كلية العلوم و التقنيات فاس
ⵜⴰⵖⵣⵓⵍⵜ ⵏ ⵜⵣⴰⵡⵉⵏⵉ ⴰ ⵜⵙⵙⵏⵜⵜⵉ
Faculté des Sciences et Techniques de Fès

جامعة سيدي محمد بن عبد الله
ⵜⴰⵙⴷⴰⵡⵉⵜ ⵙⵉⴷⵉ ⵎⵓⵃⴰⵎⴷ ⴱⵏ ⵄⴱⴷⵍⵍⴰⵀ
Université Sidi Mohamed Ben Abdellah

N° d'ordre : 06/2022

# THESE DE DOCTORAT

Présentée par

## Mr. Achraf EL ASRI

**Discipline : Epidémiologie**

**Spécialité : Génétique et biologie moléculaire**

# Facteurs nutritionnels associés à certaines mutations de la voie RAS/MAPK dans le cas du cancer colorectal

**Formation Doctorale :** Sciences Médicales et Recherche Translationnelle

**Thèse présentée et soutenue le 17 janvier 2022**
**devant le jury composé de :**

| Nom et prénom | Titre | Etablissement | |
|---|---|---|---|
| **Abdellatif BENIDER** | PES | Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca, Université Hassan II, Casablanca. | **Président** |
| **Kaoutar ZNATI** | PES | Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, Université Mohammed V, Rabat. | **Rapporteur** |
| **Mohammed BERRAHO** | PES | Faculté de Médecine, de Pharmacie et de Médecine Dentaire de Fès, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès. | **Rapporteur** |
| **Mariam TAJIR** | Pr Agrégé | Faculté de Médecine et de Pharmacie d'Oujda, Université Mohammed Premier, Oujda. | **Rapporteur** |
| **Laila BOUGUENOUCH** | Pr Agrégé | Faculté de Médecine, de Pharmacie et de Médecine Dentaire de Fès, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès. | **Examinateur** |
| **Sanae ABBAOUI** | PES | Faculté de Médecine et de Pharmacie d'Agadir, Université Ibn Zohr, Agadir. | **Examinateur** |
| **Zineb BENBRAHIM** | Pr Agrégé | Faculté de Médecine, de Pharmacie et de Médecine Dentaire de Fès, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès. | **Examinateur** |
| **Mehdi KARKOURI** | PES | Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca, Université Hassan II, Casablanca. | **Examinateur** |
| **Karim OULDIM** | PES | Faculté de Médecine, de Pharmacie et de Médecine Dentaire de Fès, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah Fès ; Institut de Recherche sur le Cancer, Fès. | **Directeurs de thèse** |
| **Karima EL RHAZI** | PES | Faculté de Médecine, de Pharmacie et de Médecine Dentaire de Fès, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès. | |

**Laboratoire d'accueil** : Epidémiologie et Recherche en Sciences de la Santé (ERESS).
**Etablissement** : Faculté de Médecine et de Pharmacie et Médecine Dentaire de Fès.

**Titre de la thèse :** Facteurs nutritionnels associés à certaines mutations de la voie RAS/MAPK dans le cas du cancer colorectal

**Nom du candidat :** Achraf EL ASRI

**Spécialité :** Génétique et Biologie Moléculaire.

## Résumé de la thèse

L'incidence et la mortalité liées au cancer colorectal (CCR) montrent une nette augmentation dans les pays en voie de développement. La nutrition constitue un facteur de risque bien établi du CCR et peut conduire via des altérations génétiques et épigénétiques prolongées à la prolifération des cellules coliques et rectales en tumeurs malignes. Parmi les gènes clés impliqués dans ce processus carcinogène, le gène *KRAS* était intensivement étudié pour les raisons suivantes : (1) sa haute fréquence (42%) dans les tumeurs colorectales ; (2) son intervention précoce dans le processus carcinogène ; (3) son rôle en tant que biomarqueur prédictif et pronostic possible.

Le Maroc figure parmi les pays en développement qui sont en transition épidémiologique et nutritionnelle caractérisées par un changement progressif vers un mode de vie plus occidentalisé, et une nette croissance de l'incidence et de mortalité liées au CCR.

L'objectif de cette thèse est d'étudier l'association entre les facteurs nutritionnels et le risque de la survenue des mutations activatrices *KRAS*. Une telle association n'a jamais été étudiée auparavant dans le contexte marocain.

Cette thèse s'est déroulée en 2 étapes : la première étape a été consacrée à la réalisation d'une revue systématique sur l'association possible entre les différents facteurs nutritionnels et les mutations *KRAS* dans le cas du CCR ; et la deuxième étape concernait la recherche de l'association entre l'apport en graisses alimentaires et les mutations *KRAS* dans une série de cas de CCR nichée dans une large étude cas-témoin intitulée « Facteurs de risque comportementaux, nutritionnels et génétiques des cancers colorectaux au Maroc » dont le protocole a été déjà publié.

Cette étude multicentrique a été conduite au niveau de 4 principaux centres d'oncologie marocains : Rabat, Casablanca, Fès et Oujda. Les données sociodémographiques, et nutritionnelles ont été collectées au moment de l'inclusion des cas dans l'étude cas-témoin initiale. Leurs données génétiques ont été explorées dans le cadre de cette thèse à partir des tissus anatomopathologiques utilisés pour la confirmation diagnostique et stockés dans les services d'anatomopathologie des centres participant à l'étude initiale. Les données moléculaires ont été déterminées après extraction, amplification et séquençage de l'ADN tumorale à partir de tissus inclus en paraffine. Des modèles de régressions logistiques (bruts et ajustés) ont été utilisés sur la base de l'apport médian des différentes variables lipidiques PUFA (Acides Gras Polyinsaturés), MUFA (Acides Gras Monoinsaturés), SFA (Acides Gras Saturés) (faibles consommateurs contre consommateurs élevés) pour estimer les risques des mutations *KRAS* en fonction des apports en matières grasses, et en tenant compte des facteurs de confusion potentiels : âge, sexe et apport énergétique.

Les principaux résultats de la revue systématique qui a inclut 28 études étaient :

- La plupart des études recensées étaient de type série de cas nichées dans des études cohorte ou dans des études cas-témoins à grande échelle.
- Les résultats concernant ces facteurs nutritionnels étaient mitigés, en particulier pour les graisses, où certaines études soupçonnaient les PUFA de constituer un facteur de risque pour la survenue des mutations *KRAS*, contrairement à d'autres qui reniaient ce fait.

En ce qui concerne l'étude de série de cas, 151 patients CCR y ont été inclus. L'âge moyen était de 53,66 ± 13,99 ans. Plus de la moitié étaient des femmes (55 %), et la plupart étaient mariés (75,5%) et analphabètes (62,3%). La majorité d'entre eux étaient actifs (73,8 %) et n'ont jamais fumé (84,8 %). Trois quarts vivaient en milieu urbain (72,2%) et appartenaient à une classe sociodémographique défavorisée (82,1%). La prévalence de l'obésité ou surpoids était de 59,3%. La fréquence des mutations *KRAS* était de 34,4% (52/151) chez ces patients, dont 65,4% avaient une mutation unique au codon 12, et 34,6% une mutation unique au codon 13. Les mutations les plus fréquentes étaient : 35G>A (30,8%), 38G>A (30,8%) et 35G>T (15,4%).

L'apport énergétique total était très élevé chez le groupe avec le gène *KRAS* muté au niveau des codons 12 et 13 ($KRAS^+$) par rapport au groupe ne présentant pas de mutations de ce gène ($KRAS^-$) (4663,84 contre 2853,73 Kcal/jour ; p=0,03). Le groupe $KRAS^+$ avait aussi des apports plus élevés, en graisses totales (116,11 contre 95,71 g/jour ; p=0,01), en graisses saturées (SFA) (45,71 contre 37,15 g/jour ; p=0,18), en graisses monoinsaturées (MUFA) (43,82 contre 35,45 g/jour ; p=0,01) et en graisses polyinsaturées (PUFA) (19,77 contre 16,16 g/jour ; p=0,01) par rapport au groupe $KRAS^-$.

À l'exception des graisses saturées (SFA), toutes les différences observées étaient statistiquement significatives.

L'analyse multivariée a montré un risque élevé des mutations *KRAS* associé à une consommation élevée de PUFA (> 16,9 g/jour) (OR=2,15, 95% IC=1,01-4,59), mais pas pour le MUFA et le SFA.

Ce travail a mis l'accent pour la première fois au Maroc sur la possible implication d'une consommation élevée des graisses en particulier les PUFA dans la survenue du CCR. Ces résultats contribueraient certes au développement des stratégies de prévention axées sur l'amélioration de la qualité des habitudes alimentaires marocaines en pleine processus de transition nutritionnelle, mais nécessitent d'être complétées par des études longitudinales et/ou expérimentales afin d'appuyer davantage les présents résultats, et de rechercher d'autres facteurs nutritionnels suspects.

**Mots-clés :** Cancer, colon, rectum, mutation *KRAS*, nutrition.

# REMERCIEMENTS

Mes remerciements vont tout d'abord au **Professeur Karima EL RHAZI**, Professeur à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et de Médecine Dentaire de Fès, et Directrice de ma thèse, qui m'a non seulement fait découvrir la recherche scientifique en m'assurant un encadrement de qualité, mais également, m'a touché par ses qualités humaines, son dynamisme, sa disponibilité et sa grande gentillesse cachée derrière son sérieux. Je suis très heureux de pouvoir lui apporter ici le témoignage de mon profond respect escorté de meilleurs vœux de prospérité et de bonheur.

Je tiens à remercier également le **Professeur Karim OULDIM**, Directeur de l'Institut de Recherche sur le Cancer, et Directeur de ma thèse, pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire en mettant à ma disposition tous les moyens techniques pour effectuer les analyses moléculaires. Je le remercie particulièrement pour ses conseils toujours pertinents et ses encouragements continus.

J'exprime mon immense gratitude au **Professeur Laila BOUGUENOUCH,** Professeur à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et de Médecine Dentaire de Fès. Son sourire et sa modestie hors norme, sont contagieux à tout le personnel, et créent un climat de travail et de confort exceptionnel. Je vous suis reconnaissant Professeur, de votre soutient inconditionné dans les moments les plus difficiles de ma thèse.

Je tiens à remercier tout particulièrement **Professeur Mohammed SEKAL,** Professeur à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et de Médecine Dentaire de Fès, pour sa contribution dans la réalisation des analyses moléculaires, mais aussi pour son écoute, ses conseils judicieux, sa gentillesse et son humble caractère.

J'adresse mes remerciements les plus sincères au Professeur **Bahia BENNANI,** Professeur à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et de Médecine Dentaire de Fès, qui m'a acueilli au laboratoire de Microbiologie, et Biologie Moléculaire au tout début de ma thèse en m'initiant aux bases de la biologie moléculaire durant mes premiers pas dans la recherche.

Mes vifs remerciements vont aux membres du jury :

- Monsieur le **Professeur Abdellatif BENIDER** de la Faculté de Médeicne et de Pharmacie de Casablanca, d'avoir accepté la présidence de jury, ses conseils et ses remarques ne feront qu'enrichir cette recherche.

- Madame le Professeur **Kaoutar ZNATI** de la Faculté de Médeicne et de Pharmacie de Rabat**,** Madame le professeur **Mariam TAJIR** de la Faculté de Médeicne et de Pharmacie d'Oujda, et Monsieur le professeur **Mohammed BERRAHO** de la Faculté de Médeicne, de Pharmacie et de Médecine Dentaire de Fès, d'avoir accepté de juger cette thèse en tant que rapporteurs. Leurs remarques précises et pertinentes apporteront un éclairage nouveau sur ce travail.
- Madame le **Professeur Laila BOUGUENOUCH** de la Faculté de Médeicne, de Pharmacie et de Médecine Dentaire de Fès, Madame le **Professeur Sanae ABBAOUI** de la Faculté de Médeicne et de Pharmacie d'Agadir, Madame le **Professeur Zineb BENBRAHIM** de la Faculté de Médeicne, de Pharmacie et de Médecine Dentaire de Fès**,** et Monsieur le **Professeur Mehdi KARKOURI** de la Faculté de Médeicne et de Pharmacie de Casablanca, en tant qu'examinateurs de ce modeste travail.

Une grosse partie de ce projet n'aurait pas été possible sans la contribution des **Professeurs Sanae ABBAOUI, Kaoutar ZNATI, et Mehdi KARKOURI** qui nous ont fourni, volontiers les échantillons tumoraux. MERCI infiniment de votre collaboration.

Un GRAND MERCI à toute l'équipe du laboratoire d'Epidémiologie, Recherche Clinique et Santé Communautaire, qui a collecté et validé les données nutritionnelles. Notamment **Khaoula EL KINANY, Meimouna MINT SIDI DEOULA, Zineb HATIME , et Hanae Abir BOUDOUAYA.**

Je n'oublie pas de remercier tous les membres du laboratire de Génétique Médicale et d'Oncogénétique, **Mohammed AHAKOUD, Oussama KETTANI, Hanane SAYEL, Sanae EL BARDAI, Said TRHANINT, Meriame ABASSI, Ihssane EL OTMANI, Ismail et Khaoula EL FIZAZI** pour leur soutien. J'adresse un remerciement spécial pour **Fatima zahra MOUFID,** pour sa contribution majeure dans la réalisation de ce travail.

La réalisation du projet sur les Facteurs de risque comportementaux, nutritionnels et génétiques des cancers colorectaux au Maroc n'était pas possible sans le financemnt de **la Fondation Lalla Salma de Lutte Contre le Cancer**, **la Société Marocaine des Maladies de Système Digestif**, et **le Moffit cancer center** (under the NIH International Fogarty Center for the award number 5D43TW009804, **PI Anna GIULIANO**). UN GRAND MERCI.

Je profite aussi de cette occasion pour adresser un remerciement du fond du coeur au **Professeur Anna GIULIANO,** la directrice fondatrice du Center for Immunization and Infection Research in Cancer (CIIRC) au Moffitt Cancer Center, et à **Madame Hala AZZAM,** Directrice adjointe of Cancer Prevention Fellowship Program à NIH, pour leur dévouement à nous fournir une formation de haute qualité sur la méthodologie de la recherche surtout en domaine de l'épidémiologie de cancer.

Je saisie cette occasion pour remercier **Professeur Ellen KAMPMAN (**Division of Human Nutrition and Health, Wageningen University and Research, Wageningen. The Netherlands.), **Professeur Inge HUYBRECHTS**, et **Professeur Marc GUNTER (**Nutrition and Metabolism Branch, International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, Lyon, France.) pour leurs contributions de grande valeur scientifique à l'étape d'intérprétation des résultats et de rédaction des articles.

Il m'est très difficile de remercier à sa juste valeur les personnes qui me sont très chères, ma merveilleuse famille, notamment :

**Mon défunt Père** qui a cru à mes compétences depuis ma petite enfance.

**Ma chère Mère** et **mes frères et sœurs** qui m'ont toujours encouragé en suivant mes pérégrinations durant ces longues années d'étude, et en m'apportant son soutien et affection.

**Ma très chère femme Btissame,** qui a été une source constante d'amour, de soutien et d'encouragement en dépit des difficultés. Tu as été le vent sous mes ailes tout au long de cette thèse. Je t'en serai reconnaissant toute la vie.

**Mes très chers enfants Samy et Lyna**, merci à votre patience innocente face au stress de votre PAPA.

Je terminerai par un témoignage empreint d'estime et de gratitude à tous ceux, qui m'ont apporté, directement ou indirectement, leur aide ou leurs encouragements afin que je réussisse ce travail qui vous sera présenté par la suite.

# RESUME

L'incidence et la mortalité liées au cancer colorectal (CCR) montrent une nette augmentation dans les pays en voie de développement. La nutrition constitue un facteur de risque bien établi du CCR et peut conduire via des altérations génétiques et épigénétiques prolongées à la prolifération des cellules coliques et rectales en tumeurs malignes. Parmi les gènes clés impliqués dans ce processus carcinogène, le gène *KRAS* était intensivement étudié pour les raisons suivantes : (1) sa haute fréquence (42%) dans les tumeurs colorectales ; (2) son intervention précoce dans le processus carcinogène ; (3) son rôle en tant que biomarqueur prédictif et pronostic possible chez les patients CCR.

Le Maroc figure parmi les pays en développement qui sont en transition épidémiologique et nutritionnelle caractérisées par un changement progressif vers un mode de vie plus occidentalisé, et une nette croissance de l'incidence et de mortalité liées aux cancers dont le CCR.

L'objectif de cette thèse est d'étudier l'association entre les facteurs nutritionnels et le risque de la survenue des mutations activatrices *KRAS*. Une telle association n'a jamais été étudiée auparavant dans le contexte marocain.

Cette thèse s'est déroulée en 2 étapes : la première étape a été consacrée à la réalisation d'une revue systématique sur l'association possible entre les différents facteurs nutritionnels et les mutations *KRAS* dans le cas du CCR ; et la deuxième étape concernait la recherche de l'association entre l'apport en graisses alimentaires et les mutations *KRAS* dans une série de cas de CCR nichée dans une large étude cas-témoin intitulée « Facteurs de risque comportementaux, nutritionnels et génétiques des cancers colorectaux au Maroc » dont le protocole a été déjà publié.

Cette étude multicentrique a été conduite au niveau de 4 principaux centres d'oncologie marocains : Rabat, Casablanca, Fès et Oujda. Les données sociodémographiques, et nutritionnelles ont été collectées au moment de l'inclusion des cas dans l'étude cas-témoin initiale. Leurs données génétiques ont été explorées dans le cadre de cette thèse à partir des tissus anatomopathologiques utilisés pour la confirmation diagnostique et stockés dans les services d'anatomopathologie des centres participant à l'étude initiale. Les données moléculaires ont été déterminées après extraction, amplification et séquençage de l'ADN tumorale à partir de tissus inclus en paraffine. Des modèles de régressions logistiques (bruts et ajustés) ont été utilisés sur la base de l'apport médian des différentes variables lipidiques PUFA (Acides Gras Polyinsaturés), MUFA (Acides Gras Monoinsaturés), SFA (Acides Gras Saturés) (faibles consommateurs contre consommateurs élevés) pour estimer les risques des mutations *KRAS* en fonction des apports en matières grasses, et en tenant compte des facteurs de confusion potentiels : âge, sexe et apport énergétique.

Les principaux résultats de la revue systématique qui a inclut 28 études étaient :

- La plupart des études recensées sont de type série de cas nichées dans des études cohorte ou dans des études cas-témoins à grande échelle.
- Les facteurs nutritionnels étudiés comprenaient des aliments tels que : la viande, les fruits, les légumes, les fibres, les produits laitiers, le café, le thé, les aliments à base d'acrylamide, les boissons alcoolisées et les composés organochlorés, ainsi que de nombreux nutriments, y

compris les vitamines (A, B1, B2, B6, B9, B12, D, E), le calcium, les protéines animales, le fer héminique et les graisses (avec les sous-groupes : PUFA, MUFA et SFA).
- Les résultats concernant ces facteurs nutritionnels étaient souvent mitigés, en particulier pour les graisses, où certaines études soupçonnaient les PUFA de constituer un facteur de risque pour la survenue des mutations *KRAS*, contrairement à d'autres qui reniaient ce fait.
En ce qui concerne l'étude de série de cas, 151 patients CCR y ont été inclus. L'âge moyen était de 53,66 ± 13,99 ans. Plus de la moitié étaient des femmes (55 %), et la plupart étaient mariés (75,5%) et analphabètes (62,3%). La majorité d'entre eux étaient actifs (73,8 %) et n'ont jamais fumé (84,8 %). Trois quarts vivaient en milieu urbain (72,2%) et appartenaient à une classe sociodémographique défavorisée (82,1%). La prévalence de l'obésité ou surpoids était de 59,3%. La fréquence des mutations *KRAS* était de 34,4% (52/151) chez ces patients, dont 65,4% avaient une mutation unique au codon 12, et 34,6% une mutation unique au codon 13. Les mutations les plus fréquentes étaient : 35G>A (30,8%), 38G>A (30,8%) et 35G>T (15,4%).
L'apport énergétique total était très élevé chez le groupe avec le gène *KRAS* muté au niveau des codons 12 et 13 (KRAS+) par rapport au groupe ne présentant pas de mutations de ce gène ($KRAS^-$) (4663,84 contre 2853,73 Kcal/jour ; p=0,03). Le groupe KRAS+ avait aussi des apports plus élevés, en graisses totales (116,11 contre 95,71 g/jour ; p=0,01), en graisses saturées (SFA) (45,71 contre 37,15 g/jour ; p=0,18), en graisses monoinsaturées (MUFA) (43,82 contre 35,45 g/jour ; p=0,01) et en graisses polyinsaturées (PUFA) (19,77 contre 16,16 g/jour ; p=0,01) par rapport au groupe $KRAS^-$.
À l'exception des graisses saturées (SFA), toutes les différences observées étaient statistiquement significatives.
L'analyse multivariée a montré un risque élevé des mutations *KRAS* associé à une consommation élevée de PUFA (> 16,9 g/jour) (OR=2,15, 95% IC=1,01-4,59), mais pas pour le MUFA et le SFA.
Ce travail a mis l'accent pour la première fois au Maroc sur la possible implication d'une consommation élevée des graisses en particulier les PUFA dans la survenue du CCR. Ces résultats contribueraient certes au développement des stratégies de prévention axées sur l'amélioration de la qualité des habitudes alimentaires marocaines en pleine processus de transition nutritionnelle, mais nécessitent d'être complétées par des études longitudinales et/ou expérimentales afin d'appuyer davantage les présents résultats, et pour rechercher d'autres facteurs nutritionnels suspects.

