancers d'origine glandulaire du pancréas et des voies biliaires. Des élévations de CA19.9 sont fréquentes dans d'autres cancers digestifs (hépatocarcinome, estomac, côlon) (Landi, 2004).

Le dosage de l'ACE et de CA19.9 est souvent proposé dans le suivi des tumeurs du tractus gastro-intestinal (le suivi du cancer colorectal), essentiellement pour l'évaluation du pronostic et du suivi thérapeutique. Leur taux est corrélé au stade de la tumeur et à la présence de métastases (Landi ,2004 ; You., 2007).

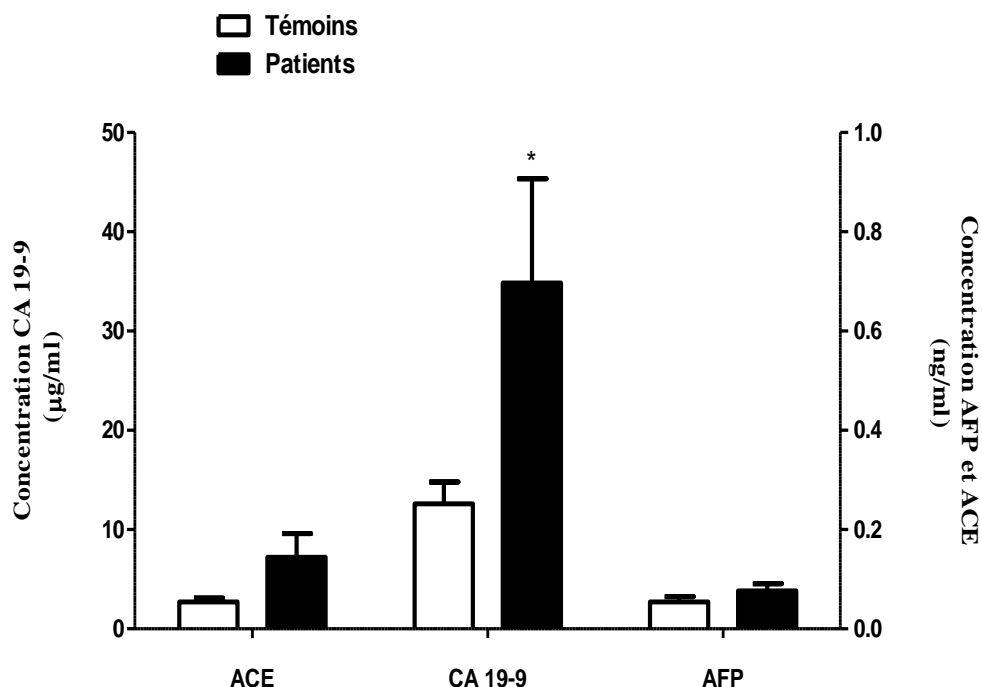


Figure 14. Taux des marqueurs tumoraux étudiés.

Tableau III. Subdivision des pathologies en fonction de leur taux en ACE, CA19.9 et AFP

	Patients dans les normes (%)	ACE >norme (%)	CA19.9 >norme (%)	AFP >norme (%)	ACE et CA19.9 >norme (%)	ACE, CA19.9 et AFP >norme (%)
Cancer du côlon (n=20)	75 (n=15)	20 (n=4)	20 (n=4)	0 (n=0)	0 (n=0)	0 (n=0)
Cancer du rectum (n=8)	75 (n=6)	20 (n=4)	12,5 (n=8)	12,5 (n=1)	15 (n=3)	0 (n=0)
Cancer de l'estomac (n=6)	33,33 (n=2)	66,66 (n=4)	50 (n=6)	16,66 (n=1)	50 (n=3)	16,66 (n=1)
cancer des voies biliaires (n=2)	100 (n=2)	0 (n=0)	0 (n=0)	0 (n=0)	0 (n=0)	0 (n=0)
Cancer du foie (n=1)	100 (n=1)	0 (n=0)	0 (n=0)	0 (n=0)	0 (n=0)	0 (n=0)
Cancer de la rate (n=1)	100 (n=1)	0 (n=0)	0 (n=0)	0 (n=0)	0 (n=0)	0 (n=0)

III.2.2. Etude du profil inflammatoire

Dans un nombre croissant de situations pathologiques, y compris les cancers, l'inflammation et les ERO ou les ERN sont présents à des concentrations élevées et peuvent servir de médiateurs favorisant ainsi la croissance et la dissémination des cellules cancéreuses. Le profil inflammatoire des patients est étudié à travers le dosage de l'activité MPO, signe d'une activation de neutrophiles et le NO comme un marqueur du stress oxydatif.

A cause de l'effectif réduit de certaines pathologies cancéreuses et l'absence d'une augmentation des marqueurs déjà présentés, cette partie d'étude a concerné que le cancer du côlon, du rectum et de l'estomac.