**Mots clés : Cancer, colon, rectum, ~~colorectal ;~~ mutation KRAS , ~~;~~ nutrition.**

**Mis en forme :** Police :Gras, Police de script complexe :Gras

**Mis en forme :** Police :Gras, Police de script complexe :Gras

**Mis en forme :** Police :Gras, Police de script complexe :Gras

# ملخص الدراسة


يُظهر معدل الإصابة والوفيات المرتبطة بسرطان القولون والمستقيم (سقم) زيادة ملحوظة في البلدان النامية. تعتبر التغذية عامل خطر راسخ لـ (سقم)، حيث يمكن أن تؤدي من خلال التغيرات الجينية والتخلقية فوق الجينية إلى تكاثر خلايا القولون والمستقيم مسببة تشكل أورام خبيثة. من بين الجينات الرئيسية المشاركة في هذه الآلية المسرطنة، تمت دراسة جين *KRAS* بشكل مكثف للأسباب التالية: (1) تواتره العالي (42٪) في أورام القولون والمستقيم. (2) التدخل المبكر في الآلية المسرطنة. (3) دوره كمؤشر حيوي تنبؤي وتشخيصي محتمل عند مرضى (سقم).

يعد المغرب من البلدان النامية التي تمر بمرحلة انتقالية اقتصادية واجتماعية وديموغرافية وغذائية. تتميز هذه المرحلة الانتقالية بتغير تدريجي نحو أسلوب الحياة الغربية وزيادة واضحة في معدل الإصابة والوفيات المرتبطة بالسرطان، بما في ذلك (سقم).

تهدف هذه الأطروحة إلى دراسة الارتباط بين العوامل الغذائية وخطر حدوث طفرات الجين *KRAS* المنشطة، حيث تعتبر الأولى من نوعها في السياق المغربي.

تم إنجاز هذه الأطروحة على مرحلتين: تم تخصيص المرحلة الأولى لإجراء مراجعة منهجية حول الارتباط المحتمل بين العوامل الغذائية المختلفة وطفرات *KRAS* في حالة (سقم)؛ وتتعلق المرحلة الثانية بالبحث عن الارتباط بين تناول الدهون الغذائية وطفرات *KRAS* في سلسلة من حالات تم انتقاؤها من دراسة أولية من نوع حالات-شواهد كبيرة بعنوان "عوامل الخطر السلوكية والتغذوية والوراثية لسرطان القولون والمستقيم في المغرب" والتي تم نشربروتوكول خاص بها من قبل.

أجريت هذه الدراسة متعددة المراكز في 4 مراكز أورام مغربية رئيسية: الرباط والدار البيضاء وفاس ووجدة، حيث تم جمع البيانات الاجتماعية والديموغرافية والتغذوية في وقت إدراج الحالات في الدراسة الأولية. وقد تم استخراج بياناتهم الوراثية من الأنسجة المرضية المستخدمة لتأكيد التشخيص والتي يتم تخزينها في أقسام خاصة داخل المراكز المشاركة في الدراسة الأولية.

بالنسبة للبيانات الجزيئية، فقد تم تحديدها بعد استخراج وتضخيم وقراءة تسلسل نيكليوتيدات الحمض النووي (ADN) للخلايا الورمية المأخوذة من الأنسجة المضمنة بالبارافين.

لتقدير مخاطر طفرات *KRAS* بدلالة استهلاك المواد الدهنية، تم استخدام نماذج الانحدار اللوجستي (الخام والمعدل) على أساس متوسط الإستهلاك لأنواع الدهون المختلفة PUFA (الأحماض الدهنية غير المشبعة المتعددة) و MUFA (الأحماض الدهنية غير المشبعة الأحادية) و SFA (الأحماض الدهنية المشبعة) مع مراعاة العوامل المربكة المحتملة: العمر والجنس الاستهلاك الطاقي.

من بين النتائج الرئيسية للمراجعة المنهجية التي تم إنجازها في إطار هذه الأطروحة والتي شملت 28 دراسة منشورة، نجد:

- معظم الدراسات التي تناولت مواضيع مماثلة كانت من نوع دراسة الأفواج (Cohorte) ثم دراسة حالات-شواهد (cas-témoin) ودراسة سلسلة حالات (série de cas).
- تضمنت العوامل الغذائية المدروسة أطعمة مثل: اللحوم، والفواكه، والخضروات، والألياف، ومنتجات الألبان، والقهوة، والشاي، وأطعمة الأكريلاميد، والمشروبات الكحولية، والكلور العضوي، بالإضافة إلى العديد من العناصر الغذائية، بما في

ذلك الفيتامينات (A، B1، B2، B6، B9 B12، C، D، E) ، الكالسيوم ، البروتينات الحيوانية، الحديد و الهيم والدهون (بمجموعاتها الفرعية: PUFA، MUFA و SFA).

غالبًا ما كانت النتائج المتعلقة بهذه العوامل الغذائية متباينة، خاصة بالنسبة للدهون، حيث اشتبهت بعض الدراسات في أن PUFA عامل خطر لحدوث طفرات *KRAS*، بينما نفى البعض الآخر هذه الحقيقة.

شملت دراستنا 151 مريضاً ب "سقم" يتميزون بمتوسط عمر يبلغ 53.66 ± 13.99 سنة. أكثر من نصف المرضى كن من النساء (55٪)، ومعظمهم كانوا متزوجون (75.5٪) وأميون (62.3٪). الغالبية منهم كانوا نشيطون (73.8٪) ولم يدخنوا قط (84.8٪)، وثلاثة أرباعهم كانوا يعيشون في مناطق حضرية (72.2٪) وينتمون إلى طبقة اجتماعية (82.1٪) ذات مدخول شهري يقل عن 2000 درهم. بخصوص السمنة، بلغت نسبة انتشارها في العينة 16٪ بينما كانت نسبة زيادة الوزن في حدود 43.3٪.

تم الكشف عن طفرات *KRAS* عند 34.4٪ (151/52) من المرضى الذين شملتهم الدراسة، منهم 65.4٪ لديهم طفرة واحدة على مستوى الثلاثية 12، و34٪ لديهم طفرة واحدة في الثلاثية 13. وكانت الطفرات الأكثر شيوعًا هي: استبدال النكليوتيد رقم 35 G ب A (30.8%)، واستبدال النكليوتيد رقم 38 G ب A (30.8%)، واستبدال النكليوتيد رقم 35 G ب T (15.4%).

تم التوصل أيضا إلى أن إجمالي مدخول الطاقة كان مرتفعًا جدًا في المجموعة التي تحتوي على جين *KRAS* الطافر (*KRAS*) على مستوى الثلاثيتين 12 و13 من الخارجة 2 (*KRAS* $^{+}$) مقارنة بالمجموعة التي لا تحتوي على طفرات في هذا الجين ($^{+}$) (*KRAS*-) (4663.84 كيلو كالوري / يوم مقابل 2853.73؛ p = 0.03). كما تميزت المجموعة *KRAS* $^{+}$ أيضًا باستهلاك أعلى من إجمالي الدهون (116.11 مقابل 95.71 جم / يوم؛ p= 0.01)، والدهون المشبعة (SFA) (45.71 مقابل 37.15 جم / يوم؛ p = 0.18)، والدهون غير المشبعة الأحادية (MUFA) (43.82 مقابل 35.45 جم / يوم؛ p = 0.01) والدهون غير المشبعة المتعددة (PUFA) (19.77 مقابل 16.16 جم / يوم؛ p =0.01) مقارنة بالمجموعة *KRAS*-. باستثناء الدهون المشبعة (SFA)، فقد كانت جميع الفروق الملحوظة ذات دلالة إحصائية.

أظهر التحليل متعدد المتغيرات وجود مخاطر عالية لطفرات *KRAS* المرتبطة بارتفاع استهلاك PUFA (> 16.9 جم / يوم) (OR = 2.15، 95٪CI = 1.01-4.59 ) ، ولكن ليس بالنسبة ل MUFA و SFA. استنادًا إلى متوسط تناول أنواع الدهون (استهلاك ضعيف مقابل استهلاك مهم) فقد لوحظ وجود ارتباط إيجابي بين ارتفاع استهلاك PUFA (> 16.9 جم / يوم) وطفرات *KRAS* (OR=2,15, 95% IC=1,01-4,59).

ركز هذا العمل لأول مرة في المغرب على الآثار المحتملة لارتفاع استهلاك الدهون، ولا سيما الأحماض الدهنية غير المشبعة المتعددة PUFA، في حدوث طفرات KRAS التي لها دور في حدوث سرطان القولون و المستقيم. ستساهم هذه النتائج بالتأكيد في تطوير استراتيجيات وقائية تركز على تحسين جودة عادات الأكل المغربية في خضم عملية التحول التغذوي، ولكن يجب استكمالها بدراسات تجريبية من أجل دعم النتائج الحالية بشكل أكبرمع البحث عن عوامل غذائية أخرى مشبوهة.

**الكلمات المفتاح :** سرطان، قولون، مستقيم، طفرة، KRAS، تغذية.

**Mis en forme :** Police :Gras, Police de script complexe :Gras

# Abstract

The incidence and mortality associated with colorectal cancer (CRC) shows a marked increase in developing countries. Nutrition is a well-established risk factor for CRC and can lead via prolonged genetic and epigenetic alterations to the proliferation of colonic and rectal cells into malignant tumors. Among the key genes involved in this carcinogenic process, the *KRAS* gene was intensively studied for the following reasons: (1) its high frequency (42%) in colorectal tumors; (2) its early intervention in the carcinogenic process; (3) its role as a predictive biomarker and possible prognosis in CRC patients.

Morocco is among the developing countries which are in epidemiological and nutritional transition characterized by a gradual change towards a more westernized way of life, and a marked increase in the incidence and mortality linked to cancers, including CRC.

The objective of this thesis is to study the association between nutritional factors and the risk of the occurrence of *KRAS* activating mutations. Such an association has never been studied before in the Moroccan context.

The present work took place in 2 stages: the first stage was devoted to carrying out a systematic review on the possible association between different nutritional factors and *KRAS* mutations in the case of CRC; and the second stage concerned the search for the association between dietary fat intake and *KRAS* mutations in a series of cases of CRC nested in a large case-control study entitled "Behavioral, nutritional and genetic risk factors for colorectal cancers in Morocco " whose protocol has already been published.

This multicenter study was carried out at 4 main Moroccan oncology centers: Rabat, Casablanca, Fez and Oujda. Sociodemographic and nutritional data were collected at the time of inclusion of cases in the initial case-control study. Their genetic data were explored in the framework of this thesis from the pathological tissues used for diagnostic confirmation and stored in the pathology departments of the centers participating in the initial study. Molecular data was determined after extraction, amplification and sequencing of tumor DNA from paraffin-embedded tissues. Logistic regression models (crude and adjusted) were used on the basis of the median intake of the different lipid variables PUFA (Polyunsaturated Fatty Acids), MUFA (Monounsaturated Fatty Acids), SFA (Saturated Fatty Acids) (low consumers versus high consumers) to estimate the risks of *KRAS* mutations and diatery fat intake, taking into account potential confounding factors: age, gender and energy intake.

The main results of the systematic review which included 28 studies were:

- Most of the studies identified are of the case series type nested in cohort studies or in large-scale case-control studies.

- Nutritional factors studied included foods such as: meat, fruits, vegetables, fiber, dairy products, coffee, tea, acrylamide foods, alcoholic beverages and organochlorines, as well than many nutrients, including vitamins (A, B1, B2, B6, B9, B12, D, E), calcium, animal proteins, heme iron and fats (with the subgroups: PUFA, MUFA and SFA).

- Results regarding these nutritional factors were often mixed, especially for fat, where some studies suspected PUFAs to be a risk factor for the occurrence of KRAS mutations, while others denied this fact.

In the case series study, 151 CRC patients were included. The mean age was 53.66 ± 13.99 years. More than half were women (55%), and most were married (75.5%) and illiterate (62.3%). The majority of them were active (73.8%) and have never smoked (84.8%). Three quarters lived in urban areas (72.2%) and belonged to a disadvantaged socio-demographic class (82.1%). The prevalence of obesity or overweight was 59.3%. The frequency of *KRAS* mutations was 34.4% (52/151) in these patients, of which 65.4% had a single mutation at codon 12, and 34.6% a single mutation at codon 13. The most frequent mutations were: 35G> A (30.8%), 38G> A (30.8%) and 35G> T (15.4%).

The total energy intake was very high in the group with the KRAS gene mutated at codons 12 and 13 ($KRAS^+$) compared to the group without mutations of this gene ($KRAS^-$) (4663.84 versus 2853.73 Kcal / day; p = 0.03). The $KRAS^+$ group also had higher intakes, in total fat (116.11 against 95.71 g / day; p = 0.01), in saturated fat (SFA) (45.71 against 37.15 g / day; p = 0.18), in monounsaturated fats (MUFA) (43.82 against 35.45 g / day; p = 0.01) and in polyunsaturated fats (PUFA) (19.77 against 16.16 g / day; p = 0.01) compared to the $KRAS^-$ group.

With the exception of saturated fat (SFA), all observed differences were statistically significant.

Multivariate analysis showed a high risk of *KRAS* mutations associated with high consumption of PUFA (> 16.9 g / day) (OR = 2.15, 95% CI = 1.01-4.59), but not for MUFA and SFA.

This work focused for the first time in Morocco on the possible implication of a high consumption of fats, in particular PUFAs, in the occurrence of CRC. These results would certainly contribute to the development of prevention strategies focused on improving the quality of Moroccan eating habits in the midst of the nutritional transition process, but need to be supplemented by longitudinal and / or experimental studies in order to further support the present results and to look for other suspicious nutritional factors.

**Mots clés : Cancer, colon, rectum, mutation, KRAS , nutrition.**

# PRODUCTIONS SCIENTIFIQUES

## Articles publiés dans le cadre de la thèse dans des journaux indexés à facteur d'impact

1- **Achraf El Asri,** Karim Ouldim, Laila Bouguenouch, Mohamed Sekkal, Fatima Zahra Moufid, Ellen Kampman, Sanae Abbaoui, Kaoutar Znati, Mehdi Karkouri, Khaoula El Kinany, Zineb Hatime, Meimouna Mint Sidi Deoula, Leila Chbani, Btissame Zarrouq, Karima El Rhazi. ***Dietary fat intake and KRAS mutations in colorectal cancer in a Moroccan population.*** Accepté pour publication au **Nutrients journal. Janvier 2022.**

2- **El Asri A,** Zarrouq B, El Kinany K, Bouguenouch L, Ouldim K, El Rhazi K. ***Associations between nutritional factors and KRAS mutations in colorectal cancer: a systematic review.*** **BMC Cancer**. 2020 Jul 28;20(1):696. doi: 10.1186/s12885-020-07189-2.

3- El Kinany K, Mint Sidi Deoula M, Hatime Z, Boudouaya HA, Atassi M, **El Asri A**, Benslimane A, Nejjari C, Ibrahimi SA, Lagiou P, El Rhazi K. ***Modified Mediterranean diet score adapted to a southern Mediterranean population and its relation to overweight and obesity risk.*** **Public Health Nutr.** 2020 Jul 29:1-7. doi: 10.1017/S1368980020002062.

4- El Kinany K, Mint Sidi Deoula M, Hatime Z, Boudouaya HA, Huybrechts I, **El Asri A**, Benider A, Ahallat M, Afqir S, Mellas N, Khouchani M, El Rhazi K. ***Consumption of modern and traditional Moroccan dairy products and colorectal cancer risk: a large case control study.*** **Eur J Nutr**. 2020 Apr;59(3):953-963. doi: 10.1007/s00394-019-01954-1. Epub 2019 Mar 30.

5- Mint Sidi Ould Deoula M, Huybrechts I, El Kinany K, Boudouaya H, Hatime Z, **El Asri A**, Benslimane A, Nejjari C, Sidi Adil I, El Rhazi K. ***Behavioral, Nutritional, and Genetic Risk Factors of Colorectal Cancers in Morocco: Protocol for a Multicenter Case-Control Study***. **JMIR Res Protoc.** 2020 Jan 13;9(1): e13998. doi: 10.2196/13998.

6- El Kinany K, Huybrechts I, Kampman E, Boudouaya HA, Hatime Z, Mint Sidi Deoula M, **El Asri A**, Benslimane A, Nejjari C, Ibrahimi SA, Mrabti H, Abda N, Alaoui R, Gunter MJ, El Rhazi K. ***Concordance with the World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research recommendations for cancer prevention and colorectal cancer risk in Morocco: A large, population-based case-control study*.** **Int J Cancer.** 2019 Oct 1 ;145(7) :1829-1837. Doi : 10.1002/ijc.32263. Epub 2019 Mar 29.

Code de champ modifié

## Autres articles publiés dans des journaux indexés avec facteur d'impact

**1-** Mohammed El Amine RAGALA, Jaouad El HILALY, Lamiae AMAADOUR, Majid OMARI, **Achraf EL ASRI**, Mariam ATASSI, Zineb BENBRAHIM, Naoufal MELLAS, Karima EL RHAZI, Karima HALIM, Btissame ZARROUQ. Validation of Mini-Mental Adjustment to Cancer Scale in a Moroccan sample of breast cancer women. **BMC Cancer** (2021) 21:1042. **https://doi.org/10.1186/s12885-021-08755-y**

**2-** Btissame ZARROUQ, Nivine ABBAS, Jaouad EL HILALY, **Achraf EL ASRI,** Samira ABBOUYI, Majid OMARI, Hicham MALKI, Samira BOUAZZA, Salma Ghofrane MOUTAWAKKIL, Karima HALIM, Mohamed El Amine RAGALA. An investigation of the association between religious coping, fatigue, anxiety and depressive symptoms during the COVID-19 pandemic in Morocco: A web-based cross-sectional survey. **BMC Psychiatry** (2021) 21 : 264. **https://doi.org/10.1186/s12888-021-03271-6**

Code de champ modifié

**3-** Zarrouq B, Bendaou B, **El Asri A**, Achour S, Rammouz I, Aalouane R, Lyoussi B, Khelafa S, Bout A, Berhili N, Hlal H, Najdi A, Nejjari C, and El Rhazi K. Psychoactive substances use and associated factors among middle and high school students in the North Center of Morocco: a cross-sectional questionnaire survey. **BMC Public Health**, 2016, 16:468. DOI 10.1186/s12889-016-3143-5

## Communications dans des congrès nationaux et internationaux

1- **Achraf El Asri**, Btissame Zarrouq, Laila Bouguenouch, Karim Ouldım, Karima El Rhazı. Associations Between Red Meat and Kras Mutations in Colorectal Cancer: A Systematic Review. **Oral Presentation**. International conference on food, nutrition, and dietetics, gastronomy research. 28-30 November 2018. Alanya/Turkey.

2- **Achraf El Asrı**, Btissame Zarrouq, Laila Bouguenouch, Karim Ouldım, Karima El Rhazı. The Relationship Between Vitamin B9 (Folate) and Colorectal Cancer With Kras Mutations: a Systematic Revie. **Oral Presentation**. International conference on food, nutrition, and dietetics, gastronomy research. 28-30 November 2018. Alanya/Turkey.

3- **Achraf El Asrı,** Btissame Zarrouq, Laila Bouguenouch, Karim Ouldım, Karima El Rhazı. Fat and Kras Mutations in Colorectal Cancer, What's the Association: A Systematic Review. **Poster Presentation**. International conference on food, nutrition, and dietetics, gastronomy research. 28-30 November 2018. Alanya/Turkey.

4- **El Asri A**, El Rhazi K, Karkouri M, Zidouh A, Fakhir A, El Abkari M, Bennani B. KRAS mutations in colorectal cancer: what's association with lifestyle and nutritional habits? Preliminary results. **Poster Presentation**. 10th International Conference on Cancer in Africa AORTIC OAREC. Marrakech, Morocco. November 2015.

5- Boudouaya H a., Elkinany K, Deoula MS, Hatime Z, **Elasri A**, Abda N, El Rhazi K. Dietary Pattern in Relation With CRC Risk Among Moroccan Population: a Multicenter Case-Control Study. **Poster Presentation**. JGO Global Oncology - American Society of Clinical Oncology. 28 sept 2018.

## Autres actes de congrès publiés dans des journaux indexés

**1-** B.Zarrouq, J.El Hilaly, **A.El Asri**, S.Abbouyi, I.Atemni, K.Halim, K.El Rhazi, M.Ragala. Analyse de la structure factorielle et des qualités psychométriques de la version arabe de « Canadian Problem Gambling Index » (CPGI). Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique. Volume 68, Supplement 3, September 2020, Page S144. https://doi.org/10.1016/j.respe.2020.03.089

**2-** B. Zarrouq, L. Amaadour, Z. Benbrahim, M. Omari, **A.El Asri**, M.Atassi, M.Ragala, K.Halim. L'association entre la stratégie d'ajustement psychologique et la réponse pathologique complète à la chimiothérapie néoadjuvante dans le cancer du sein : protocole d'une cohorte. Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique. Volume 68, Supplement 3, September 2020, Page S143.
https://doi.org/10.1016/j.respe.2020.03.087

**3-** B.Zarrouq, J.El Hilaly, **A.El Asri,** S.Abbouyi, S. Bouazza, K.Halim, K.El Rhazi, M.Ragala. Usage problématique des jeux vidéo en ligne: validation d'une version arabe de « Problematic Online Gaming Questionnaire » (POGQ). Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique. Volume 68, Supplement 3, September 2020, Page S144. https://doi.org/10.1016/j.respe.2020.03.090

**4-** B.Zarrouq, J.El Hilaly, **A.El Asri**, S.Abbouyi, N. Janati Idrissi, K.Halim, K.El Rhazi, M.Ragala. Structure factorielle et qualités psychométriques de la version arabe de l'échelle d'addiction au Facebook, « Bergen Facebook Addiction Scale » (BFAS). Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique. Volume 68, Supplement 3, September 2020, Pages S143-S144. https://doi.org/10.1016/j.respe.2020.03.088

**5-** B.Zarrouq, J.El Hilaly, **A.El Asri**, S.Abbouyi, L. Ahammam, S. Bouazza. K.Halim, K.El Rhazi, M.Ragala. Validation arabe d'une échelle d'addiction comportementale au net : « Virtual Addiction Test » (VAT). Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique. Volume 68, Supplement 3, September 2020, Pages S132.
**https://doi.org/10.1016/j.respe.2020.03.065**

**6-** B. Zarrouq, M. Ragala, M. El Balkoum, **A. El Asri**, M. Atassi, Z. Benbrahim, L. Amaadour, K. Halim. Validation de la version Arabe du « Mini-Mental Adjustement to Cancer scale » (Mini-MAC). Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique. Vol 67 - N° S3. Mai 2019.**https://doi.org/10.1016/j.respe.2019.03.063**

**7-** M. Ragala, B. Zarrouq, M. El Balkoum, **A. El Asri**, M. Atassi, Z. Benbrahim, L. Amaadour, K. Halim. Adaptation transculturelle et validation arabe de « Dyadic Adjustment Scale » (DAS). Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique. Vol 67 - N° S3. Mai 2019. **https://doi.org/10.1016/j.respe.2019.03.033**

**8-** B. Zarrouq, **A. El Asri**, A. El Ammari, M. El Amine Ragala, K. Halim, H. Slali, B. Lyoussi, K. El Rhazi, C. Nejjari. **A*daptation transculturelle et validation d'une version arabe dialectale de « center for epidemiological studies depression scale » (CES-D)***. Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique, *Volume 65, Supplement 2, May 2017, Page S88.* **https://doi.org/10.1016/j.respe.2017.03.086**

**9-** B. Zarrouq, **A. El Asri**, A. Chaib, H. L'kima, K. El Hayame, M. El Amine Ragala, K. Halim, H. Slali, B. Lyoussi, K. El Rhazi, C. Nejjari. Epidémiologie de l'usage des substances psychoactives chez les étudiants marocains. Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique, *Volume 65, Supplement 2, May 2017, Page S88.* **https://doi.org/10.1016/j.respe.2017.03.087**

# TABLE DES MATIERES

LISTE DES TABLEAUX ..... 1
LISTE DES FIGURES ..... 2
LISTE DES ABREVIATIONS ..... 3
Introduction générale ..... 4
Chapitre 1 - Revue de la littérature ..... 6
I- Cancérogenèse colorectale ..... 7
1- Structure et fonction du gros intestin ..... 7
1-1 Anatomie du gros intestin ..... 7
1-2 Histologie du gros intestin ..... 7
1-3 Fonction du gros intestin ..... 9
2- Aspects histologiques des CCRs ..... 10
2-1 Séquence adénome → carcinome ..... 10
2-2 La classification TNM et la stadification des CCRs ..... 11
3- Aspects moléculaires : altérations génétiques caractéristiques des CCRs ..... 13
3-1 L'instabilité génomique et épigénomique ..... 14
3-1-1 L'instabilité chromosomique (CIN) ..... 14
3-1-2 L'instabilité microsatellitaire (MSI) ..... 14
3-1-3 Le phénotype hyperméthylé des îlots CpG (CIMP) ..... 15
3-2 Les mutations ponctuelles ..... 15
3-3 Classification moléculaire des CCRs ..... 18
4- L'importance de la voie de signalisation RAS ..... 18
4-1 Les gènes RAS ..... 18
4-1-1 Découverte ..... 19
4-1-2 Pouvoir oncogène des gènes *RAS* ..... 19
4-1-3 Structure du gène *KRAS* ..... 20
4-2 Les protéines RAS ..... 22
4-2-1 Structure et fonction des protéines RAS ..... 22
4-2-2 Les mutations activatrices *KRAS* ..... 23
4-3 La voie de signalisation RAS/MAPK ..... 25
4-3-1 Activation normale ..... 25
4-3-2 Activation anormale dans le cas du cancer colorectal ..... 26
4-3-3 Interférence des protéines KRAS avec d'autres voies de signalisation ..... 27
4-4 Valeur pronostique et prédictive des mutations KRAS ..... 28

4-4-1 La valeur pronostique....28
4-4-2 La valeur prédictive....28
II- Epidémiologie descriptive des CCRs....30
1- Incidence et mortalité liées au cancer colorectal....30
1-1 A l'échelle mondiale....30
1-2 A l'échelle nationale....34
2- Facteurs liés au cancer colorectal....37
2-1 Facteurs non modifiables....38
2-2 Facteurs modifiables....40
3- Association entre l'alimentation et les altérations génétiques....45
III- Hypothèses de l'étude....48
IV- Objectifs de l'étude....48
1- Objectif principal....48
2- Objectifs secondaires....49
Chapitre 2 - Association entre les facteurs nutritionnels et les mutations *KRAS* des cancers colorectaux (Article1)....50
I- Stratégie de recherche....51
1- Critères d'inclusion et d'exclusion....51
2- Extraction de données....51
II- Évaluation de la qualité des études incluses dans la revue systématique....53
III- Résultats apportés par les études incluses dans la revue systématique....57
1- Associations entre les aliments et le statut mutationnel de *KRAS*....57
2- Associations entre les nutriments et le statut mutationnel de *KRAS*....59
IV- Discussion de l'association entre les facteurs nutritionnels et les mutations *KRAS* des cancers colorectaux dans le monde....75
*1*- Associations entre les aliments et le statut mutationnel de *KRAS*....75
2- Associations entre les nutriments et le statut mutationnel de *KRAS*....78
3- Conclusion....81
Chapitre 3 - Association entre les acides gras et les mutations *KRAS* des CCRs au Maroc....82
(Article 2)....82
I- Rappel de l'étude cas-témoin nationale globale «Facteurs de risque comportementaux, nutritionnels et génétiques des CCRs au Maroc »....83
1- Schéma de l'étude cas-témoins globale....83
2- Population de l'étude cas-témoins globale....83
3- Taille de l'échantillon de l'étude cas-témoins globale....84
4- Caractéristiques de la population de l'étude cas-témoins globale....85

II- Description de l'étude de série de cas nichée dans l'étude cas-témoins globale .....87
1- Schéma de l'étude .....87
2- Population de l'étude .....87
3- Recueil des données .....87
3-1 Données sociodémographiques et comportementales .....88
3-2- Données nutritionnelles .....89
4- Analyse moléculaire .....92
4-1 Matériel biologique .....92
4-2 Extraction de l'ADN .....92
4-3 Dosage de l'ADN .....93
4-4 Electrophorèse des produits PCR .....97
4-5 Séquençage de l'ADN .....98
5- Analyse statistique .....102
5-1 Variables de l'étude .....102
5-1-1 Variable d'intérêt principal (statut mutationnel) .....103
5-1-2 Variables explicatives .....103
5-2 Etapes de l'analyse statistique .....104
6- Considérations éthiques .....105
III- Résultats de l'étude de l'association entre les acides gras et les mutations *KRAS* des CCRs au Maroc .....106
1- Caractéristiques générales de la population d'étude .....106
2- Description de la mutation *KRAS* chez la population étudiée .....109
3- Apport alimentaire en graisses .....Erreur ! Signet non défini.~~Erreur ! Signet non défini.~~
4- Association entre l'apport en graisses alimentaires et les mutations *KRAS* .....110
IV- Discussion de l'association entre les acides gras et les mutations *KRAS* des CCRs au Maroc .....113
1- Prévalence de mutations *KRAS* .....113
2- Nature des mutations *KRAS* .....114
3- Association entre l'apport lipidique et les mutations *KRAS* .....114
Conclusions générales : Recommandations et perspectives .....116
Références bibliographiques .....119
Annexes .....132

# LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 Classification TNM adoptée en 2017 par l'UICC .....12
Tableau 2 Stadification du cancer colorectal selon la classification TNM, 2017 (.....12
Tableau 3 Caractéristiques de la carcinogenèse CIN et MSI. .....14
Tableau 4 Principaux gènes et voies de signalisation impliqués dans le CCR. .....17
Tableau 5 Classification moléculaire CMS des cancers colorectaux .....18
Tableau 6 Incidence, mortalité et prévalence selon le type de cancer .....36
Tableau 7 Associations entre le CCR et certains facteurs nutritionnels et comportementaux. .....44
Tableau 8 Principales études s'intéressant à l'interaction entre les facteurs nutritionnels, et comportementaux et les altérations génétiques connues du CCR jusqu'à 2017.....46
Tableau 9 Évaluation de la qualité des articles publiés sur les facteurs nutritionnels et les mutations *KRAS* dans le cancer colorectal. .....54
Tableau 10 Principaux résultats des études incluses.....63
Tableau 11 Principales caractéristiques des cas et des témoins dans l'étude Cas-Témoins globale . ....85
Tableau 12 Protocole PCR utilisé pour amplifier l'exon 2 du gène KRAS. .....97
Tableau 13 Programme de la réaction de séquence. .....101
Tableau 14 Volumes des réactifs du mix de la réaction de séquence. .....101
Tableau 15 Programme de la réaction de séquence .....101
Tableau 16 Répartition des patients recrutés selon les centres hospitaliers .....106
Tableau 17 Caractéristiques générales de la population étudiée, N = 151. .....107
Tableau 18 Comparaison des principales caractéristiques (âge, sexe et apport énergétique) entre la population de l'étude cas-témoins globale et de .....109
Tableau 19 Distribution des mutations KRAS dans les codons 12 et 13 de l'exon 2.....110
Tableau 20 Moyennes de l'apport énergétique et de l'apport en graisses totales et en gras chez la population étudiée ainsi que leur contribution dans l'apport énergétique total. .....111
Tableau 21 Apport en graisses alimentaires stratifié selon la présence de mutations KRAS dans les codons 12 et 13. .....112
Tableau 22 OR bruts et ajustés pour l'apport en matières grasses et le risque de mutations KRAS dans les tumeurs colorectales (faibles consommateurs versus consommateurs élevés sur la base de l'apport médian) (N =151) .....113

# LISTE DES FIGURES

Figure 1 Anatomie du gros intestin. ..... 7
Figure 2 Tuniques de la paroi colique. ..... 8
Figure 3 Types cellulaires des cryptes de Lieberkühn. ..... 9
Figure 4 Evolution d'un polype en tumeur maligne. ..... 10
Figure 5 La séquence adénome → carcinome. ..... 11
Figure 6 Stades du cancer colorectal suivant le degré d'invasion de la paroi intestinale. ..... 13
Figure 7 Profil mutationnel génomique du cancer colorectal. ..... 15
Figure 8 Séquence adénome → carcinome de point de vue moléculaire. ..... 16
Figure 9 Fréquences des mutations RAS faux sens dans différents types de cancers. ..... 20
Figure 10 Position du gène KRAS sur le chromosome 12. ..... 20
Figure 11 Organisation du gène *KRAS* et de ses transcrits (isoformes A et B). ..... 21
Figure 12 Epissage alternatif et production de la protéine *KRAS-4B*. ..... 21
Figure 13 Activité GTPasique de la protéine *RAS* ..... 22
Figure 14 Structure des protéines RAS. ..... 23
Figure 15 Distribution des fréquences KRAS au niveau des trois points chauds (codons 12, 13 et 61) dans certains types de cancer. ..... 23
Figure 16 Séquence de la protéine KRAS4B avec l'emplacement des mutations les plus fréquentes. ..... 24
Figure 17 Spectre mutationnel KRAS pour un total de 15.594 mutations. ..... 24
Figure 18 La voie de signalisation RAS/MAPK. ..... 25
Figure 19 Activation constitutive de la voie RAS/MAPK. ..... 27
Figure 20 Interférence de la protéine RAS avec différentes voies de signalisation oncogène. ..... 27
Figure 21 Taux d'incidence et de mortalité estimés à l'échelle mondiale, GLOBOCAN 2020. ..... 30
Figure 22 Taux d'incidence et de mortalité selon le sexe dans le monde, GLOBOCAN 2020. ..... 31
Figure 23 Taux d'incidence et de mortalité normalisés sur l'âge, selon l'indice de développement humain (IDH) chez l'homme et la femme. ..... 32
Figure 24 Taux d'incidence des cancers du côlon standardisés selon l'âge chez les deux sexes dans différentes régions du monde. ..... 33
Figure 25 Taux d'incidence normalisés selon l'âge par région selon le sexe pour les cancers du rectum. ..... 33
Figure 26 Proportions des types de cancer au Maroc en 2020 pour les deux sexes ..... 34
Figure 27 Nombre des nouveaux cas de cancer en 2020 selon le sexe. ..... 35
Figure 28 Répartition du nombre des cas du CCR par sexe et par tranche d'âge (*RCRC*). ..... 37
Figure 29 Liste des facteurs de risque modifiables et non modifiables du CRC ..... 37
Figure 30 Organigramme du processus de recherche systématique de la littérature conformément aux directives PRISMA. ..... 52
Figure 31 Spectrophotométrie NANODROP ..... 94
Figure 32 Fluorimètre (Qubit 3.0) ..... 94
Figure 33 Thermocycleur utilisé pour l'amplification de l'ADN tumoral. ..... 95
Figure 34 Principe de la PCR ..... 96
Figure 35 Electrophorèse de l'ADN tumoral révélant des bandes fluorescentes. ..... 98
Figure 36 Le séquenceur 3500 DX utilisé pour le séquençage de l'ADN. ..... 98
Figure 37 Principe du séquençage de Sanger. ..... 100
Figure 38 Électrophorégramme révélant une mutation de substitution de G en A au niveau du codon 12 de l'exon 2. ..... 102

# LISTE DES ABREVIATIONS

**ANOVA :** Analyse de la Variance
**APC :** Adenomatous Polyposis Coli
**CCR :** Cancer Colorectal
**CIN :** Instabilité Chromosomique
**CIRC :** Centre International de Recherche sur le Cancer
**ddNTP :** didéoxyriboNucléotides TriPhosphates
**dNTP :** désoxyriboNucléotides TriPhosphates
**EGFR:** Human EGF Receptor (Epidermal Growth Factor)
**GST:** Glutathione S-Transferase
**GSTM-1:** Glutathione S-Tansferases Mu form
**HAC :** Amines HétéroCycliques
**HAP :** Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques
**HPFS**: Health Professionals Follow-Up Study
**HR :** Hazard Ratio
**IC :** Intervalle de Confiance
**IMC :** Indice de Masse Corporelle
**KRAS :** Kirsten rat sarcoma
**MII :** Maladies Inflammatoires de l'Intestin
**MSI :** Instabilité Microsatellitaire
**MUFA:** Monounsaturated Fatty Acids
**NAT:** N-AcetylTransferase;
**NHS:** Nurses' Health Studies;
**NLCS:** Netherlands Cohort Study on diet and cancer
**NOC :** Composés N-nitrosés
**OR :** Odds Ratio
**PUFA:** Polyusaturated Fatty Acids
**RAS/MAPK:** Mitogen Activated Protein Kinase
**RCRC :** Registre des Cancers de la Région du Grand Casablanca
**RR:** Relative Risk
**SFA:** Saturated Fatty Acids
**TCAM :** Table de Composition Alimentaire Marocaine
**UICC :** Union Internationale Contre le Cancer

**Commenté [KE1]:** à définir aussi

# Introduction générale

Les nutritionnistes savent depuis longtemps que « vous êtes ce que vous mangez » n'est pas seulement une expression. Des études récentes suggèrent que la composition de nos assiettes nous affecte profondément et affecte parfois même nos enfants et petits-enfants (1). Le cancer colorectal (CCR) figure parmi les maladies dont l'étiologie est étroitement liée à nos habitudes alimentaires et à notre mode de vie. Son incidence ne cesse d'augmenter dans les pays en développement à cause de la modernisation accompagnée d'une transition alimentaire vers un régime riche en sucres et en lipides (2).

Au Maroc, un pays méditerranéen censé avoir une alimentation « saine », un changement majeur dans le régime alimentaire a été observé. Il s'est manifesté par une forte augmentation de la consommation d'aliments riches en graisses avec un apport quotidien qui est passé de 42g à 59 g par habitant entre 1968 et 1999 (2). Selon l'Enquête Nationale sur la Consommation et les Dépenses des Ménages, la consommation en quantité de matières grasses a augmenté entre 2001 et 2014 suite à la consommation d'huiles qui a augmenté en moyenne de 5,4 L (22,4 L contre 17, 02 L par personne et par an) (3). Or, certaines études épidémiologiques montrent que les lipides totaux ainsi que leurs sous-groupes (acides gras saturés, mono-insaturé et poly-insaturés) sont positivement associés au risque de CCR (4).

**Commenté [KE2]:** je crois qu'il y a une référence plus récent. Regardes le rapport du haut commissariat au plan sur "le profil alimentaire des maroccains 2016)

Les composants alimentaires d'un repas humain, aussi ordinaires qu'ils soient, peuvent contenir divers composés endommageant l'ADN. Les dommages causés par ces aliments favorisent le cancer s'ils sont induits d'une intensité appropriée et en ciblant des gènes clés impliqués dans la prolifération cellulaire et/ou dans la suppression des tumeurs (1). Ainsi, les cellules rectales et coliques qui sont exposées directement et chroniquement à des agents nocifs et mutagènes issus de la peroxydation des lipides, voient s'effondrer leurs mécanismes de défense, perdent le contrôle, et deviennent tumorales.

Le CCR, ou plutôt les CCRs, sont en réalité très hétérogènes, du fait qu'ils peuvent résulter de différents mécanismes faisant intervenir des altérations génétiques et/ou épigénétiques multiples. A cet égard, la présence de certaines mutations fréquentes sur le gène *KRAS* peut impacter l'initiation et la progression du CCR, voire même conférer aux patients CCR une résistance à certains traitements anti-cancéreux (5).

Alors que les études épidémiologiques classiques cherchent à établir un lien entre les facteurs de risque alimentaires et les CCRs sans tenir compte de leurs marqueurs moléculaires spécifiques, les études pathologiques de leur côté, explorent les caractéristiques moléculaires des tumeurs afin de prédire le pronostic et la réponse au traitement sans les associer pour autant aux facteurs de risques nutritionnels probables (6).

L'objectif de cette étude est d'allier ces deux domaines d'investigations pour explorer l'association possibles entre l'apport alimentaire et certaines mutations *KRAS* dans le cadre du cancer colorectal. Une telle recherche s'inscrit dans le domaine de l'épidémiologie moléculaire pathologique qui est un champ de recherche émergeant et couteux en termes de temps et de financement (6). Il présente l'avantage d'améliorer notre compréhension du mode d'action des aliments sur les gènes impliqués dans le processus carcinogène. Une telle contribution serait d'une grande aide pour l'instauration des stratégies de prévention et de traitement efficaces.

Les données nationales sur la consommation des graisses alimentaires ainsi que les données moléculaires concernant le gène *KRAS* sont très rares et émanent souvent d'un contexte local. De plus, l'association entre l'apport quotidien en lipides et les mutations *KRAS* n'a jamais était décrite à ce jour en Afrique, et seules quelques études mondiales, ont pu explorer une telle hypothèse (7). Ainsi, l'objectif principal de la présente thèse est, d'explorer l'association possible entre la consommation des graisses en considérant leurs principaux sous-groupes (PUFA, MUFA et SFA) et les mutations activatrices *KRAS* dans le cadre du cancer colorectal au Maroc.