III.2.3. Taux du NO

Les concentrations de NO rapportent une augmentation non significative chez les patients (12.45 ± 18.58) par rapport aux témoins (7.24 ± 5.52) (**Figure 15D**). Ces résultats sont en accord avec ceux de Crespo-Sanjuán et al (2015), il a démontré que les niveaux de stress oxydatif ont augmenté lorsque le stade de la maladie a progressé. Cette augmentation a été détectée au début de la phase de polype, avant que les polypes ne progressent vers un cancer.

Dans plusieurs études, les taux d'ACE et de CA19.9 préopératoires sont corrélés avec des taux importants des ERO et les radicaux libres ainsi qu'une infiltration en profondeur de la tumeur et la présence de métastases à distance. Ainsi, il a été affirmé que le stress oxydatif agit comme promoteur de tumeur et agent co-carcinogène à cause de son effet cytotoxique et inhibiteur sur les enzymes de protection (Marrelli et al., 1999 ; kodera et al., 1996).

Malgré que les patients présentent des moyennes du NO plus élevées que les témoins, cette différence reste statistiquement non significative (**Figure 15A, B, C**) et cela peut être justifiée soit par :

- Le faible effectif de la population étudiée et l'hétérogénéité des valeurs observées
- Le choix d'une population des patients qui ont été déjà traités

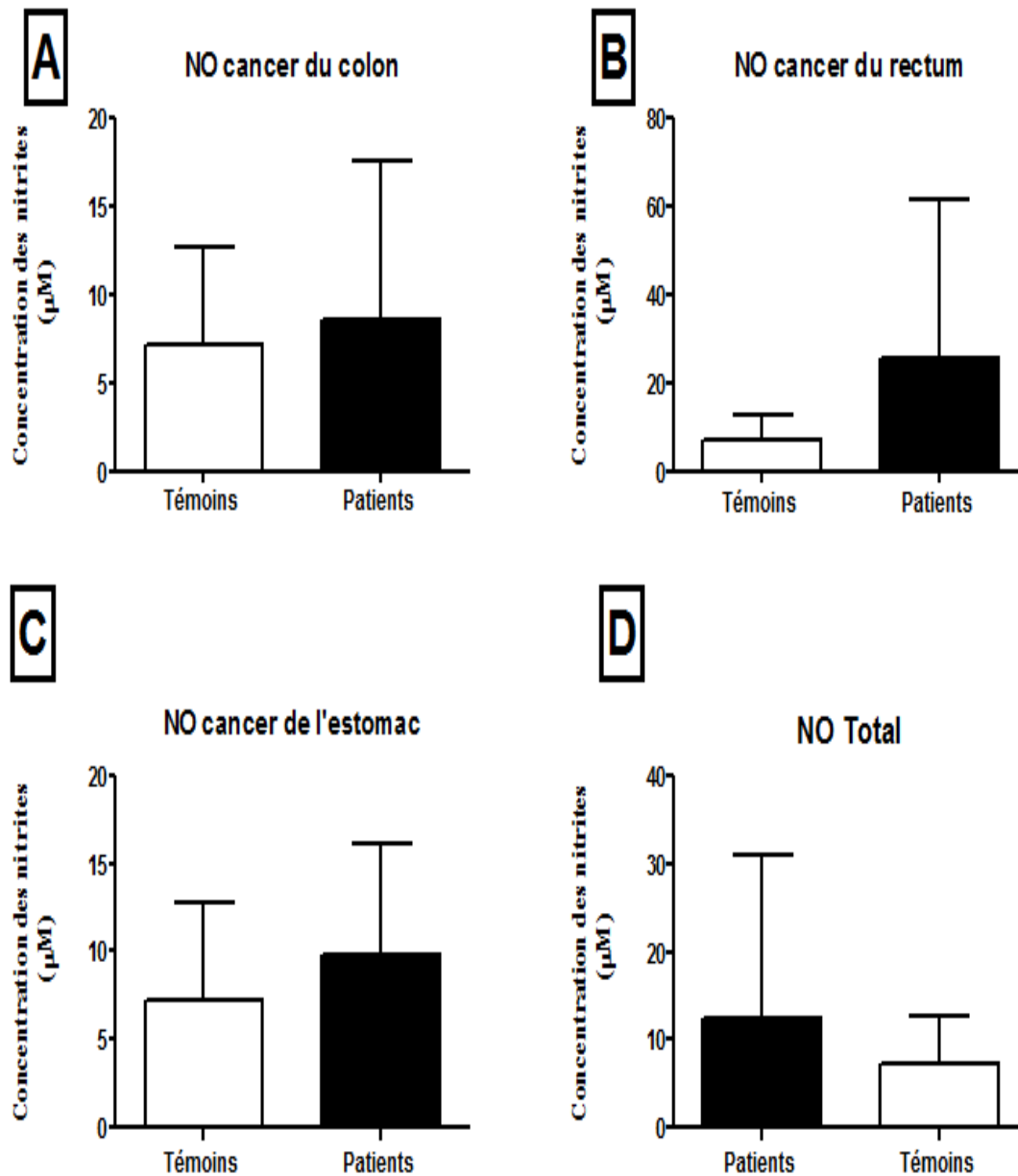


Figure 15. Taux du NO pour l'ensemble des patients et selon la pathologie.