# Chapitre 1 - Revue de la littérature

# I- Cancérogenèse colorectale

## 1- Structure et fonction du gros intestin

### 1-1 Anatomie du gros intestin

Avec un diamètre de 6,5 cm et une longueur de 1,5 m, le gros intestin est le dernier segment du tube digestif constitué de 3 parties : le cæcum, le côlon (ascendant, transverse, descendant et sigmoïde) et le rectum qui débouche sur le canal anal (8) **(Figure 1)**.

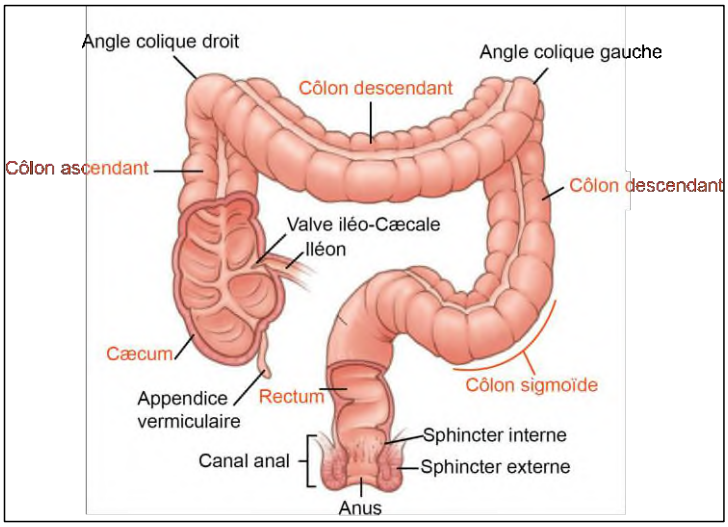



**Figure 1 Anatomie du gros intestin.**
**Source :** Rizzo DC. Fundamentals of Anatomy and Physiology. 4th edition. Boston, MA: Cengage Learning; 2015. 576 p. **Adaptée**

### 1-2 Histologie du gros intestin

A l'instar de l'ensemble du tube digestif, le gros intestin est formé de 4 enveloppes : une muqueuse, une sous-muqueuse, une musculeuse et une séreuse (9) **(Figure 2)**.
La muqueuse colique est composée d'un épithélium glandulaire reposant sur une lame basale qui surmonte un tissu conjonctif appelé chorion, lequel est sus-jacent par rapport à une fine couche musculaire (la musculaire muqueuse). L'épithélium forme des glandes tubuleuses droites serrées, appelées cryptes de Lieberkühn qui hébergent différents types cellulaires **(Figure 3)** :

- **Cellules caliciformes** (= cellules à mucus = cellules de gobelet) : sécrètent un mucus essentiel à la lubrification du chyme et à la protection de la paroi intestinale.
- **Entérocytes** (= colonocytes ou cellules absorbantes) : interviennent dans l'absorption de l'eau et des sels, ainsi que certaines substances non digérées au niveau de l'intestin grêle.
- **Cellules entéroendocrines :** produisent des peptides et des hormones gastro-intestinales (la sérotonine, la substance P et la sécrétine) en réponse à divers stimuli afin d'engendrer un effet physiologique systémique ou local.
- **Cellules souches (germinales) :** peu nombreuses et multipotentes, elles se retrouvent principalement au fond des cryptes, et sont responsables du renouvellement cellulaire en produisant des cellules filles dites, cellules de transit, capables de se diviser, et de se différencier en différents types cellulaires. Le maintien de cette homéostasie tissulaire requiert des mécanismes de contrôle précis et repose sur un équilibre dynamique entre différents processus (prolifération, différenciation et apoptose) qui guident les cellules vers leur « destin » (10).

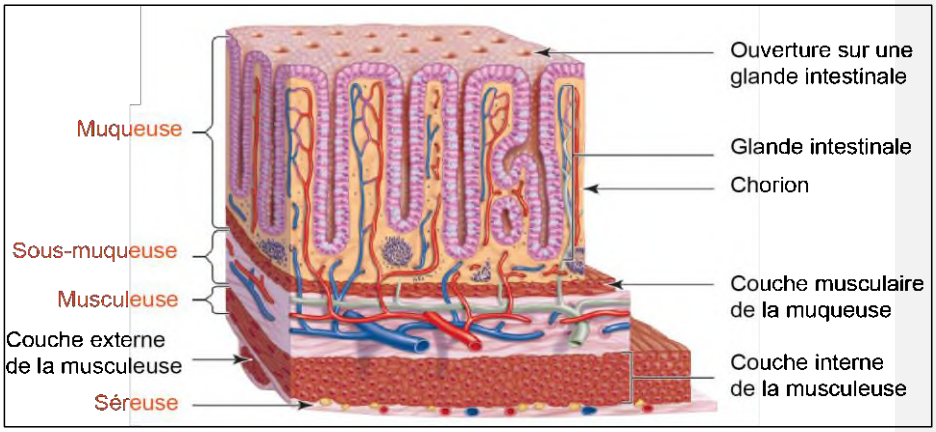



**Figure 2 Tuniques de la paroi colique.**

Source : Mescher A. Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, Fifteenth Edition. 15th edition. Wrocław: McGraw-Hill Education / Medical; 2018. 576 p. **Adaptée**

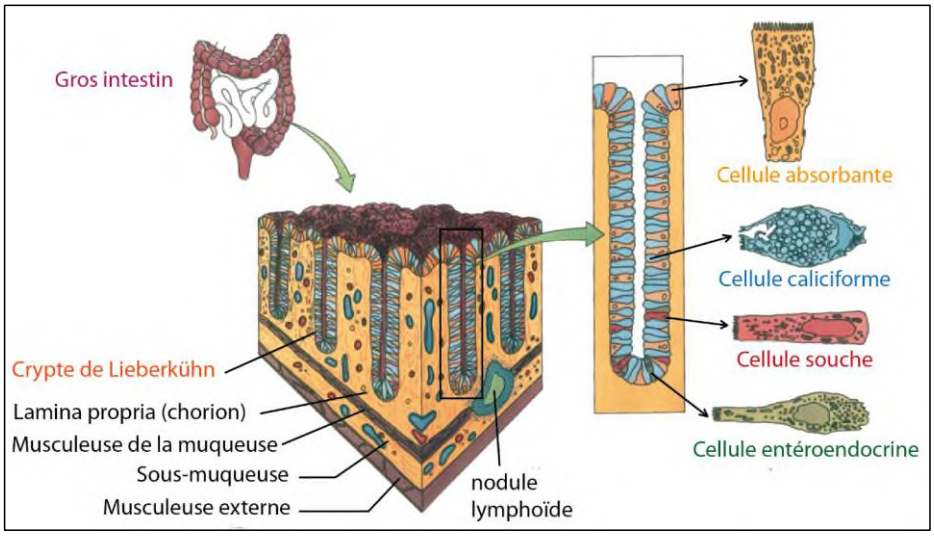



**Figure 3 Types cellulaires des cryptes de Lieberkühn.**

La muqueuse du rectum est histologiquement similaire à celle du côlon, avec une abondance des cellules à mucus.

### 1-3 Fonction du gros intestin

Le gros intestin est doté de 3 fonctions principales : sécrétion, absorption et motilité.

- **Sécrétion :** les sécrétions du gros intestin sont rares, manquent d'enzymes digestives et se composent principalement de mucus et de liquide contenant du $HCO_3^-$ et du $K^+$ (11).
- **Absorption :** le principal processus d'absorption concerne le transport actif de $Na^+$ de la lumière vers le fluide extracellulaire, accompagné par l'absorption osmotique de l'eau et du $cl^-$. Le gros intestin absorbe également une partie des produits formés par les bactéries colonisant cette région (acides gras à chaîne courte, petites quantités de vitamines, en particulier de la vitamine K) (11).
- **Motilité et défécation :** les contractions du muscle lisse circulaire dans le gros intestin produisent un mouvement de segmentation (une toutes les 30 min). Il s'en suit une lente propulsion du contenu dans le gros intestin, optimisant la fonction bactérienne. Après un repas, une vague de contraction intense appelée mouvement de masse se propage rapidement sur le colon transverse vers le rectum. La distension soudaine des parois du rectum produite par le mouvement de masse initie le réflexe de défécation (11).

## 2- Aspects histologiques des CCRs

### 2-1 Séquence adénome → carcinome

Les cancers colorectaux sont caractérisés par le développement de tumeurs malignes au dépend des cellules glandulaires de la muqueuse colique ou rectale (96% des cas). Ce sont des cancers glandulaires dits, adénocarcinomes. Dans le modèle de formation du CCR « classique », la majorité des tumeurs se développent à partir de polypes adénomateux préexistants via un processus multiphasique impliquant une série de changements histologiques, génétiques et épigénétiques qui s'accumulent au cours du temps.

Le polype est une tumeur bénigne qui peut évoluer progressivement vers une tumeur maligne (~5% des polypes) en suivant la séquence dite, adénome → carcinome **(Figure 4 et 5).**

- D'abord, une partie de l'épithélium devient hyperplasique : le nombre de cellules augmente sans modification de l'architecture globale de la crypte et sans altération de la morphologie cellulaire.
- Puis, l'épithélium glandulaire devient dysplasique : les cellules acquièrent une activité mitotique accrue et des modifications cytologiques importantes touchant surtout la forme et la taille des noyaux.
- L'épithélium continue sa multiplication pour aboutir à la formation d'une masse tumorale bénigne qui n'infiltre pas la limite de la lame basale séparant l'épithélium du chorion. Cette masse cellulaire est appelée adénome (= polype ou polype adénomateux).
- La tumeur peut traverser la membrane basale pour envahir les tissus avoisinants, l'adénome s'est transformé alors en adénocarcinome (12).

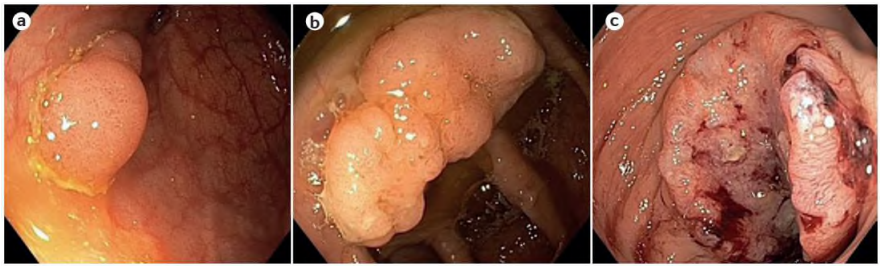



**Figure 4 Evolution d'un polype en tumeur maligne.**
Source : Kuipers EJ, Grady WM, Lieberman D, Seufferlein T, Sung JJ, Boelens PG, et al. COLORECTAL CANCER. Nat Rev Dis Primer. 5 nov 2015 ;1 :15065.

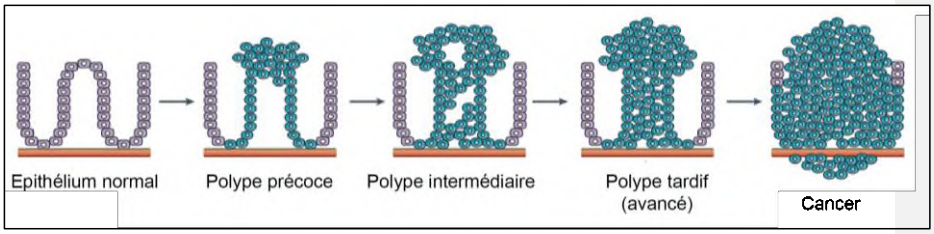



**Figure 5 La séquence adénome → carcinome.**
**Source :** Kuipers EJ, Grady WM, Lieberman D, Seufferlein T, Sung JJ, Boelens PG, et al. COLORECTAL CANCER. Nat Rev Dis Primer. 5 nov 2015;1:15065**. Modifiée**

- Dans les cas très évolués, la tumeur finit par former des métastases (carcinome invasif) qui colonisent d'autres organes : le foie, les poumons et le péritoine principalement.

La voie des tumeurs festonnées a récemment été identifiée comme une voie distincte et alternative à celle de la séquence classique adénome-carcinome. Des données attestent que la progression des tumeurs dans le cadre de cette voie est plus rapide que dans la séquence habituelle adénome-carcinome.

Les facteurs pronostiques comme le degré d'envahissement tumoral transpariétal et ganglionnaire et la présence ou non de métastases ont été intégrés dans des classifications du CCR, dont la classification TNM qui représente le système de stadification le plus fréquemment employé pour décrire l'étendue du cancer.

## 2-2 La classification TNM et la stadification des CCRs

La classification TNM est un système international de classement des cancers selon leur extension anatomique. Plusieurs révisions ont été publiées, la dernière étant la huitième édition de l'Union Internationale Contre le Cancer (UICC) adoptée en 2017 (14) **(Tableau 1)**.

La lettre **T (Tumeur)** suivie d'un chiffre allant de 0 à 4 se réfère à la profondeur atteinte par la tumeur. Par exemple, les tumeurs classifiées T4 sont les plus grosses et sont étendues aux tissus adjacents.

La lettre **N (ganglion ou Node en anglais)** suivie d'un chiffre allant de 0 à 3 indique si le cancer s'est étendu aux ganglions lymphatiques situés près du colon.

La lettre **M (Métastase)** suivie d'un 0 ou d'un 1 indique si le cancer s'est étendu ou non à des organes distants (s'il a métastasé par exemple dans les poumons ou dans les os) ou aux ganglions lymphatiques qui ne sont pas près du côlon.

**Tableau 1 Classification TNM adoptée en 2017 par l'UICC (14)**

| TUMEUR = T | GANGLIONS = N (*Node*) | MÉTASTASES = M |
|---|---|---|
| **T0 :** tumeur non démontrable cliniquement<br>**Tis :** carcinome intra-épithélial ou intra-muqueux (cancer in situ).<br>**T1 :** envahissant la sous-muqueuse.<br>**T2 :** envahissant la musculeuse.<br>**T3 :** envahissant la sous-séreuse.<br>**T4 :** pénétrant le péritoine viscéral et/ou envahissant au moins une structure/organe de voisinage.<br>**T4a :** pénétration du péritoine viscéral.<br>**T4b :** envahissement d'une structure de voisinage. | **N0 :** pas de métastase ganglionnaire régionale.<br>**N1 :** 1 à 3 ganglions lymphatiques régionaux.<br>**N1a :** 1 ganglion régional.<br>**N1b :** 2-3 ganglions régionaux.<br>**N1c :** dépôts tumoraux « satellites » dans la sous-séreuse, ou dans le tissu péri-colique ou péri-rectal non péritonisé, en l'absence de ganglion métastatique.<br>**N2 :** ≥ 4 ganglions lymphatiques régionaux.<br>**N2a :** 4-6 ganglions lymphatiques régionaux.<br>**N2b :** ≥ 7 ganglions lymphatiques régionaux. | **M0 :** pas de métastases à distance.<br>**M1a :** métastase localisée à un seul organe (foie, poumon, ovaire, ganglion(s) lymphatique(s), autre que régional.<br>**M1b :** métastases dans plusieurs organes ou péritonéales. |

Les caractéristiques TNM attribuées au cancer, peuvent être regroupées en 5 stades. Chaque stade est désigné par un chiffre romain allant de I à IV, le stade 0 correspond aux cancers *in situ* **(Figure 6)**. Le système de stadification TNM dont l'estimation pronostique est meilleure se base sur l'examen microscopique de la pièce opératoire ou de la biopsie, il est dit pTNM **(Tableau 2).**

**Tableau 2 Stadification du cancer colorectal selon la classification TNM, 2017 (15)**

| Stade | Tumeur pT | Ganglions N | Métastases M |
|---|---|---|---|
| **0** | pTis | N0 | M0 |
| **I** | pT1-2 | | |
| **IIA** | pT3 | | |
| **IIB** | pT4a | | |
| **IIC** | pT4b | | |
| **IIIA** | pT1-T2 et pT1 | N1/N1c - N2a | |
| **IIIB** | pT3-T4a, pT2-T3, pT1-T2 | N1/N1c - N2a -N2b | |
| **IIIC** | pT4a ; p T3-T4a; pT4b | N2a - N2b - N1 -N2 | |
| **IVA** | Tout T | Tout N | M1a |
| **IVB** | | | M1b |
| **IVC** | | | M1c |

Le processus carcinogène est multiphasique et prend habituellement 10 à 15 ans pour se mettre en place, mais dans certains contextes, il peut progresser rapidement (notamment chez les patients atteints du syndrome de Lynch) (13).

L'« homogénéité » histologique de la séquence adénome → carcinome, cache une diversité génétique étonnante qui rend le comportement et le devenir des polypes très complexe, et explique pourquoi certains adénomes (10%) évoluent vers un CCR alors que la majorité (90%) échoue (13).

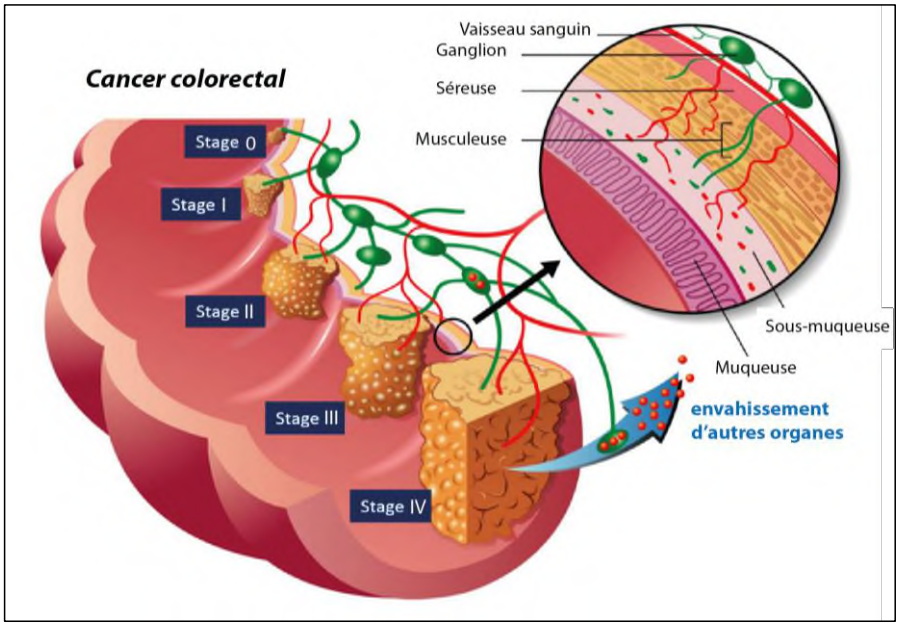



**Figure 6 Stades du cancer colorectal suivant le degré d'invasion de la paroi intestinale.**

**Source:** Wheatley J, University M. Biomarker discovery offers clearer prognosis for bowel and rectal cancer patients. **Modifiée**

## 3- Aspects moléculaires : altérations génétiques caractéristiques des CCRs

Les adénocarcinomes colorectaux résultent de l'accumulation séquentielle d'altérations génétiques et épigénétiques pouvant toucher tous les types cellulaires qui composent l'épithélium glandulaire de la muqueuse. Cependant, le paradigme dominant veut qu'une cellule souche résidant à la base des cryptes, soit le sujet de ces modifications et par conséquent le point de départ et le moteur déclencheur de l'initiation et du maintien de la tumeur (16). Ces altérations se manifestent généralement par une instabilité génomique et épigénomique, ainsi que par l'accumulation de mutations ponctuelles qui aboutissent à l'activation des oncogènes et l'inactivation des gènes suppresseurs de tumeurs, apportant de ce fait aux cellules affectées un avantage de prolifération et de survie supérieur aux cellules normales, voire même un potentiel d'immortalité (17).

## 3-1 L'instabilité génomique et épigénomique

Cette instabilité fait intervenir trois voies majeures pouvant rarement coexister dans une même tumeur, à savoir : l'instabilité chromosomique (CIN), l'instabilité microsatellitaire (MSI) et le phénotype hyperméthylé des îlots CpG.

### 3-1-1 L'instabilité chromosomique (CIN)

C'est la forme la plus courante d'instabilité génomique que l'on retrouve dans 85 % des CCR(18). Elle est marquée par des aberrations chromosomiques touchant le nombre ou la structure des chromosomes, accompagnée d'une fréquente perte d'hétérozygotie (Loss of Heterozygosity ou LOH). Les pertes alléliques affectant les chromosomes 2, 5, 8, 17, 18 et 22 sont associées à des mutations fréquentes au niveau des gènes suppresseurs de tumeurs et des oncogènes (*TP53, APC, KRAS, BRAF, DCC*, etc.) **(Tableau 3).**

### 3-1-2 L'instabilité microsatellitaire (MSI)

Ce type d'instabilité concerne 15% des CCR (12% sont associés aux CCRs sporadiques et 3% concernent le syndrome de Lynch). Il résulte de l'inactivation fonctionnelle du système de réparation des erreurs produites au cours de la réplication de l'ADN (système MMR, mismatch repair), ce qui se traduit par un nombre important de mutations (insertions/délétions mono ou dinucléotidiques) touchant les séquences des microsatellites (petites séquences d'ADN dispersées dans 3% du génome impliquant la répétition continue de 1 à 6 nucléotides) (19).

L'inactivation du système MMR conduit à un phénotype mutateur caractérisé par des mutations des gènes *hMSH2, hMHL1, hMSH6, PMS1, PMS2*. **Le tableau 3** résume les principales différences entre les voies CIN et MSI.

**Tableau 3 Caractéristiques de la carcinogenèse CIN et MSI.**

| CIN+ | MSI+ |
|---|---|
| Aneuploïdie | Polyploïdie |
| Pertes alléliques 18q,17p,5q 8p, 22q | Absence de perte allélique |
| Mutation fréquente de *TP53* et *APC* | Mutation rare de *TP53* et *APC* |
| Système de réparation des mésappariements fonctionnels | Système de réparation des mésappariements déficients. Altération des gènes *hMSH2, hMLH1, hMSH6, hMSH3* |
| Mutation fréquente de ***KRAS*** et *PIK3CA* | Mutation fréquente de *BRAF* et *PIK3CA* |
| Côlon distal | Côlon proximal |
| Instabilité chromosomique | Instabilité microsatellitaire |

### 3-1-3 Le phénotype hyperméthylé des îlots CpG (CIMP)

Le phénotype de méthylation des îlots CpG (CIMP) fait référence à l'hyperméthylation généralisée des îlots CpG à plusieurs loci entrainant leur inactivation transcriptionnelle. C'est le cas des gènes : *CDKN2A*, *BRAF* par exemple (20). Cette altération épigénétique peut conduire au phénotype MSI si la méthylation affecte le promoteur du gène *mlh1*.

## 3-2 Les mutations ponctuelles

L'étude moléculaire des tumeurs coliques, montre que les mutations ponctuelles forment un panel d'environ 80 mutations. L'ensemble de ces mutations crée un paysage de gènes très souvent mutés « montagnes » et un très grand nombre de gènes plus rarement mutés «collines»(21). Certaines mutations sont donc communes à la majorité des CCRs bien que chaque tumeur porte une mosaïque presque unique d'altérations génétiques. Autrement dit, on peut classer ces mutations, en mutations « **conductrices** » qui offrent à la cellule touchée un avantage sélectif de croissance, et des mutations « **passagères** » dont l'effet est négligeable (22) **(Figure 7).**

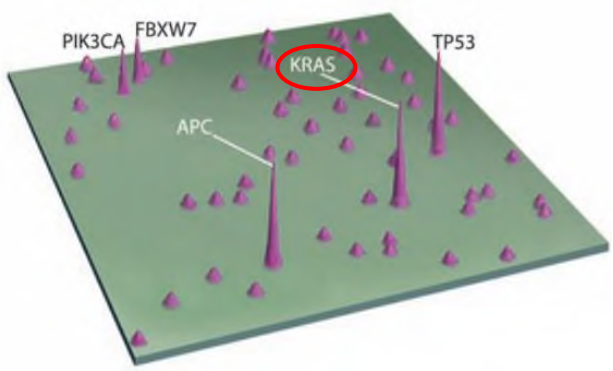



**Figure 7 Profil mutationnel génomique du cancer colorectal.**
**Source** : Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, Zhou S, Diaz LA, Kinzler KW. Cancer genome landscapes. Science. 29 mars 2013 ;339(6127) :1546-58.

Généralement ce sont des gènes dit proto-oncogènes et des gènes suppresseurs de tumeurs qui sont touchés par ces mutations conductrices. Les oncogènes commandent la synthèse d'oncoprotéines stimulant la division cellulaire ou inhibant la mort cellulaire programmée (apoptose), ce qui déclenche une prolifération désordonnée des cellules. Dans ce modèle, les mutations *KRAS* figurent parmi les mutations conductrices les plus importantes du CCR.

Les gènes suppresseurs des tumeurs appelés aussi anti-oncogènes ont pour fonction d'empêcher l'emballement de la division cellulaire. Ils ont tendance à ralentir la prolifération cellulaire en déclenchant la mort programmée des cellules, ou en ralentissant leur cycle cellulaire.

L'acquisition d'altérations génétiques et épigénétiques est généralement séquentielle. Elle aboutit à l'activation des oncogènes et l'inactivation des gènes suppresseurs des tumeurs, et prend des années voire des décennies pour s'installer et échapper aux multiples mécanismes de défense cellulaire **(Figure 8).**

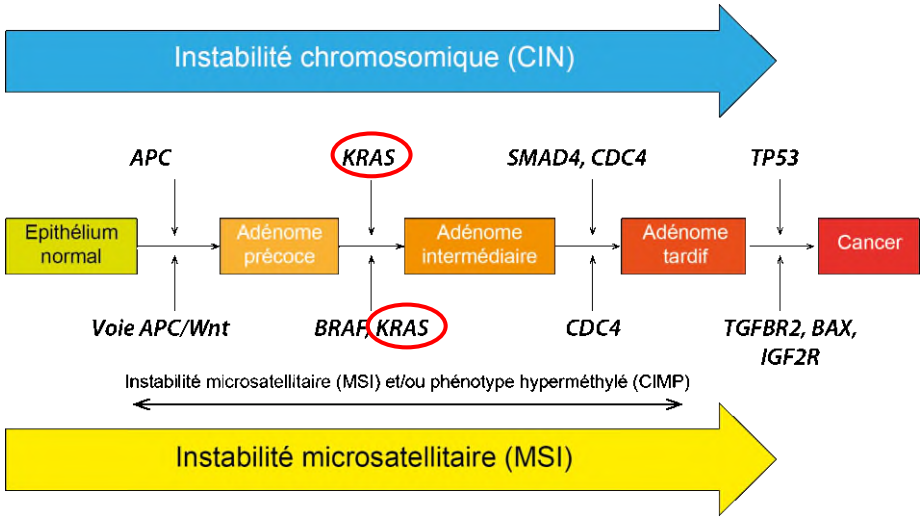



**Figure 8 Séquence adénome → carcinome de point de vue moléculaire.**
**Source:** Nguyen HT, Duong H-Q. The molecular characteristics of colorectal cancer: Implications for diagnosis and therapy (Review). Oncol Lett. 1 juill 2018;16(1):9-18. **Adaptée**

On constate que dans cette séquence : adénome→ carcinome, les mutations *KRAS* interviennent précocement dans le processus carcinogène, notamment dans la phase d'initiation et de promotion du CCR.

Les mutations ponctuelles ne peuvent agir seules, elles s'engagent dans différentes voies de signalisation cellulaire qui se chevauchent souvent, et qui régulent généralement des processus cellulaires diverses associées intimement à la transformation des cellules normales en cellules cancéreuses, tels que, survie, multiplication, apoptose, adhésion, différenciation, angiogenèse(24). Les voies les plus étudiées sont la voie Ras/EGFR/MAPK ; la voie Notch ; la voie PI3K ; la voie TGF-β ; et la voie Wnt **(Tableau 4).**

**Tableau 4 Principaux gènes et voies de signalisation impliqués dans le CCR. (25,26)**

| | Gènes | Voies de signalisation | Fonction cellulaires principales associées |
|---|---|---|---|
| **Oncogènes** | ***KRAS*** | **RAS** | **Prolifération, survie, différentiation, apoptose** |
| | ***HRAS*** | | |
| | ***BRAF*** | | |
| | **Igf2** | PI3K | Prolifération, apoptose, angiogenèse |
| | **Pik3ca** | | |
| | **Ccnel** | Wnt | Prolifération, motilité cellulaire |
| | **Adk8** | | |
| | **Cmyc** | | |
| | **Ctnnb1** | | |
| | **Egfr** | PI3K ; RAS | Prolifération, survie, différentiation, apoptose, angiogenèse. |
| | **Erbb2** | | |
| | **Kit** | | |
| | **Pdgfr** | | |
| **Gènes suppresseurs de tumeurs** | **Apc** | Wnt | Prolifération, motilité cellulaire |
| | **Fbxw7** | | |
| | **TCF3** | | |
| | **TCF4** | | |
| | **Vhl** | RAS ; PI3K | Prolifération, survie, différentiation, apoptose, angiogenèse. |
| | **Smad2** | TGF-β | Survie, invasion, différentiation, apoptose. |
| | **Smad3** | | |
| | **Smad4** | | |
| | **Tgfbr2** | | |
| | **Egfr** | PI3K ; RAS | Prolifération, survie, différentiation, apoptose, angiogenèse. |
| | **Erbb2** | | |
| | **Kit** | | |
| | **Pdgfr** | | |
| | **mlh1** | | Contrôle des dommages à l'ADN |
| | **Tp53** | | |
| | **msh2** | | |

### 3-3 Classification moléculaire des CCRs

Diverses classifications ont été proposées en vue de se rendre compte de l'hétérogénéité des CCRs, tout en incluant les marqueurs pronostiques et prédictifs utiles pour une bonne prise en charge des patients CCR.

La classification moléculaire dite CMS (Consensus Molecular Système) vise à regrouper sous une même étiquette les profils moléculaires similaires. Ainsi, les chercheurs ont adopté cinq groupes dont quatre sont parfaitement individualisés et un groupe dit inclassable (27) **(Tableau 5).**

Commenté [KE3]: Avant l'abréviation, tu mets le terme au complet

**Tableau 5 Classification moléculaire CMS des cancers colorectaux (27)**

| Groupe (prévalence) | Quelques caractéristiques | Survie |
|---|---|---|
| **CMS1 (13 %)** | MSI, hypermuté, BRAF muté, activation immunitaire, Prédominance féminine, âge élevé, côlon droit. | Meilleure SSR, SG intermédiaire, mauvaise SAR |
| **CMS2 (35 %)** | MSS, CIN, TP53 muté, côlon gauche, EGFR surexprimé/amplifié, activation voie Wnt/MYC | SSR intermédiaire Meilleures SG et SAR |
| **CMS3 (11 %)** | Épithélial, MSI/CIN, ***KRAS* muté**, MYC amplifié, IGFBP2 surexprimé | SSR, SG et SAR intermédiaires |
| **CMS4 (20 %)** | Jeune âge, stades III/IV, ~~CIN/~~MSI, TGFβ/VEGF activés, NOTCH3 surexprimé | Mauvaises SSR et SG SAR intermédiaire |
| **Inclassable (21%)** | Groupe hétérogène | SSR, SG et SAR intermédiaires |

SAR : Survie avec récidive, SSR : Survie sans récidive, SG : Survie Globale.

## 4- L'importance de la voie de signalisation RAS

La protéine RAS contrôle une grande variété de processus cellulaires, y compris la prolifération, la différenciation, l'apoptose et les réponses au stress (28). Cette protéine opère dans deux voies de signalisation cellulaires à savoir, la voie MAPK et la voie PI3K.

### 4-1 Les gènes RAS

Les gènes *RAS* ont été identifiés initialement comme des gènes viraux transduits à partir du génome de rongeurs, et responsables des propriétés hautement oncogènes des virus tumoraux. Alimentés par la fréquence élevée des mutations *RAS* dans un large éventail de cancers humains les plus mortels (cancer du poumon, du côlon et du pancréas), les chercheurs ont mené une

recherche intensive en vue de développer un traitement « anti- Ras ». Hélas, cet objectif reste jusqu'à ce jour insaisissable.

### 4-1-1 Découverte

L'identification du gène *RAS* a émergé au cours de l'étude approfondie des rétrovirus isolés de souris, de rats, de chats, de singes, de poulets et de dindes. Ces virus oncogènes provoquent la formation rapide de sarcomes chez les animaux infectés et transforment puissamment les cellules en culture. Les découvertes du virus du sarcome murin Harvey potentiellement oncogène en 1964, et du virus du sarcome murin Kirsten en 1967, ont fourni les premiers aperçus d'éléments génétiques oncogènes qui seulement plusieurs années plus tard ont été établis comme comprenant respectivement les oncogènes humains *HRAS* et *KRAS.* Plus tard, leur capacité à provoquer des sarcomes de rat est devenue la base de leurs noms actuels, et les noms de leurs découvreurs sont devenus la base pour les distinguer les uns des autres : les gènes ras viraux de Harvey et Kirsten, ou *HRAS* et *KRAS* (29). Par la suite le gène *NRAS* a été isolé à partir d'une lignée cellulaire de neuroblastome humain.

### 4-1-2 Pouvoir oncogène des gènes *RAS*

Il a été démontré que les trois gènes *RAS* subissent une activation mutationnelle dans environ 25 % de tous les cancers. Néanmoins, la fréquence des mutations faux-sens *RAS* n'est pas homogène entre les types de cancer. En effet, les mutations *KRAS* constituant 85 % de toutes les mutations *RAS* dans le cancer, suivi par *NRAS* (12 %) et, de façon irrégulière, *HRAS* (3 %) (30) **(Figure 9).**

Le gène *KRAS* s'avère donc le plus oncogénique des trois frères de la famille *RAS.* Il est impliqué, lorsqu'il est muté, dans 41% des cancers colorectaux (31).

Il est à noter aussi que ces mutations sont hétérogènes et leur fréquence varie considérablement selon l'emplacement de la tumeur. Les mutations étant plus fréquentes dans les cancers du côlon droit que dans les tumeurs du colon gauche (31).

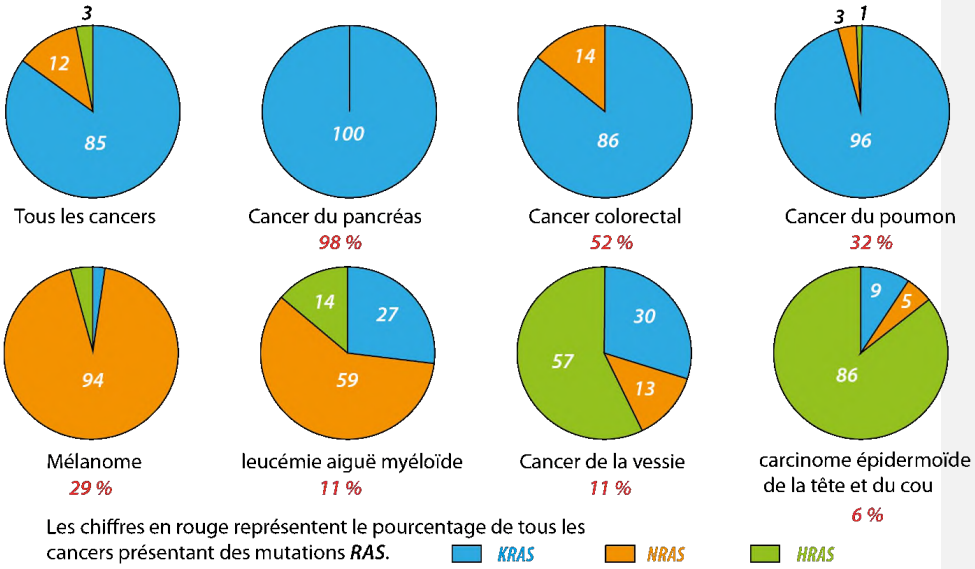



**Figure 9 Fréquences des mutations RAS faux sens dans différents types de cancers.**

**Source:** An Overview of RAS Oncoproteins [Internet]. News-Medical.net. 2019 Disponible sur: https://www.news-medical.net/whitepaper/20190917/An-Overview-of-RAS-Oncoproteins.aspx **Modifié**

### 4-1-3 Structure du gène *KRAS*

Le gène *KRAS* connu aussi sous les noms, Ki-Ras, c-K-ras et c-Ki-ras, existe en deux copies dans le génome humain, appelées *KRAS1* et *KRAS2* localisées respectivement sur les chromosomes 6 et 12. Le gène *KRAS1* étant un pseudogène dérivé du gène *KRAS2*. Ce dernier est situé sur la région 12p12.1 et mesure 45 683 paires de bases (de 25205246 à 25250929 pb) (*KRAS (Kirsten rat sarcoma 2 viral oncogene homolog)*.

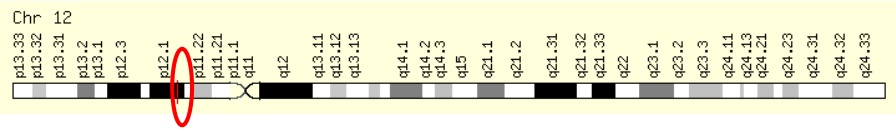



**Figure 10 Position du gène KRAS sur le chromosome 12.**

**Source:** KRAS Gene - KRAS Proto-Oncogene, GTPase. 2019 Disponible sur : https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=KRAS

Le séquençage a montré que le gène *KRAS* possède six exons dont les exons 2, 3 et 4 sont codants et invariants **(Figure 11).** L'épissage alternatif de l'exon 4 produit deux formes d'ARNm, appelées 4A et 4B. L'exon 5 peut être exclus lors de l'épissage alternatif, donnant

naissance aux isoformes *KRAS-4A* et *KRAS-4B*. Le 6ème exon code pour la région C-terminale dans *KRASB* et n'est pas traduit (la région 3'non traduite, 3'UTR) dans *KRASA*. L'isoforme *KRASB* est la variante d'épissage prédominante présente avec un pourcentage de 98%. La protéine *KRAS* désigne donc brièvement *KRAS-4B* **(Figure 12)** (33).

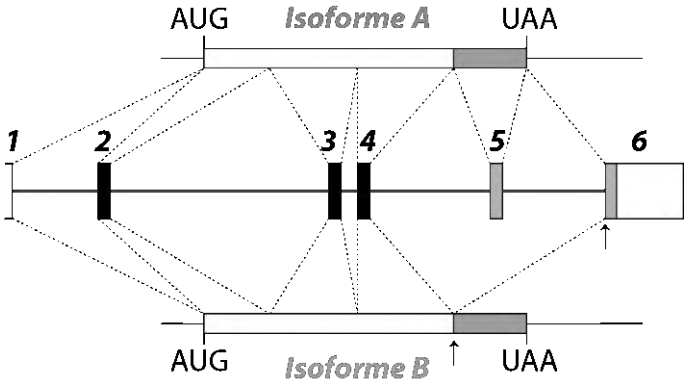



**Figure 11 Organisation du gène *KRAS* et de ses transcrits (isoformes A et B).**
**Source :** Carta C, Pantaleoni F, Bocchinfuso G, Stella L, Vasta I, Sarkozy A, et al. Germline Missense Mutations Affecting KRAS Isoform B Are Associated with a Severe Noonan Syndrome Phenotype. Am J Hum Genet. juill 2006;79(1):129-35. **Adaptée**

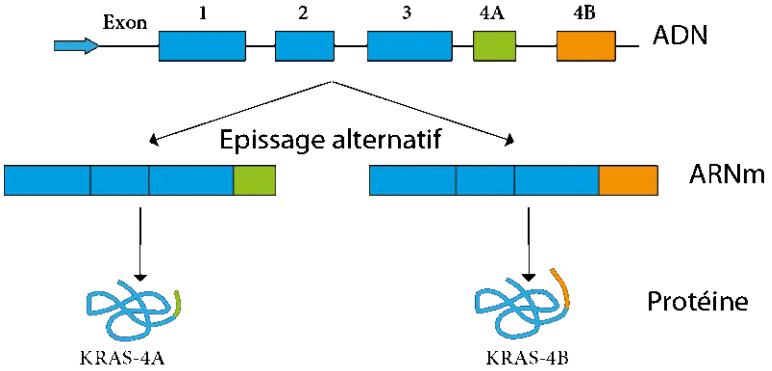



**Figure 12 Epissage alternatif et production de la protéine *KRAS-4B*.**
**Source:** Center for Biomedical Discovery - Active Grants — Cancer and Cell Aging Platform. Mayo Clinic. Disponible sur : https://www.mayo.edu/research/centers-programs/center-biomedical-discovery/platforms/cancer-cell-aging/grants

## 4-2 Les protéines RAS

### 4-2-1 Structure et fonction des protéines RAS

Scolnick et ses collègues ont réalisé une vaste série d'études pionnières qui ont mis la lumière sur quelques propriétés des protéines RAS, à savoir : Protéines monomériques de 21 kDa ; capables de se lier au GDP et au GTP ; associées à la membrane plasmique ; capables de transformer les cellules si elles sont surexprimées ; la clé de leur pouvoir transformant est leur liaison préférentielle au GTP **(Figure 13).**

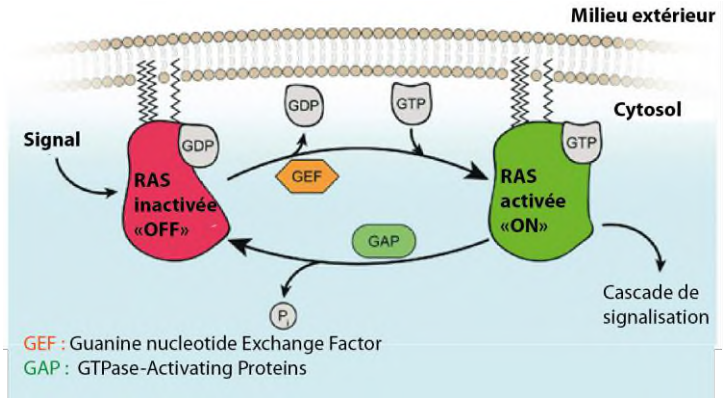



**Figure 13 Activité GTPasique de la protéine *RAS***

**Source:** Schöneborn H, Raudzus F, Coppey M, Neumann S, Heumann R. Perspectives of RAS and RHEB GTPase signaling pathways in regenerating brain neurons. Int J Mol Sci. 14 déc 2018;19:4052. **Modifié**

Le gène *KRAS* code pour deux protéines composées de 188 à 189 qui partagent une identité globale de 82 à 90 % de la séquence globale. Les résidus 1 à 164 comprennent le domaine G qui contient six motifs de séquences conservées partagées entre les protéines de la superfamille RAS du fait de leur fonction régulatrice leur permettant entre autres la liaison de la base guanine du GDP et du GTP.