III.2.4. Activité MPO

Les cellules cancéreuses sont connues pour leur capacité de prolifération incontrôlée et diffèrent des cellules normales du point de vue métabolique, structural et moléculaire. Ceux-ci les rendent une cible potentielle pour les cellules du système immunitaire spécifique. Parmi lesquelles, les neutrophiles qui représentent également une source importante de ERO et la MPO. La production accrue de MPO au niveau de la tumeur et au niveau sérique révèle une infiltration tissulaire et une activation de ces cellules témoignant un état inflammatoire de la muqueuse gastro-intestinale (Cruz et al., 2015).

En effet, les résultats obtenus pour la MPO révèlent une augmentation non significative chez les patients comparativement aux témoins (**Figure 16D**). De même, elle note une hausse dans le cancer du colon et de rectum, mais qui reste sans aucune signification (**Figure 16A, B, C**).

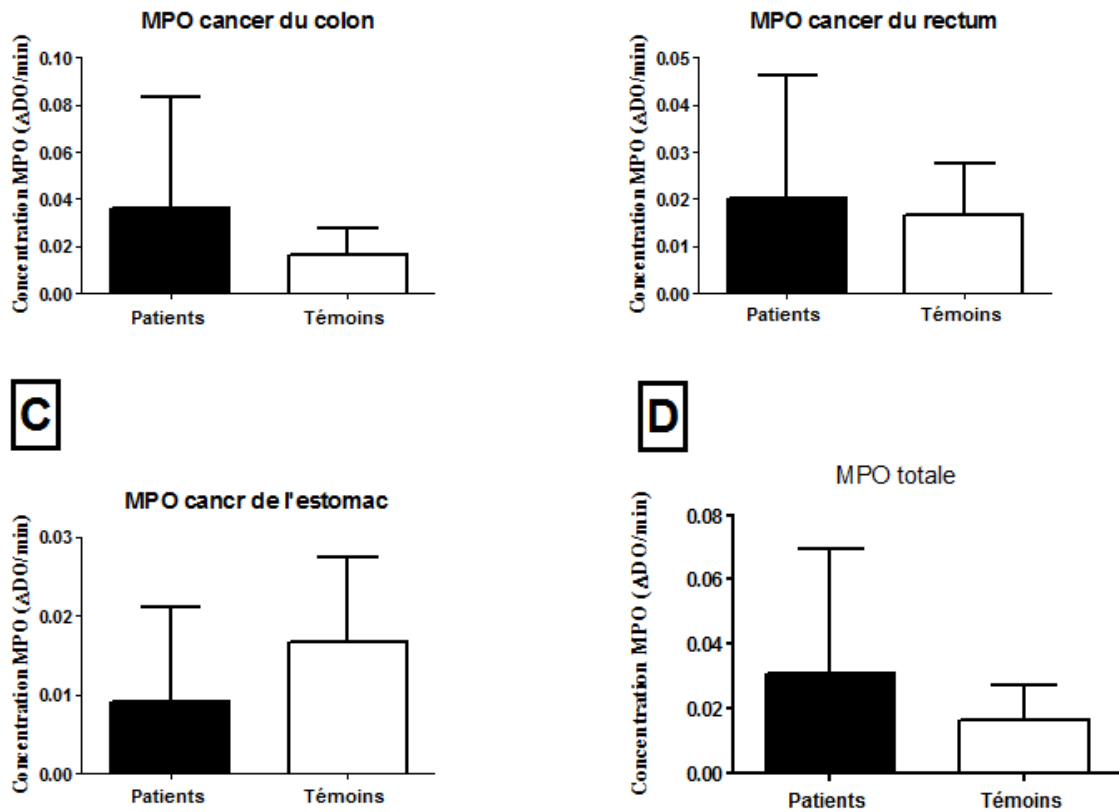


Figure 16. Taux de l'activité MPO pour l'ensemble des patients et selon la pathologie

III.2. 5. Etude de la corrélation entre les marqueurs tumoraux et le profil inflammatoire

L'inflammation chronique des muqueuses épithéliales peut évoluer sous l'effet d'un désordre de la balance oxydante/antioxydante favorisé par des facteurs infectieux ou toxiques vers un cancer. Par exemple, *Helicobacter pylori* est décrite comme la cause principale des gastrites chroniques, des ulcères gastriques et l'un des principaux facteurs de risques de l'adénocarcinome gastrique. Les neutrophiles et les macrophages activés par cette bactérie contribuent aussi à l'accumulation des espèces réactives comme le NO, conduisant à différentes formes de dommages de l'ADN incluant l'oxydation de l'ADN (Lin et al., 2002 ; Crusz et al., 2015).