Les résidus dans Switch I (aa 30 à 38) et II (aa 60 à76) changent de conformation au cours du cycle GDP/GTP. Le domaine central effecteur E (aa 32 à 40) et les séquences flanquantes sont impliqués dans la spécificité de liaison effectrice **(Figure 14).**

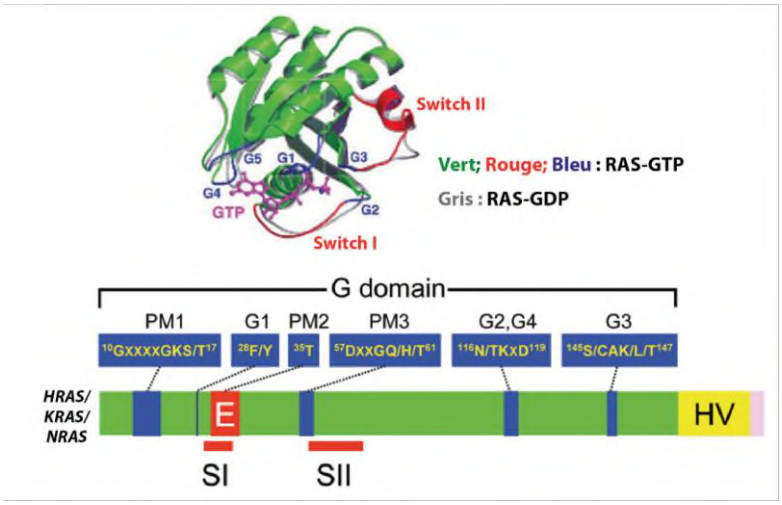



**Figure 14 Structure des protéines RAS.**
**Source:** Cox AD, Der CJ. Ras history. Small GTPases. 2010;1(1):2-27. **Modifiée**

### 4-2-2 Les mutations activatrices *KRAS*

Trois points chauds de mutation sont particulièrement caractérisés par une haute fréquence mutationnelle, à savoir : les codons 12, 13 et 61 (G12, G13 et Q61). À cet égard, le gène *KRAS* diffère de *NRAS* et *HRAS*, car c'est la seule isoforme *RAS* où les mutations en position 12 sont prédominantes (35) **(Figure 15 et 16)**.

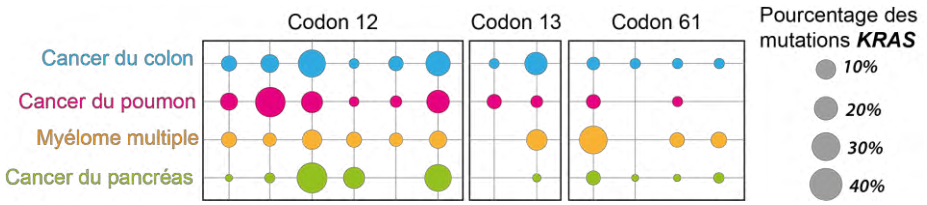



**Figure 15 Distribution des fréquences KRAS au niveau des trois points chauds (codons 12, 13 et 61) dans certains types de cancer. (adapté)**
**Source :** Cook JH, Melloni GEM, Gulhan DC, Park PJ, Haigis KM. The origins and genetic interactions of KRAS mutations are allele- and tissue-specific. Nat Commun. 22 mars 2021;12(1):1808.

Les protéines *RAS* mutées sont constitutivement actives (conformation RAS-GTP), contrairement aux protéines *RAS* de type sauvage qui sont désactivées après une courte période **(Figure 16 et 17).** Cette hyperactivité interfère avec différents effecteurs intracellulaires pour

conduire à une croissance, une prolifération et une différenciation cellulaires anormales. La principale voie de signalisation sollicitant les protéines RAS fait intervenir le récepteur des facteurs de croissance dit EGFR (37).

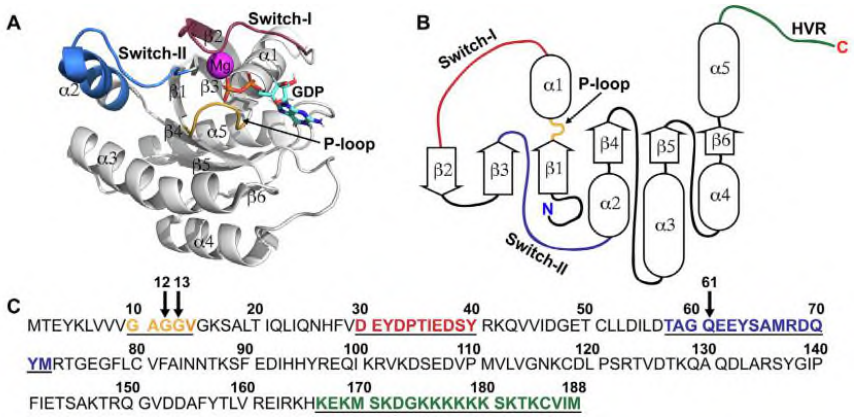



**Figure 16 Séquence de la protéine KRAS4B avec l'emplacement des mutations les plus fréquentes.**

**Source:** Cox AD, Der CJ. Ras history. Small GTPases. 2010;1(1):2-27.

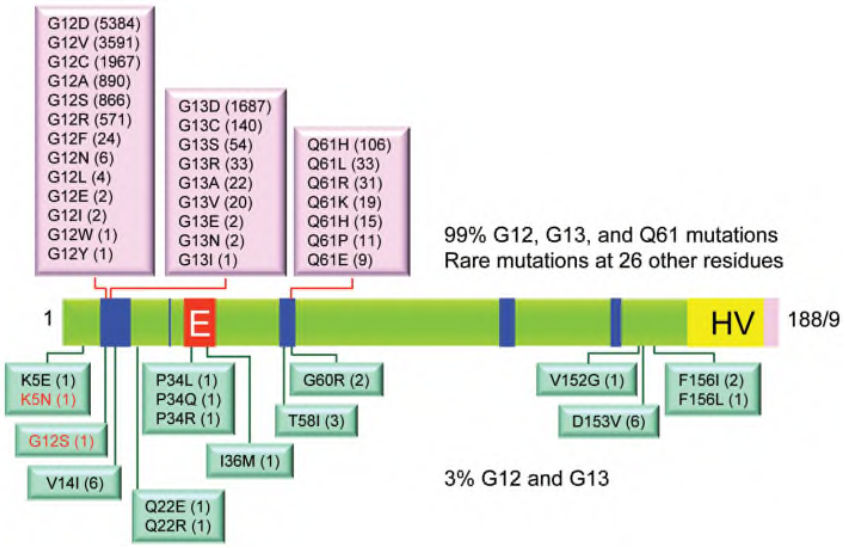



**Figure 17 Spectre mutationnel KRAS pour un total de 15.594 mutations.**

**Source :** Cox AD, Der CJ. Ras history. Small GTPases. 2010;1(1):2-27. **Modifiée**

## 4-3 La voie de signalisation RAS/MAPK

### 4-3-1 Activation normale

La voie RAS/MAPK (Mitogen Activated Protein Kinase) est activée principalement par le biais du récepteur membranaire EGFR, lui-même stimulé par un facteur de croissance, une hormone ou une cytokine entrainant son autophosphorylation par son activité enzymatique dite « activité tyrosine-kinase ». Il en suit une cascade de phosphorylations de nombreuses protéines finissant par l'activation des facteurs de transcription agissant positivement sur la transcription de gènes impliqués dans la prolifération cellulaire. L'activation normale de cette voie se déroule selon les étapes suivantes **(Figure 18) :**

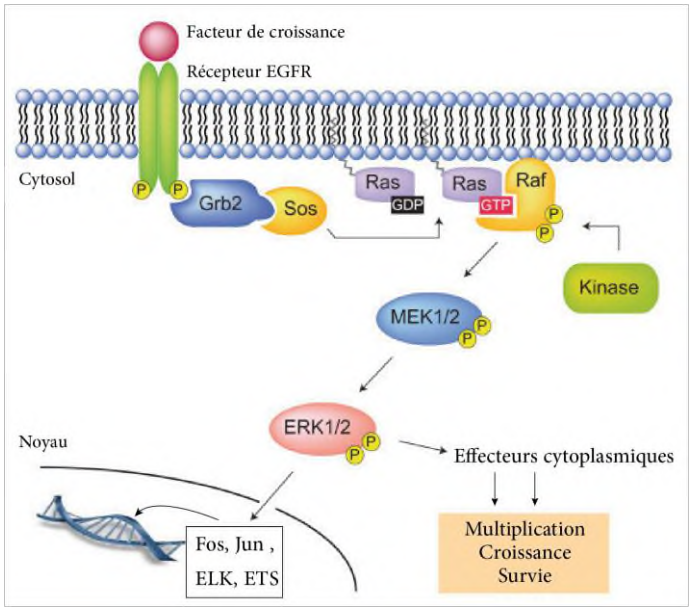



**Figure 18 La voie de signalisation RAS/MAPK.**

**Source:** Frémin C, Meloche S. Fremin C, Meloche SFrom basic research to clinical development of MEK1/2 inhibitors for cancer therapy. J Hematol Oncol 3: 8. J Hematol OncolJ Hematol Oncol. 1 févr 2010;3:8.

- **Activation du récepteur EGFR ou HER1 (Human EGF Receptor) :** L'EGFR est une glycoprotéine transmembranaire appartenant à la famille HER. Il est composé d'un domaine extracellulaire assurant la fixation du ligand, d'un domaine transmembranaire et d'un domaine effecteur tyrosine-kinase intracellulaire. Les ligands de l'EGFR sont principalement des facteurs de croissance, que sont l'EGF et le TGFα (Transforming Growth Factor).

La fixation du ligand sur le récepteur entraîne, sa dimérisation puis son activation par phosphorylation au niveau des résidus tyrosine spécifiques situés sur son domaine intracellulaire.

- **Recrutement des protéines (SH2) :** Les résidus phosphorylés de l'EGFR servent de site de fixation pour certaines protéines contenant un domaine Src homology-2 (SH2), il s'agit du complexe Grb2/hSos qui active à son tour la protéine RAS.

- **Activation de la protéine RAS :** La protéine Ras est une protéine G monomérique qui cycle entre un état inactif lié au GDP et un état actif lié au GTP. Le complexe Grb2/hSos est un facteur d'échange du GDP pour la protéine RAS qui favorise l'échange du GDP par le GTP. Ainsi activée, la protéine RAS interagit avec la kinase RAF (BRAF, CRAF) qui active via une cascade de phosphorylations des effecteurs différents.

- **Effets cellulaires :** L'activation de la protéine RAF conduit à la phosphorylation des protéines MEK puis ERK, puis des protéines cytosoliques comme la S6 kinase ou des facteurs de transcription nucléaires tels que ELK, ETS, Jun, fos, à l'origine des effets cellulaires.

### 4-3-2 Activation anormale dans le cas du cancer colorectal

L'activation incontrôlée de cette voie peut survenir suite à différents mécanismes que sont :

- **La surexpression du récepteur :** liée à une augmentation du nombre de récepteurs à la surface de la cellule. Ce mécanisme résulte d'une augmentation de la transcription ou d'une stabilité accrue de la protéine ;

- **Les mutations activatrices du gène de l'EGFR** conduisant à des anomalies structurales au niveau du domaine extracellulaire ou intracellulaire du récepteur ;

- **L'augmentation de la quantité de ligands de l'EGFR**, en particulier le TGFα, responsable d'une boucle autocrine d'activation continue de l'EGFR ;

- **L'amplification du gène de l'EGFR.**

- **Les mutations activatrices responsables de la synthèse des protéines** RAS (KRAS, NRAS, HRAS), RAF (BRAF, CRAF) et MEK (MEK1, MEK2) mutées.

Les protéines RAS mutées sont dotées d'une efficacité limitée d'hydrolyse du GTP, par conséquent, elles deviennent sous une forme constitutivement active, d'où une prolifération intense et une capacité de survie supérieure aux cellules normales **(Figure 19).**

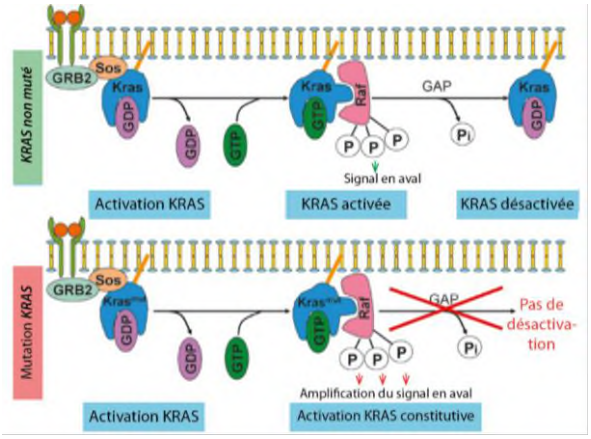



**Figure 19 Activation constitutive de la voie RAS/MAPK.**

**Source:** Wicki A, Herrmann R, Christofori G. Kras in metastatic colorectal cancer. Swiss Med Wkly. 19 nov 2010;140:w13112. **Modifiée**

### 4-3-3 Interférence des protéines KRAS avec d'autres voies de signalisation

La protéine KRAS a été identifiée pour interagir avec d'autres voies de signalisation telles que, la voie phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) (40) et la voie RALGDS (Ral guanine-nucleotide-exchange factors) (41) impliquées dans la survie, la prolifération, la migration et l'angiogenèse **(Figure 20).**

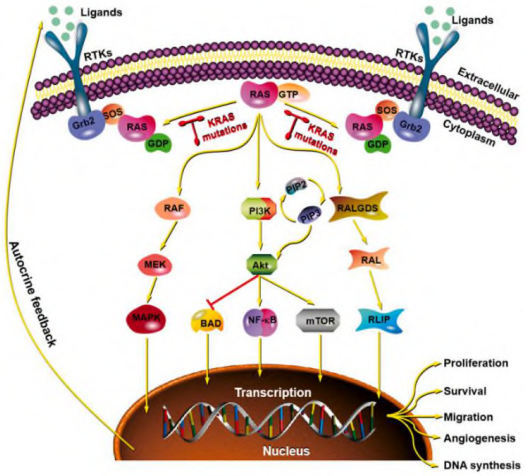



**Figure 20 Interférence de la protéine RAS avec différentes voies de signalisation oncogène.**

**Source:** Meng M, Zhong K, Jiang T, Liu Z, Kwan HY, Su T. The current understanding on the impact of KRAS on colorectal cancer. Biomed Pharmacother. 1 août 2021;140:111717.

## 4-4 Valeur pronostique et prédictive des mutations KRAS

### 4-4-1 La valeur pronostique

Un biomarqueur pronostique informe de l'évolution probable du cancer (c'est-à-dire récidive du cancer, progression de la maladie ou décès), indépendamment du traitement reçu (43). Plusieurs études ont exploré le rôle pronostique possible des mutations *KRAS*. Les résultats étaient cependant divergents et dépendants des protocoles expérimentaux, des types de tumeurs et des stades du CCR. Ce rôle est également controversé dans les CRC microsatellites stables (MSS) et microsatellites instables (MSI) (44). Certaines études récentes ont cependant rapporté une association possible entre les mutations de *KRAS* et la survie. Dans leur large cohorte, Yuan et al. ont constaté que la mutation *KRAS* G12D est associée à une survie inférieure et constitue un biomarqueur de mauvais pronostic chez les patients chinois (45). En parallèle, Dai et al. ont montré que les mutations *KRAS* sont associées à une réduction de survie surtout en cas d'une tumeur au colon gauche (46).

### 4-4-2 La valeur prédictive

Un biomarqueur est prédictif si l'effet du traitement (expérimental comparé à un témoin) est différent pour les patients biomarqueur-positifs, par comparaison aux patients biomarqueur-négatifs (43).

Le traitement anti-EGFR bloque les voies de signalisation conduisant à la prolifération cellulaire et réduit les métastases. Ce traitement s'est montré efficace en augmentant la survie des patients atteints d'un CCR de stade IV (métastatique) par rapport à un traitement standard (47). Or, les malades porteurs du gène *KRAS* muté, ne répondent pas au traitement anti-EGFR (cétuximab ou panitumumab). Manifestement, les mutations *KRAS* au niveau des codons 12 et 13 excluent une réponse efficace à ce traitement. Globalement, la réponse pour les tumeurs *KRAS* de type muté est de 0%, alors que pour les tumeurs *KRAS* de type sauvage, la réponse est de 30-40% (48).

**En conclusion**, les CCRs apparaissent donc comme un groupe de maladies très hétérogènes qui traduisent l'accumulation progressive de mutations génétiques conduisant à une augmentation de la prolifération cellulaire et favorisant l'évolution des lésions bénignes vers des lésions malignes. Les mutations ponctuelles activatrices du gène *KRAS* occupent une position centrale

dans la carcinogenèse colorectale pour les raisons suivantes : leur apparition précoce au début de la séquence adénome-carcinome ; leur pouvoir oncogène conduisant à une prolifération cellulaire incontrôlée ; leur haute fréquence avoisinant les 40% ; leur intervention en tant que biomarqueurs prédictifs contre la thérapie ciblée anti-EGFR ; et leur contribution possible en tant que biomarqueur pronostique réduisant la survie des patients CCR.

Les mutations KRAS les plus fréquentes concernent essentiellement les codons 12 et 13 de l'exon 2 donnant naissance à des protéines RAS constitutivement actives, d'où le recrutement de plusieurs effecteurs intracellulaires agissant sur l'ADN pour contrôler des activités cellulaires telles que : la prolifération, la survie et l'apoptose.

# II- Epidémiologie descriptive des CCRs

## 1- Incidence et mortalité liées au cancer colorectal

### 1-1 A l'échelle mondiale

Sur la base des estimations GLOBOCAN 2020 produites par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC), le cancer colorectal représente environ 10 % des nouveaux cas de cancers diagnostiqués et 9,4% des décès liés au cancer dans le monde (49).

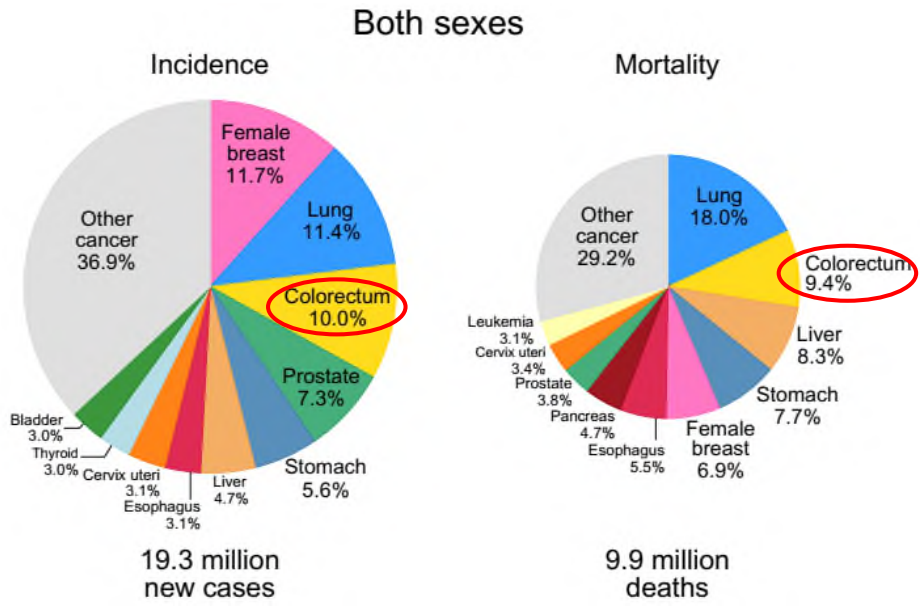



**Figure 21 Taux d'incidence et de mortalité estimés à l'échelle mondiale, GLOBOCAN 2020.**

On estime que plus de 1,9 million de nouveaux cas de cancer colorectal (y compris l'anus) et 935 000 décès se produiraient en 2020, ce qui représente environ un cas de cancer et un décès sur 10 de l'ensemble des cancers. L'incidence et la mortalité chez les femmes sont inférieures d'environ 25 % que chez les hommes (50).