A la base de ces considérations, nous avons analysé la corrélation entre les facteurs tumoraux et les paramètres inflammatoires étudiés, afin de chercher un lien entre eux.

Les résultats montrent l'absence de corrélation entre ces différents paramètres (**Figure 17**). Cependant, il est important de noter qu'une corrélation peut exister si on prend en considération que les patients dont les valeurs des marqueurs tumoraux dépassent les normes. L'absence de la corrélation lors peut être influencée par le nombre réduit de l'échantillon, la fluctuation des valeurs et le choix des patients traités où ce dernier a probablement corrigé le tableau biologique des malades, signe d'une régression de la tumeur.

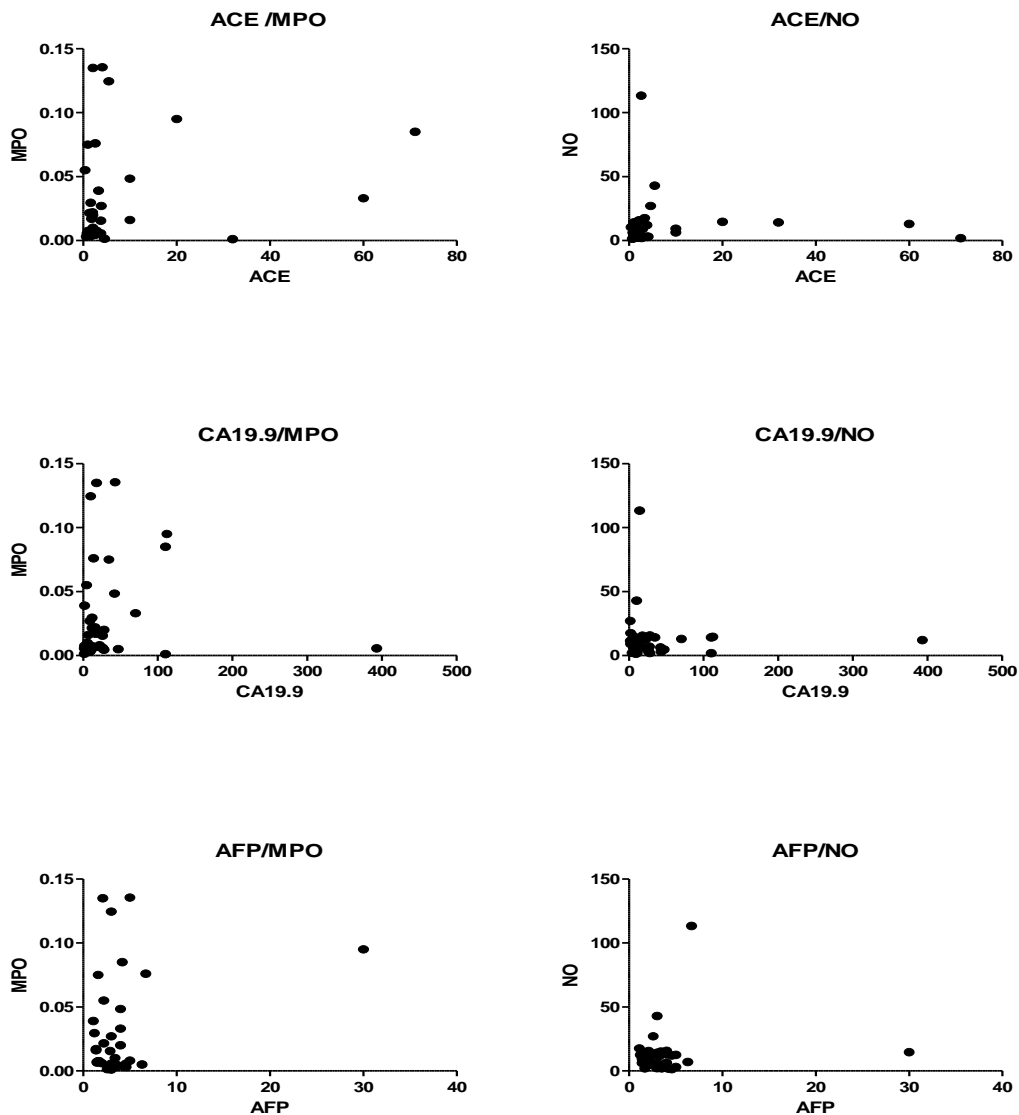


Figure 17. Test de corrélation entre les marqueurs tumoraux et les taux du NO et MPO (test de corrélation, nuages de point, test de Pearson).

Conclusion

Conclusion

Notre étude à portée sur un échantillon de 38 patients (n=38) atteints d'un cancer digestif qui ont été en phase de suivi post thérapeutique après un traitement par chimiothérapie et/ou par intervention chirurgicale, au niveau de services d'oncologie médicale de centre pierre et marie curie Alger.