Le CCR occupe le troisième rang en termes d'incidence, mais le deuxième en termes de mortalité pour les deux sexes confondus **(Figure 21)** (49). Chez la femme, c'est le 2ème cancer le plus diagnostiqué avec 865630 cas (9,4% de l'ensemble des cancers) et le 2ème cancer le plus mortel avec 419536 cas de décès (9,5% de l'ensemble des cancers). Chez l'homme en revanche,

le CCR représente le 3ème cancer le plus répandu avec 1065960 cas (10,6% de l'ensemble des cancers) et le 3ème cancer le plus mortel avec 515637 cas de décès **(Figure 22)** (49).

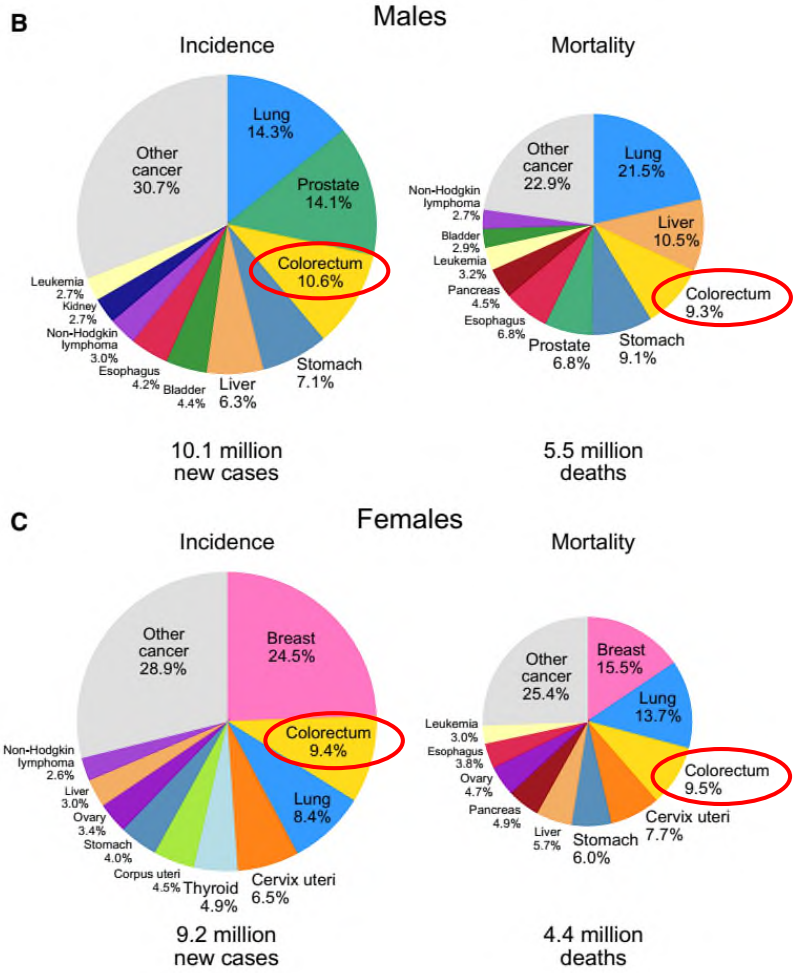



**Figure 22 Taux d'incidence et de mortalité selon le sexe dans le monde, GLOBOCAN 2020.**

Les taux d'incidence dépend fortement du niveau socio-économique, il est environ quatre fois plus élevé dans les pays développés par rapport aux pays en développement, mais il y a moins de variation dans les taux de mortalité en raison de la surmortalité observée dans les pays en développement **(Figure 23)** (49).

Le cancer colorectal peut être considéré comme un marqueur du développement socio-économique et, dans les pays en plein développement, les taux d'incidence ont tendance à augmenter uniformément avec l'augmentation de l'IDH (51).

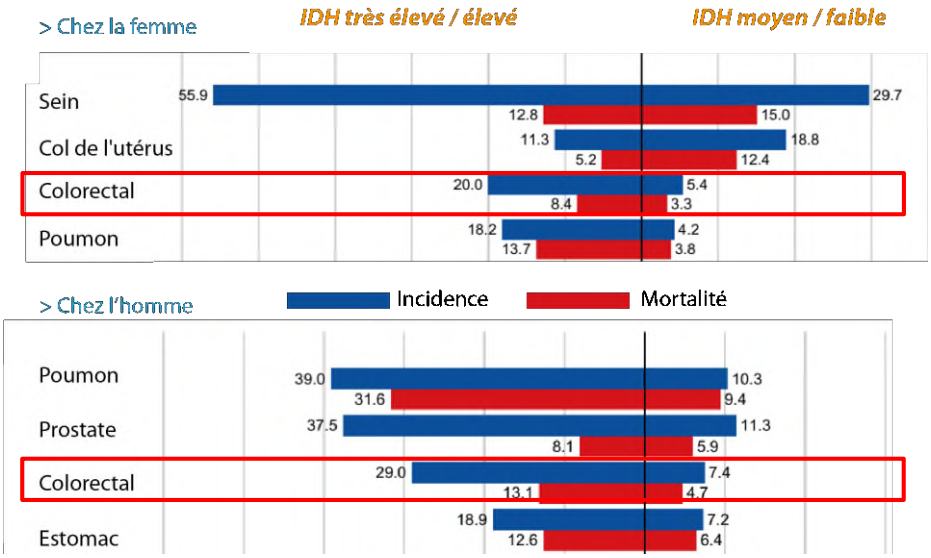



**Figure 23 Taux d'incidence et de mortalité normalisés sur l'âge, selon l'indice de développement humain (IDH) chez l'homme et la femme.**

**Source:** Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA Cancer J Clin. 2021;71(3):209-49. **Adaptée**

Les fluctuations d'incidence entre les régions peuvent être très contrastées. En effet, on observe une variation des taux d'incidence du cancer du côlon d'environ 9 fois de plus dans les régions européennes, l'Australie/Nouvelle-Zélande et l'Amérique du Nord, la Hongrie et la Norvège (49). Les taux d'incidence du cancer du rectum ont une distribution régionale similaire, bien que les taux en Asie de l'Est se classent parmi les plus élevés. Les taux d'incidence du cancer du côlon et du rectum ont tendance à être faibles dans la plupart des régions d'Afrique et d'Asie centrale et du Sud (49) **(Figure 24)**.

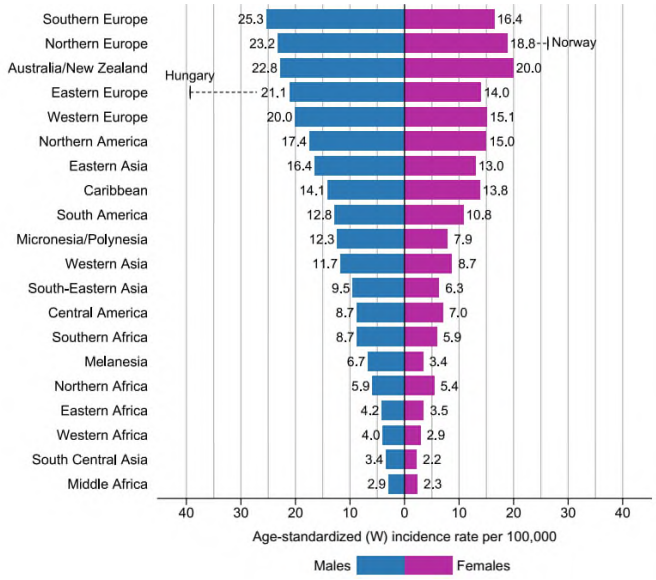



**Figure 24 Taux d'incidence des cancers du côlon standardisés selon l'âge chez les deux sexes dans différentes régions du monde.**

**Source:** Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA Cancer J Clin. 2021;71(3):209-49.

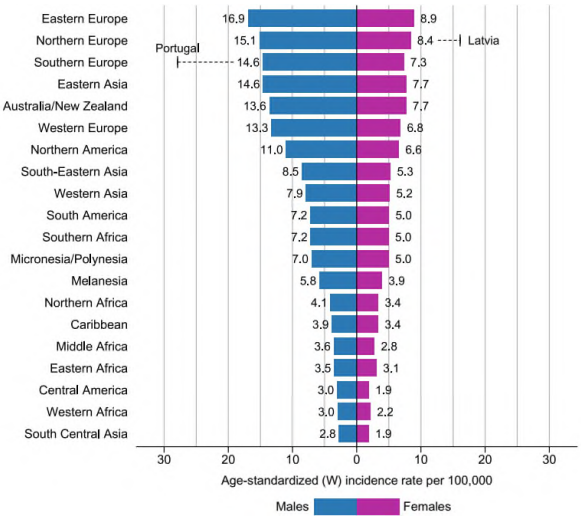



**Figure 25 Taux d'incidence normalisés selon l'âge par région selon le sexe pour les cancers du rectum.**

**Source:** Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA Cancer J Clin. 2021;71(3):209-49. **Adaptée**

Alors que l'incidence augmente dans les pays en développement autrefois classés à faible risque, on constate qu'elle diminue dans les pays développés. L'augmentation de l'incidence observée chez les pays à faible IDH, reflète probablement des changements dans les facteurs de style de vie et de régime alimentaire, c'est-à-dire une transition vers une consommation accrue d'aliments d'origine animale avec un mode de vie plus sédentaire marqué par une diminution de l'activité physique et une prévalence accrue de l'excès de masse corporelle (52).

En contrepartie, les baisses d'incidence dans certains pays à forte incidence ont été attribuées à des changements vers des choix de mode de vie plus sains avec baisse du tabagisme, augmentation du dépistage par coloscopie et l'élimination des lésions précurseurs (52,53).

Le coût de la mise en place d'un effort de dépistage de masse dans la plupart des régions ne serait pas justifié étant donné les coûts importants de la coloscopie et la mise en œuvre inadéquate des services de diagnostic et de traitement. La prévention primaire reste donc la stratégie clé pour réduire le fardeau mondial croissant du cancer colorectal (54).

### 1-2 A l'échelle nationale

Selon les estimations GLOBOCAN 2020 s'appuyant sur les données des registres du cancer du Grand Casablanca et de Rabat, le CCR serait le troisième cancer le plus répandu en 2020 après le cancer de sein et de poumon avec une prévalence de 7,7% des cancers totaux (4558 cas) (49) **(Figure 26).**

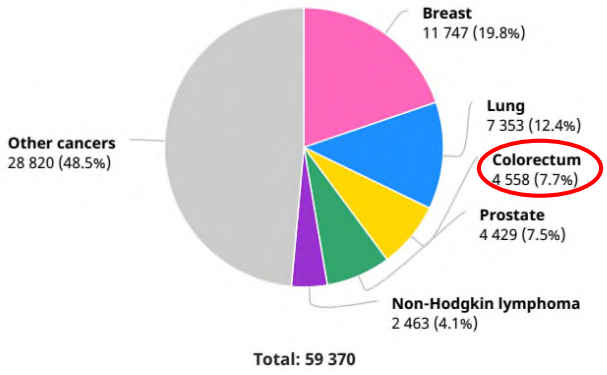


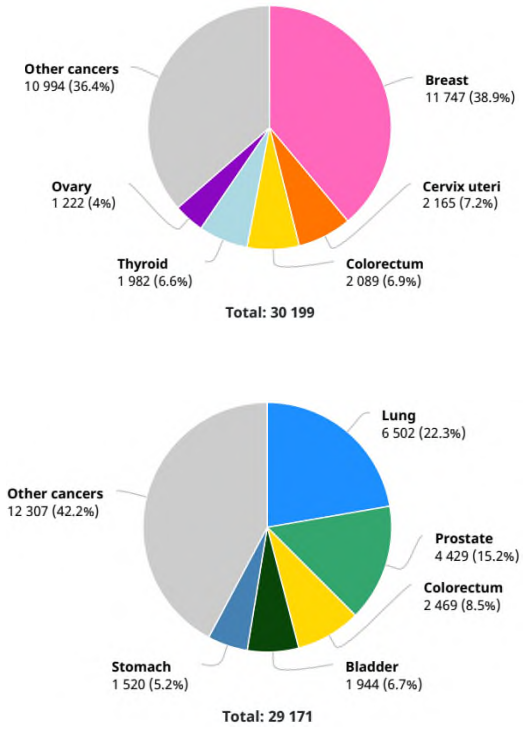

**Figure 26 Proportions des types de cancer au Maroc en 2020 pour les deux sexes.**
**Source:** Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA Cancer J Clin. 2021;71(3):209-49. **Adaptée**

Chez les femmes après le cancer du sein et le col utérin, le CCR est présent avec une prévalence de 6,9% (2089 cas) de l'ensemble des cancers. Chez l'homme, on relève une plus grande prévalence de l'ordre de 8,5% (2469 cas) occupant toujours la troisième position après le cancer du poumon et de la prostate (49) **(Figure 27).**

**Commenté [KE4]:** A corriger. Ceci n'est pas une incidence!!!

**Commenté [KE5]:** même remarque

**Le tableau 6** résume les statistiques relatives à l'incidence, la mortalité et la prévalence sur 5 ans concernant les 10 types de cancers les plus fréquents au Maroc.




**Chez la femme**

**Chez l'homme**

**Figure 27 Nombre des nouveaux cas de cancer en 2020 selon le sexe.**

**Source:** Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA Cancer J Clin. 2021;71(3):209-49.

**Tableau 6 Incidence, mortalité et prévalence selon le type de cancer (49) adapté.**

| **Type de cancer** | **Nouveaux cas** | | **Mortalités** | | **Prévalence (5-ans)** | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Cancer** | Nombre (%) | Rang | Nombre et % | Rang | Nombre | Par 100 000 |
| **Sein** | 11 747 (19,8%) | 1 | 3 695 (10,5%) | 2 | 31 420 | 168,98 |
| **Poumon** | 7 353 (12,4%) | 2 | 6 551 (18,6%) | 1 | 7 717 | 20,91 |
| **Prostate** | 4 429 (7,5%) | 3 | 1 875 (5,3%) | 4 | 9 135 | 49,87 |
| **Lymphome non hodgkinien** | 2 463 (4,1%) | 4 | 1 448 (4,1%) | 5 | 6 191 | 16,77 |
| **Colon** | **2405 (4,1%)** | **5** | **1 386 (3,9%)** | **6** | **5 220** | **14,14** |
| **Thyroïde** | 2 311 (3,9%) | 6 | 344 (0,98%) | 22 | 6 802 | 18,43 |
| **Estomac** | 2 294 (3,9%) | 7 | 2 016 (5,7%) | 3 | 3 056 | 8,28 |
| **Vessie** | 2 268 (3,8%) | 8 | 1 268 (3,6%) | 8 | 5 576 | 15,11 |
| **Col utérin** | 2 165 (3,6%) | 9 | 1 199 (3,4%) | 12 | 5 206 | 28,00 |
| **Rectum** | **1 919 (3,2%)** | **10** | **988 (2,8%)** | **13** | **4 541** | **12,30** |

Selon les données du registre du Grand Casablanca (2008-2012), les classes d'âge les plus touchées par le cancer colorectal sont représentées par la classe comprises entre 50 et 54 ans suivie par celle comprise entre 60 et 64 ans chez les femmes. Chez les hommes, c'est la classe d'âge comprise entre 55 et 59 ans qui est la plus touchée suivie par celle comprise entre 60 et 64 (55).

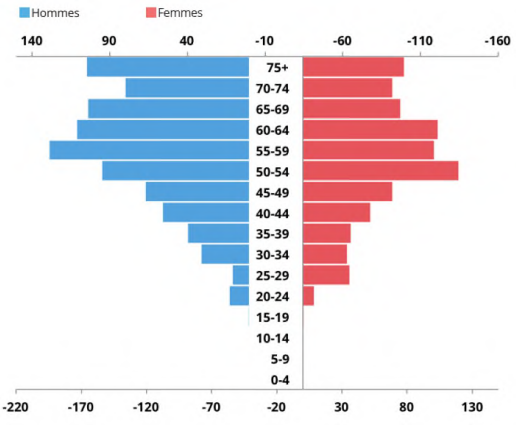



**Figure 28 Répartition du nombre des cas du CCR par sexe et par tranche d'âge (*RCRC*).**

## 2- Facteurs liés au cancer colorectal

Le CCR est une maladie multifactorielle résultant de facteurs liés au mode de vie, à la génétique et à l'environnement (56). Les études épidémiologiques ont montré que le sexe masculin et l'augmentation de l'âge sont fortement associés à cette maladie. Cependant, les facteurs de risque héréditaires et environnementaux jouent un rôle prépondérant dans le développement du CCR. Parmi ces facteurs, certains sont modifiables alors que d'autres restent inévitables **(Figure 29).**

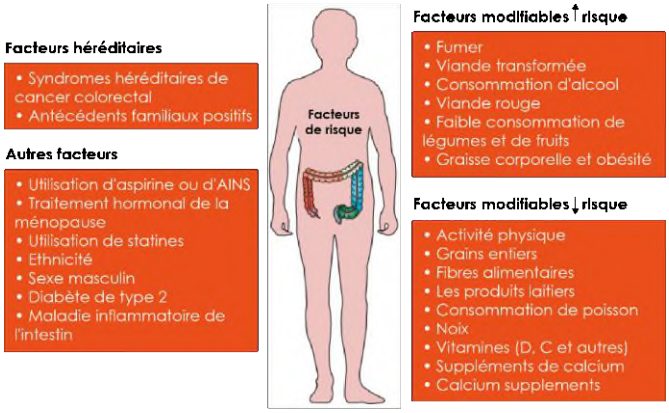



**Figure 29 Liste des facteurs de risque modifiables et non modifiables du CRC**

**Source :** Dekker E, Tanis PJ, Vleugels JLA, Kasi PM, Wallace MB. Colorectal cancer. Lancet Lond Engl. 19 oct 2019;394(10207):1467-80.

## 2-1 Facteurs non modifiables

Parmi les facteurs non modifiables on peut citer :

- **L'âge**

Étant donné qu'environ 90 % de tous les nouveaux cas de cancer colorectal surviennent chez des personnes de plus de 50 ans, l'âge avancé est considéré comme l'un des facteurs les plus importants influençant le risque de CCR. On estime que les personnes de plus de 65 ans ont environ 3 fois plus de risque que celles de 50 à 64 ans, et environ 30 fois plus de risque que les personnes de 25 à 49 ans (57). Il convient toutefois de souligner que les résultats des études les plus récentes indiquent que l'incidence du CCR augmente chez les jeunes adultes (20-49 ans) aux États-Unis et en Europe (58,59). Actuellement, il est recommandé de commencer le dépistage du cancer colorectal chez les adultes de plus de 50 ans. Cependant, si la tendance actuelle se poursuit, les directives de dépistage doivent être reconsidérées.

- **Le sexe**

Selon la Société Américaine du Cancer, les hommes ont un risque environ 30 % plus élevé de développer un CCR que les femmes. De plus, ils ont un plus mauvais pronostic et une mortalité environ 40 % plus élevée que les femmes. Les raisons de la disparité entre les sexes ne sont pas entièrement comprises, et on considère qu'elles peuvent être liées aux différences d'exposition aux facteurs de risque (par exemple, l'alcool et le tabac), les habitudes alimentaires et les hormones sexuelles (60).

- **La race/ethnicité**

L'incidence du CCR varie considérablement selon la race. Les Noirs non hispaniques connaissent l'un des taux d'incidence les plus élevés de tous les groupes raciaux. On estime que le taux d'incidence du CCR chez les Noirs non hispaniques est environ 50 % plus élevé que chez les Asiatiques/les insulaires du Pacifique et environ 20 % plus élevé que chez les Blancs non hispaniques (61). Les taux de mortalité par CRC chez les Noirs sont 40 % plus élevés que chez les Blancs non hispaniques et le double de ceux des Asiatiques (60).

Les raisons des disparités raciales/ethniques dans le CRC sont complexes, mais reflètent en grande partie des différences de statut socio-économique. En effet, 24 % des Noirs vivaient dans la pauvreté en 2015, contre 11 % des Asiatiques et 9 % des Blancs non hispaniques (IPUS

2015). Or, près de la moitié de la disparité socioéconomique est attribuée à des différences dans la prévalence des facteurs comportementaux associés au CCR (tabagisme, obésité, etc.) (60).

- **L'hérédité et l'histoire familiale**

On estime qu'environ 30 % des patients CCR ont des antécédents familiaux de la maladie, dont 5 % sont dus à une anomalie génétique héréditaire (63). Les personnes ayant un proche au premier degré atteint d'un CCR (parent, frère ou enfant), ont 2 à 4 fois plus de risque de développer la maladie que les personnes sans antécédents familiaux (64).