Ce travail a été effectué dans le but d'établir le profil des marqueurs tumoraux sérique (ACE, CA19.9, AFP) chez les patients atteints d'une pathologie cancéreuse de tube digestif (cancer colorectal, cancer des voies biliaires, cancer de l'estomac, cancer du foie) et d'évaluer le profil inflammatoire et le stress oxydatif associé à cette pathologie.

Les résultats obtenus ont démontré que les pathologies cancéreuses digestives étudiées touchent les personnes âgées de plus de 50 ans, avec une prédominance du sexe masculin. Par ailleurs, les résultats obtenus pour le dosage des marqueurs tumoraux (l'ACE, CA19.9, L'AFP) indiquent que le taux de l'CA 19.9 est élevé dans le cas du cancer de colon et de l'estomac par rapport aux faible taux d'ACE et de l'AFP.

En plus, les résultats obtenus pour les marqueurs de stress oxydative (NO) et inflammatoire (MPO) indique une augmentation qui reste non significative et sans aucune relation avec le taux des facteurs tumoraux.

En perspective de ce travail, il serait intéressant :

- D'agrandir l'effectif de la population étudiée et de choisir des malades dont le cancer est nouvellement diagnostiqué ou les patients en phase préopératoire
- D'évaluer d'autres paramètres de stress oxydatif comme la peroxydation lipidique
- D'étudier ces paramètres inflammatoires localement sur des biopsies
- De faire une étude histologique et immuno-histologique parallèle à l'étude biochimique
- D'évaluer l'endommagement et l'oxydation de l'ADN (taux de 8-hydroxydeoxyguanosine).
- De doser d'autres marqueurs d'inflammation comme les cytokines pro-inflammatoires (TNF, IL-6).

Références bibliographiques

- ALLEM, R.** (2013). Épidémiologie des cancers digestifs dans la région de Chlef (Algérie). *J. Afr. Cancer*, 6, 22-26.
- AMBS, S., W.G.M, et al.** (1998). p53 and vascular endothelial growth factor regulate tumor growth of NOS2- expressing human carcinoma cells. *Nat Med*, 4(12), 1371-1376.
- ANDRE T., HAMMEL P.** (2014). Le cancer du pancréas en question, 19.
- BAROUKI, R.** (2006). Stress oxydant et vieillissement. *médecine/sciences*, 22(3), 266-272.
- BASUROY, S., BHATTACHARYA, S., LEFFLER, C.W., & PARFENOVA, H.** (2009). Nox4 NADPH oxidase mediates oxidative stress and apoptosis caused by TNF- α in cerebral vascular endothelial cells. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 296(3), C422-C432.
- BEAUDEUX, J.L.** (2008). *Biochimie médicale, Marqueurs actuels et perspectives* (2e ed.), pp : 102.
- BEKES, E.M., SCHWEIGHOFER, B., KUPRIYANOVA, T.A., ZAJAC, E., ARDI, V.C., QUIGLEY, J.P & DERYUGINA, E.I.** (2011). Tumor-recruited neutrophils and neutrophil TIMP-free MMP-9 regulate coordinately the levels of tumor angiogenesis and efficiency of malignant cell intravasation. *The American journal of pathology*, 179(3), 1455-1470.
- BENELKHAÏAT, R., RABBANI, K., NASROLLAH, N., FINECH, B., LOUZI, A., EL IDRISSE DAFALI, A.** (2010). Les cancers digestifs dans la région de Marrakech. *J. Afr. Cancer*, 2, 160-165.
- BERTIER J.S.** (2000). Intérêt des dosages de l'ACE et du CA15-3 dans les cancers du sein métastatiques traités par chimiothérapie cytotoxique: à propos de 96 patientes prise en charge au C.R.L.C de Montpellier. *Th :Médecine*, 1, 11023.
- BRUIX, J., RAOUL, J.C., SHERMAN, M., MAZZAFERRO, V., BOLONDI, L., CRAXI, A., GALLE, P.R., SANTORO, A., BEAUGRAND, M., SANGIOVANNI, A., PORTA, K., GERKEN, G., MARRERO, J.A., NADEL, A., SHAN, M., MOSCOVICI, M., VOLIOTIS, D., LIOVET, J.M.** (2012). Efficacy and safety of sorafenib in patients with advanced hepatocellular carcinoma: Subanalyses of a phase III trial. *Journal of Hepatology*, 57, 821-829.
- BUZELIN, J. M.** (1995). Le monoxyde d'azote un gaz toxique pour relâcher l'urètre, 3, 4-6.
- CALMELS, B.** (2004). Immunologie et cancer: mécanismes d'échappement tumoraux, 6(8), 525-533.
- CAMILLE, M., MIREILLE, S.** (2001). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*, 27, 405-12.
- CHRISTELLE, M.** (2005). Etude de la fonction de l'Alpha-foetoprotéine, Université libre de Bruxelles.

- CRUZ, S.M., & BALKWILL, F.R.** (2015). Inflammation and cancer: advances and new agents. *Nature reviews Clinical oncology*, 12(10), 584-596
- DEBACKER, D.** (2006). Inhibition du monoxyde d'azote dans le choc septique Nitric oxide inhibition in septic shock. *Réanimation*, 15 (3), 145–149.
- DEKORWIN, J. D.** (2014). Épidémiologie de l'infection à *Helicobacter pylori* et du cancer gastrique. *La Revue du praticien*, 64(2), 189-193.
- DIARRA ,M ., KONATE ,A., TRAORE ,C.B ., SOUCKHO-KAYA ,C.A., DIARRA ,C.A.,DOUMBIA-SAMAKE ,K., SOW ,H .,DIALLO ,G.,TORRE ,HA., MAIGA ,MY.**(2012). Epidémiologie des cancers digestifs en milieu hospitalier à Bamako.2 (1).
- ECHE, N., PICHON ,M.F., QUILLIEN, A., GORY-DELABAERE ,G., RIEDINGER J.M.,BASUYAU P.** (2001). Standards options and recommendations for tumor markers in colorectal cancer, *Bull Cancer*, 88, 1177–206.
- ELIANE N.**(2008). Livre de biologie humain, principe d'anatomie et de physiologie ,8 ,296-508.
- GAILLARD, O.** (2002). Fiche immun analytique du CA19-9 Service de Biochimie.
- GAUCHEZ A.S., BRAND F.X.** (2005). Place de la biologie dans la prise en charge du cancer colo-rectal (CCR) Médecine Nucléaire - Imagerie fonctionnelle et métabolique ,29 (2).
- GAUTIER,V.,DESRUMAUX ,C.,KLEIN,A.,LABBE ,J.,GUERN.N.,ATHIAS ,A.,MONIER ,S.,HAM PAUL ,C., DECHERT MANN,A.,BETTAIB ,A.,JEANNIN ,J .F.,LAGROST,L.**(2004). Innate immune response triggered by triacyl lipid A is dependent on phospholipid transfer protein (PLTP) gene expression. *The FASEB Journal*, 24,3544-3554.
- GHAFFARI, Y., & LABARDE, G.** (2003). Rapport IST: Le Monoxyde d'azote. *Université de Versailles Saint Quentin en Yvelines*, 43.
- GUIMBAD, R., LAURENTY, A. P., BONNET, D., & SELVES, J.**(2015). Oncogénétique des cancers digestifs: pourquoi et comment faire mieux?. *Hépatogastro & Oncologie Digestive*, 22(3), 199-205.
- HACKBARTH, J.S., MURATA, K., REILLY, W.M.** (2010).Performance of CEA and CA19-9 in identifying pleural effusions caused by specific malignancies. *Clink Biochemist*, 43 ,1051–1058.
- HAMI, H., SOULAYMANI, A., NOUHO, H., QUYOU, A.** (2014). Épidémiologie des cancers au Niger. *Bull Cancer*, 100, 127-33.
- HUERTA, S., CHILKA, S.** (2008). Nitric oxide donors: novel cancer therapeutics (review). *J. Afr. Cancer*, 1, 31-35.
- JABLONSKA,B .,AGUIRRE,A .,RAYMOND,M.,SZABO , G ., KITABATAKE ,Y., SAILOR , K.A .**(2010). Chordin-induced lineage plasticity of adult SVZ neuroblasts after demyelination. *Nat. Neurosci*, 13, 541–550 .

JAIWALJ, M., LARUSSO, N. F., & GORES, G. J.(2001). Nitric oxide in gastrointestinal epithelial cell carcinogenesis: linking inflammation to oncogenesis. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 281(3), G626-G634.

KADENDE,P.,ENGELS,D.,NDORICIMPA,J.,NDABANEZE,E.,HABONIMANA , D., MARERWA, G., BIGIRIMANA, V ., BAZIRA ,L ., AUBRY, p.(1990). LES CANCERS DIGESTIFS AU BURUNDI. *Médecine d'Afrique Noire* , 37 (10).

KOHLWES, J., GUPTA ,S., BENT, S. (2003). Test characteristics of alpha-fetoprotein for detecting hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis C, A systematic review and critical analysis,139,46-50.

LANDI, B. (2004). Les marqueurs tumoraux des cancers digestifs .*La Lettre de l'hépatogastroentérologue* , 7 , 4-5.

LANDINO, L. M., CREWS , B. C.,TIMMONS , M. D., MARROW, J. D., & MARNETT, L. J. (1996). Peroxynitrite, the coupling product of nitric oxide and superoxide, activates prostaglandin biosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(26), 15069-15074.

LANDMAN, C., & QUEVIRAIN, E. (2016). Le microbiote intestinal: description, rôle et implication physiopathologique. *La Revue de Médecine Interne*, 37(6), 418-423.

LEININGER. (2013). Les marqueurs tumoraux en cancérologie : quelle utilité?.

LIANG, W., FERRARA, N. (2016). Le rôle complexe des neutrophiles dans l'Angiogenèse tumorale et la métastase. *Cancer Immunol*, 4 ; 83-91.

LIU, C.Y., ZHA, Z.Y., ZHOU, X., ZHANG, H., HUANG, W., ZHAO, D & ZHAO, S. (2010). The hippo tumor pathway promotes TAZ degradation by phosphorylating a phosphodegron and recruiting the SCF β -TrCP E3 ligase. *Journal of Biological Chemistry*, 285(48), 37159-37169.

LYNN, N., DANIEL, F., HAYES, B. (2012). *Cancer biomarkers*,University of Michigan.

MEDDAH , D., MEDDAH , B., TIR TOUIL ,a ., GHALEK ,M ., SAHRAOUI , T.(2009). Étude épidémiologique du cancer du colon chez des patients de l'Ouest algérien. *J. Afr*, 1,31-35.

MELINO ,G ., THIELE ,C.J ., KHIGHT , N.A ., PIACENTINI ,M .(1997). Retinoids and the control of growth/death decisions in human neuroblastoma cell lines. *J Neurooncol.*,31(1-2),65-83.

MERCADAL L. (2015).Marqueurs tumoraux dans l'insuffisance rénale chronique, (771),3-53.

MICHAL A, R., BERNARD, H. (2013).Les interactions macrophages-cellules tumorales régulent la fonction de l'oxyde nitrique.

MICHEL, F., BONNEFONT-ROUSSELOT, D., MAS, E., DRAI, J., THEROND, p.(2017). Biomarqueurs de la peroxydation lipidique : aspects analytiques.*Ann Biol* ,66 (6) ,605-20.

MOSER, S., HARTWING, R., MORAN, P., TIM, A., JENDRUSINA, A. (2004). Neural Markers of Positive Reappraisal and Their Associations with Trait Reappraisal and Worry, 123(1), 91–105.

OMS. (2012). Incidence de cancer .

PERVIN ,S ., SINGH, R ., GAU , C.L ., EDAMATSU ,H ., TAMONI ,F ., CHAUDHURI , G.(2001). Potentiation of nitric oxide-induced apoptosis of MDA-MB-468 cells by farnesyltransferase inhibitor: implications in breast cance,61,4701–4706.

PROST, P., YCHU, M., AZRIA, D., TOPART D.(2002). Marqueurs tumoraux et cancers du tractus gastro-intestinal Encyclopédie médico-chirurgicale, 9.

RIEDINGER, J., ECHE N ., BASUYAU, P., PICHON ,M.(2005). Marqueurs tumoraux des tumeurs solides Cahier de formation Bioforma,(32), 181.

SALAMATOU MAMADOU, G ., HAROUMA MOHAMED , Z., ARFAOUI , A., SAMALIN-SCALZI, E., YCHOU, M.(2009). Marqueurs tumoraux et cancers du tractus gastro-intestinal.EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Gastro-entérologie, 9,22-29.

SCHILLINGER, S. (2011). Les marqueurs tumoraux (MT). Biologiste médicale - Laboratoire Pax.

STOCKMAN, C., SCHDENDORFS, D., KLOSE, R., & HELFRICH, I. (2014). The impact of the immune system on tumor: angiogenesis and vascular remodeling. *Frontiers in oncology*, 4.

TUBIANA, M.(2008). Généralités sur la cancérogenèse. *Comptes rendus biologies*, 331(2), 114-125.

VANNINI, P. (2015). Non-representational ethnography: new ways of animating life worlds, 22, (2), 20.

WANG, T., ZHANG, X., & LI, J. J. (2002). The role of NF-κB in the regulation of cell stress responses. *International immunopharmacology*, 2(11), 1509-1520.

WORD CANCER REPORT.(2014).cancer estimation.

YOU, B. (2007). Quels marqueurs circulants pour quels cancers?. *Bio tribune magazine*, 23(1), 23-31.

Annexes

Annexe I

Tableau I: les renseignements obtenus par interrogatoire des malades.

Numéro	Age	Sexe	Organe Atteinte	Tabagisme	ATCD	Profession	Traitement	Autre pathologie
1	52	H	estomac	-	/	enseignant	chimio	/
2	60	F	rectum	-	/	/	chimio	/
3	47	F	colon	-	/	/	chimio	/
4	62	H	colon	+	/	médecin	chimio	/
5	67	H	rectum	+	/	chauffeur	/	/
6	47	H	colon	-	/	masson	/	HTA/DT1
7	60	F	colon	-	/	/	chimio	/
8	84	H	colon	-	/	plombier	/	HTA/inflammation
9	62	H	rectum	-	/	retraité	chimio	DT1/cardiopathie
10	47	F	rectum	-	/	/	chimio	/
11	67	H	rectum	-	/	retraité	chimio	DT1
12	51	F	colon	-	/	administration	chimio	asthme
13	66	F	colon	-	/	/	chimio	/
14	60	H	Vésicule biliaire	-	/	retraité	chimio	DT
15	77	H	colon	-	/	Retraité	chimio	Inflammation
16	68	H	colon	-	/	La marine	chimio	DT
17	64	H	estomac	+	/	directeur	chimio	/
18	62	H	rectum	-	/	Travailleur libre	/	DT
19	59	H	colon	+	/	Masson	chimio	/
20	63	f	colon	-	/	/	chimio	HTA
21	40	F	colon	-	/	/	chimio	/
23	66	F	rectum	-	/	/	chimio	HTA/DT
24	58	H	estomac	+++	/	retraité	chimio	/
25	84	H	rectum	+++	Mutation de gène RAS	FLN	chimio	HTA/DT
26	62	H	colon	-	/	Masson	chimio	/
27	33	F	colon	-	/	/	chimio	/
28	48	H	colon	+	/	Agriculteur	chimio	/
29	75	H	Vésicule biliaire	+++	/	Masson	chimio	HTA
30	35	H	colon	-	Mutation de gène RAS	Administration	/	/
31	61	H	Colon ; rate	+++	/	cuisinier	chimio	DT
32	66	H	colon	+	/	enseignant	chimio	/
33	54	F	colon		/	/	chimio	/
34	61	H	foie	+	/	enseignant	chimio	/

35	45	F	estomac	-	/	/	chimio	/
36	47	F	colon	-	/	/	chimio	/
37	70	F	estomac	-	/	/	chimio	/
38	67	F	estomac	-	/	/	chimio	/

Annexe II

Tableau : Réactifs du dosage des marqueurs tumoraux

	AFP	CA19-9	ACE
R1	Acanti-AFP~biotine (bouchon gris), 1 flacon contenant 10 mL:anticorps(monoclonaux de souris) anti-AFP biotinyles 4,5 mg/L ; tampon phosphate 100 mmol/L, pH 6,0 ; conservateur.	Acanti-CA 19-9~biotine, 1 flacon contenant 10 mL(bouchon gris) : anticorps (monoclonaux de souris) anti-CA 19-9 marques à la biotine 3 mg/L ; tampon phosphate 100 mmol/L, pH 6,5 ; conservateur.	Acanti-ACE~biotine (bouchon gris), 1 flacon contenant 10 mL :anticorps monoclonal (humain/souris) anti-ACE biotinylyle 3,0 mg/L ; tampon phosphate 100 mmol/L, pH 6,0 ; conservateur.
R2	Acanti-AFP~Ru (bouchon noir), 1 flacon contenant 10 mL :anticorps (monoclonaux de souris) anti-AFP marques au ruthenium 12,0 mg/L ; tampon phosphate 100 mmol/L, pH 6,0 ; conservateur.	Acanti-CA 19-9~Ru, 1 flacon contenant 10 mL(bouchon noir) : Anticorps (monoclonaux de souris) anti-CA 19-9 marques au ruthenium 4 mg/L ; tampon phosphate 100 mmol/L, pH 6,5 ; conservateur.	Acanti-ACE~Ru (bouchon noir), 1 flacon contenant 8 mL :anticorps (monoclonal de souris) anti-ACE marque au Ruthenium 4,0 mg/L ; tampon phosphate 100 mmol/L, pH 6,5 ; conservateur.
Microparticules	Microparticules tapissées de streptavidine, 1 flacon Contenant 6,5 mL (bouchon transparent) : Microparticules tapissées de streptavidine 0,72 mg/mL, conservateur.	Microparticules tapissées de streptavidine, 1 flacon Contenant 6,5 mL (bouchon transparent) :microparticules tapissées de streptavidine 0,72 mg/mL ;conservateur.	Microparticules tapissées de streptavidine, 1 flacon contenant 8 mL (bouchon transparent): microparticules tapissées de streptavidine 0,72 mg/mL,conservateur.

Annexe III

Tableau : Les réactifs et l'appareillage utilisé pour le dosage du monoxyde d'azote.

	les réactifs	l'appareillage
NO	<ul style="list-style-type: none">- le réactif de Griess A : dihydrochloridenaphtyléthylènediamine(0.1 %)- l'eau distillée- le réactif de Griess B :- substance solide de sulfanilamide (2%)- l'acide ortho phosphorique(5%)- l'acétonirile.	<ul style="list-style-type: none">-microplaque de 96 puits- lecteur de microplaques à 540nm. -Micropipette.

Annexe IV

Tableau : Les réactifs et l'appareillage utilisé pour le dosage de la myéloperoxydase.

	les réactifs	l'appareillage
MPO	<ul style="list-style-type: none">- milieu réactionnel : contenant 0,167 mM d'O-dianisidine préparé dans du tris-HCl 50 mM à pH 6,6 et H2O2 8,8 mM)	<ul style="list-style-type: none">- microplaque de 96 puits- lecteur de microplaques à 460nm.- Micropipette.