Le risque le plus élevé est observé chez les personnes ayant plusieurs parents au premier degré diagnostiqués avec un CCR. En outre, des études récentes indiquent que le risque familial s'étend au-delà des parents au premier degré (65).

On estime que 2 à 8 % des cas de cancer colorectal surviennent à la suite de syndromes héréditaires. Les deux syndromes héréditaires les plus courants qui prédisposent au développement du CCR sont le cancer colorectal héréditaire sans polypose (HNPCC), également connu sous le nom de syndrome de Lynch, et la polypose adénomateuse familiale (PAF).

Le HNPCC est une maladie autosomique dominante causée par des mutations dans les gènes responsables de la réparation des erreurs de mésappariements au niveau de l'ADN (MLH1, MSH2, MSH6, MLH3, TGBR2, PMS1 et PMS2). Les patients HNPCC présentent 20% de risque pour développer un CCR à l'âge de 50 ans, et environ 80% de risque à l'âge de 85 ans (66).

La PAF présente également un modèle d'hérédité autosomique dominante. Elle est causée par des mutations du gène APC (Adenomatous Polyposis Coli) faisant partie des gènes suppresseur de tumeur. Les patients PAF commencent à développer des centaines, voire des milliers de polypes du côlon à un âge précoce (10 à 12 ans) avec une forte probabilité de ces polypes d'évoluer en CCR. On suppose que presque tous les patients PAF non traités seront diagnostiqués avec un CCR avant l'âge de 40 ans (67).

D'autres syndromes héréditaires augmentent la survenue du CCR : syndrome de Peutz-Jeghers, syndrome de la polypose juvénile, syndrome de Cowden et polypose associée à MUTYH (66).

- **Antécédents médicaux personnels**

  - **Maladie inflammatoire de l'intestin (maladie de Crohn, colite ulcéreuse)**

Les maladies inflammatoires de l'intestin (MII) sont classées comme la troisième condition à risque le plus élevé pour le développement du CCR, derrière HNPCC et PAF. Les MII sont un

groupe de maladies chroniques et incurables, qui affectent le système immunitaire du tractus gastro-intestinal conduisant au développement d'une inflammation incontrôlée. Les deux principales formes de MII sont la maladie de Crohn et la colite ulcéreuse. L'étiologie de l'IMM est inconnue, et on considère que son développement traduit les interactions entre des facteurs génétiques, immunologiques et environnementaux (68).

L'inflammation chronique favorise la croissance et la progression des tumeurs, et serait responsable de l'augmentation du risque de CCR, de 2 à 6 par rapport aux personnes en bonne santé (69).

- **Diabète sucré**

Le diabète sucré est un trouble métabolique caractérisé par une hyperglycémie chronique, qui résulte d'anomalies de la sécrétion et/ou de l'action de l'insuline. Les données épidémiologiques indiquent que le diabète est un facteur de risque de plusieurs cancers gastro-intestinaux, dont le cancer colorectal (70). Les personnes atteintes de diabète de type 2 ont environ 2 à 3 fois plus de risque de développer un CCR que la population non diabétique (71). On pense que le développement du CCR est lié à une augmentation de la concentration d'insuline et à un état inflammatoire associé à la maladie (72).

## 2-2 Facteurs modifiables

- **Mode de vie**

Il est maintenant bien admis que le risque de CCR est hautement modifiable par l'alimentation et le mode de vie ; des rapports récents suggèrent que jusqu'à 47 % des cas de CCR pourraient être évités en restant physiquement actif, en maintenant un poids corporel normal et en ayant une alimentation saine (73).

Une étude cas-témoin morocaine a étudié le risque de CCR en se basant sur l'indice de mode de vie sain étendu (EHLI : Extended Healthy Lifestyle Index). Le calcul de cet indice tient en compte les facteurs les plus impactants du CRC (tabagisme, consommation d'alcool, intensité de l'activité physique, IMC, consommation de fruits et légumes, boissons favorisant la prise de poids, viande rouge et transformée, céréales et/ou légumineuses relativement non transformées et consommation de produits laitiers). Cette étude a mis en évidence une diminution significative du risque de CCR global en comparant la catégorie avec EHLI le plus élevé (mode de vie sain) avec la catégorie d'indice le plus faible (mode de vie malsain) (OR= 0,39, IC à 95 % : 0,33–0,47) (74).

❖ **Activité physique**

Les données épidémiologiques indiquent qu'une incidence croissante du CCR dans les pays développés et en développement peut être le résultat d'un mode de vie sédentaire. On estime que les personnes physiquement inactives ont jusqu'à 50 % plus de risque de développer un cancer colorectal par rapport aux personnes physiquement actives (75). Il a été démontré que des exercices physiques réguliers améliorent la fonction du système immunitaire, réduisent l'inflammation, réduisent le stress, optimisent le taux métabolique, aident à réguler le niveau d'hormones et à prévenir l'obésité et, par conséquent, peuvent aider à protéger contre le développement du CCR (76).

La Société Américaine de Cancer et le Centre de Contrôle et de Prévention recommandent aux adultes de pratiquer au moins 150 minutes d'activité d'intensité modérée ou 75 minutes d'intensité vigoureuse chaque semaine, de préférence réparties tout au long de la semaine (76).

❖ **Surpoids et obésité**

Une accumulation anormale ou excessive de graisse corporelle (surpoids et obésité) est un facteur de risque convaincant pour le développement du CCR. Les hommes et les femmes en surpoids/obèses ont environ 50 % et 20 % plus de risques de développer un CCR par rapport aux personnes de poids normal, respectivement. On estime qu'un risque global de CCR augmente de 3 % pour chaque cinq kilogrammes de gain de poids (57).

Les mécanismes sous-jacents inducteurs de la cancérogenèse font encore l'objet d'études approfondies. Il a été constaté que le tissu adipeux des personnes en surpoids/obèses libère plus de facteurs connus pour présenter des effets mitogènes sur les cellules épithéliales, inhiber leur apoptose, favoriser le stress oxydatif et supprimer la réponse immunitaire. Or, toutes ces manifestations sont associées au développement et à la progression du CCR (77).

❖ **Tabagisme**

La fumée de tabac est un facteur de risque établi pour le développement de nombreux types de cancer, y compris le CCR. Les résultats des études épidémiologiques indiquent que les personnes qui fument des cigarettes doivent multiplier par 2 à 3 le risque de développer un CCR par rapport aux non-fumeurs et que le risque augmente avec la dose et la durée d'exposition (78). De plus, on considère que le tabagisme est également associé à une survie plus faible en étant responsable d'environ 12% des décès par CCR (79). La fumée de tabac contient un mélange de milliers de produits chimiques, dont plus de 60 sont des cancérogènes bien établis

(les N-nitrosamines, les hydrocarbures aromatiques polycycliques, les amines aromatiques, les aldéhydes et les métaux) qui sont connus pour **endommager l'ADN** (80).

- **Consommation d'alcool**

La consommation d'alcool est l'un des principaux contributeurs au développement du CCR. On estime que la consommation de 2 à 3 verres par jour augmente le risque de CCR d'environ 20 %, tandis que la consommation de plus de trois boissons alcoolisées augmente ce risque d'environ 40 % (57). À ce jour, différents mécanismes cancérogènes ont été proposés. Ils comprennent la production d'espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (lors du métabolisme oxydatif de l'éthanol), la production **d'acétaldéhyde mutagène** (le premier métabolite de l'éthanol), les altérations épigénétiques, l'inactivation des gènes suppresseurs de tumeurs, etc. (81).

- **Facteurs nutritionnels**

Les différences d'incidence du CCR à l'échelle mondiale, suggèrent que l'alimentation influence fortement l'occurrence du CCR (82). Les tendances alimentaires influencent probablement le risque directement, par le biais d'éléments alimentaires spécifiques, et indirectement, par la surnutrition et l'obésité ou en agissant sur le microbiome du gros intestin (83).
Un régime riche en viandes rouges et transformées augmentrait le risque de CCR alors que certains aliments comme les fibres, les légumes et les fruits, ainsi que les produits laitiers pourraient diminuer ce risque. Dans ce cadre, une étude cas-témoin nationale a soutenu le fait que la consommation des produits laitiers modernes ou traditionnels diminuerait le risque du CCR (84) alors que la consommation des viandes rouges et transformées augmenterait ce risque (85).
**- Régime riche en viandes rouges et transformées :** Selon le Centre international de recherche sur le cancer, la viande rouge et la viande transformée ont été classées comme probablement cancérogènes pour l'homme (Groupe 2A) et cancérogènes pour l'homme (Groupe 1), respectivement. On considère que la consommation régulière de viande rouge et transformée est un facteur de risque important pour le développement du CCR (73). On estime que le risque de CRC peut augmenter d'environ 17 % pour chaque portion de 100 grammes de viande rouge et d'environ 18 % pour chaque 50 grammes de viande transformée consommés quotidiennement (86).

Au Maroc, une étude cas-témoin à grande échelle a montré que la consommation de la viande rouge était positivement associée au cancer du côlon et au risque de CCR (OR = 1,23, IC à 95 % = 1,05-1,44 ; OR = 1,14, IC à 95 % = 1,02-1,27), respectivement. En revanche, aucune

association significative n'a été observée avec le risque de cancer rectal (OR = 1,05, 95% = 0,90-1,23). Fait intéressant, alors que la viande transformée issue de procédés industriels était positivement associée au cancer du côlon, au cancer du rectum et au CCR (OR = 1,61, IC à 95 % = 1,27-2,04 ; OR = 1,73, IC à 95 % = 1,34-2,23 ; OR = 1,67, 95 % IC = 1,41-1,98), la viande transformée préparée à l'aide de méthodes traditionnelles était inversement associée au cancer du côlon et au risque de CCR (OR = 0,74, IC à 95 % = 0,57-0,98 ; OR = 0,77, IC à 95 % = 0,64 à 0,93), respectivement (85).

Le mécanisme exact par lequel la consommation de viande rouge et transformée peut contribuer au développement du CCR est toujours à l'étude. Plusieurs facteurs sont censés influencer l'apparition du cancer tels que les amines hétérocycliques (HAC), les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et les composés N-nitrosés (NOC).
Les HAC, les HAP et les NOC sont considérés comme des substances génotoxiques ayant le potentiel de provoquer des mutations ponctuelles (délétions, insertions et substitutions) et, par conséquent, d'initier le processus de cancérogenèse (87). L'autre facteur qui contribuerait à la transformation maligne est l'hème présent en grande quantité dans la viande rouge. Il a été démontré que l'hème augmente le stress oxydatif et induit la peroxydation lipidique des cellules intestinales contribuant aux dommages à l'ADN et aux mutations génétiques (56).

**- Régime pauvre en fibres, fruits et légumes :** Bien qu'il soit hautement plausible que les fibres alimentaires diminuent le risque de CCR, les résultats des études récentes, y compris ceux d'essais contrôlés randomisés, restent peu concluants. Le mécanisme potentiel de l'effet protecteur comprend : (i) la réduction du temps de transit des selles dans tout le côlon et, par conséquent, la réduction du contact entre les substances potentiellement cancérigènes et l'épithélium colique, (ii) l'augmentation de la quantité de l'eau dans le contenu fécal et donc la dilution des cancérogènes présents dans les matières fécales, (iii) la liaison des stérols et des métabolites des acides biliaires, qui peuvent être impliqués dans la cancérogenèse, et (iv) la stimulation de la croissance du microbiote intestinal bénéfique. Par conséquent, les directives diététiques recommandent aux gens de consommer au moins 20 à 30 g de fibres par jour (73). Les fruits et les légumes sont naturellement d'excellentes sources de fibres. En plus de l'apport en fibres, la consommation de fruits et légumes fournit un grand nombre de composés bioactifs, tels que des vitamines, des minéraux, du folate, des stérols végétaux. Beaucoup de ces composés présentent de puissantes propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires, qui pourraient inhiber les dommages à l'ADN. Ainsi, la consommation élevée de fruits et légumes est associée à un faible risque de développement du CCR.

Le Fonds mondial de recherche contre le cancer et l'Institut américain de recherche sur le cancer ont classé les associations entre facteurs alimentaires et comportementaux et le CCR selon la

force en 4 catégories : Groupe 1 : Forte évidence, convaincante ; Groupe 2 : Forte évidence, probable ; Groupe 3 : Evidence limitée, suggestive ; Groupe 4 : Evidence limitée, sans conclusion **(Tableau 7).**

**Tableau 7 Associations entre le CCR et certains facteurs nutritionnels et comportementaux.**

| | **Alimentation, activité physique et cancer colorectal 2017** | | |
|---|---|---|---|
| | | **Diminution du risque** | **Augmentation du risque** |
| **Forte Evidence** | **Convaincante** | Activité physique | Viande transformée ; boisson alcoolisée ; graisse corporelle ; |
| | **Probable** | Grains entiers ; aliments contenant des fibres alimentaires ; produits laitiers, supplément de calcium. | Viande rouge |
| **Evidence Limitée** | **Suggestive** | Aliments contenant la vitamine C ; poisson ; vitamine D ; supplément multi-vitaminique. | Faible consommation de légumes féculents ; faible consommation de fruits ; Aliments contenant le fer hémique. |
| | **Sans conclusion** | céréales (grain) et leurs produits ; pommes de terre ; graisse animale ; volaille ; crustacés et autres fruits de mer ; composition en acides gras ; cholestérol ; acide gras alimentaire n-3 de poissons ; légumineuses ; ail ; sources non laitières de calcium ; aliments contenant du sucre ajouté ; sucre (saccharose) ; café ; thé ; caféine ; hydrates de carbone ; graisse totale ; amidon ; charge glycémique ; indice glycémique ; folate ; Vit A ; Vit B6 ; Vit E ; sélénium ; méthionine ; β et α carotènes ; lycopène ; rétinol ; apport énergétique ; régime alimentaire. | |

Ce tableau montre que le niveau d'évidence concernant les nutriments qui composent les aliments reste limité. En effet, leur association avec le CCR reste contreversée à cause d'une part de la rareté des études dans ce sujet, et d'autre part, de la difficulté d'éllucider leur mécanisme d'action exacte sur les voies moléculaires sollicitées dans le CCR.

## 3- Association entre l'alimentation et les altérations génétiques

Le groupe d'experts du Fonds mondial de recherche sur le cancer (WCRF), qui est l'organisation responsable de la publication de la revue la plus complète à ce jour sur les facteurs de risque du cancer liés à l'alimentation et à l'activité physique, a récemment conclu qu'il existe des preuves solides et convaincantes entre les facteurs nutritionnels et le risque de CCR.

Les facteurs liés à l'alimentation jouent un rôle dans l'apparition de mutations et de changements épigénétiques, qui en s'accumulant, conduisent à la croissance tumorale. Il peut donc exister des associations causales directes entre les facteurs nutritionnels et les changements moléculaires dans le CCR, et l'établissement de cette association peut aider à orienter les stratégies de prévention et améliorer la capacité de prédiction de la progression et du pronostic de la maladie.

Traditionnellement, la recherche épidémiologique a été utilisée pour étudier comment une exposition peut augmenter ou diminuer le risque de développer un CCR, et la recherche pathologique a été utilisée pour explorer les caractéristiques moléculaires des tumeurs afin de prédire le pronostic et la réponse au traitement. En combinant ces deux disciplines, un domaine d'investigation scientifique relativement nouveau a émergé : **l'épidémiologie moléculaire pathologique** (88).

Dans cette perspective, plusieurs études ont exploré l'association entre certains biomarqueurs et certains facteurs liés à l'alimentation pour lesquels il existe des preuves d'une association avec le CCR. Cependant, leur nombre s'avère très réduit et les résultats obtenus nécessitent souvent des études complémentaires **(Tableau 8).**

Les résultats de ces études suggèrent que l'alimentation a un rôle à jouer dans la cancérogenèse, via des mécanismes divers tels que : l'activation ou l'inactivation de certains gènes par méthylation ; l'induction d'un stress oxydatif et de dommages à l'ADN qui aboutissent à des mutations au niveau des gènes suppresseurs de tumeurs ou au niveau des oncogènes tels que le gène *KRAS*.

Les mutations *KRAS* constituent un sujet de recherche interessant vu ses multiples aspects liés au CCR. Ces mutations sont présentes dans la population Marocaine avec une fréquence qui avoisine les 30% (entre 24% à 33%). En effet, Dehbi et al., ont trouvé une prévalence égale à

39,5% (45/114) (89), quand d'autres chercheurs ont observé respectivement 29% (18/62), 23,9% (22/92), 33,3% (36/116) et 28 % (16/57) (90–92). Ces fréquences ne diffèrent pas significativement des prévalences enregistrées dans les pays occidentaux et montrent que la contribution de ces altérations dans le processus carcinogène est non négligeable.

**Tableau 8 Principales études s'intéressant à l'interaction entre les facteurs nutritionnels, et comportementaux et les altérations génétiques connues du CCR jusqu'à 2017.**

| **Etudes et pays** | **Association entre les données épidémiologiques et moléculaires** | |
|---|---|---|
| | **Données épidémiologiques** | **Données moléculaires** |
| **Etudes prospectives** | | |
| **Enquête prospective européenne sur le cancer (EPIC) Norfolk - (Angleterre) :** (93), (94), (95), (96). | Facteurs nutritionnel, comportementaux et clinicopathologiques. | Mutation *APC* et hyperméthylation du promoteur, mutation *BRAF*, mutation *KRAS*, hyperméthylation du promoteur MLH1, mutation TP53. |
| **Étude sur la santé des femmes de l'Iowa (IWHS) – Etats-Unis :** (97)**,** (98)**,** (99)**,** (100)**,** | Tabagisme, facteurs anthropométriques, consommation d'alcool et hormonothérapie postménopausique. | Mutation *BRAF*, CIMP, *KRAS* mutation, MSI. |
| **Étude de suivi des professionnels de la santé (HPFS) – Etats-Unis :** (101)**,** (102)**,** (103)**,** (104)**,** (105)**,** (106)**,** (107)**,** (108)**,** (105)**,** | Facteurs liés au mode de vie, tabagisme, acides gras polyinsaturés oméga-3 marins, utilisation de statines, utilisation de l'aspirine, Indice de masse corporelle, activité physique, consommation d'alcool. | Mutation *RAF*, CIMP, mutation *KRAS*, hypomethylation, MSI, PIK3CA mutation. |
| **Étude sur l'alimentation et le cancer de Malmö (MDCS) - Suède :** (98)**.** | Facteurs anthropométriques. | Mutation *BRAF*, mutation *KRAS*, MSI. |
| **Étude de cohorte collaborative de Melbourne (MCCS) - Australie :** (109)**,** (110)**,** (111)**.** | Consommation d'alcool, taille du corps, ethnicité. | Mutation *KRAS*, mutation *BRAF*, CIMP, MSI. |

| | | |
|---|---|---|
| **Étude de cohorte néerlandaise sur l'alimentation et le cancer (NLCS) – Pays-Bas :** (110)**,** (112)**,** (113)**,** (114)**,** (115)**,** (116)**,** (117)**,** (118)**,** (119)**,** (120)**,** (121)**,** (122)**,** (123)**,** (124)**,** (125)**,** (126)**.** | Taille du corps, tabagisme, alcool, activité physique, exposition précoce à la famine, acrylamide, graisses alimentaires, folate alimentaire, hème alimentaire. | Mutation *KRAS*, mutation *APC*, mutation *BRAF*, hyperméthylation,<br>CIMP, CIN, MSI. |
| **Étude sur la santé des infirmières (NHS) – Etats-Unis :** (101)**,** (102)**,** (103)**,** (104)**,** (105)**,** (106)**,** (107)**,** (108)**,** (105)**,** (127)**,** (128)**.** | Facteurs liés au mode de vie, tabagisme, acides gras polyinsaturés oméga-3 marins, utilisation de statines, utilisation de l'aspirine, Indice de masse corporelle, activité physique, consommation d'alcool, vitamine B, méthionine. | Mutation *KRAS* et *BRAF*, CIMP, hypomethylation, MSI et mutation PIK3CA. |
| **Étude suédoise sur la santé et les maladies (SHEDS) - Suède :** (129)**.** | Tabagisme. | CIMP, MSI |
| **Études cas-témoins** | | |
| **Cancer colorectal : Chances de prévention par le dépistage (DACHS) - Allemagne :** (130)**.** | Indice de masse corporelle | MSI |
| **Programme de soins médicaux Kaiser de Californie du Nord (KPMCP) et l'État**<br>**de l'Utah/Minnesota – Etats-Unis :** (131)**,** (132)**,** (133)**,** (134)**,** (135)**.** | Tabagisme, mode de vie, apport alimentaire, | Mutation KRAS, mutation APC, mutation BRAF, mutation TP53 CIMP, MSI. |
| **Registre familial du cancer du côlon (CCFR) – Etats-Unis :** (136)**.** | Tabagisme et alcool. | MSI |
| **Étude cas-témoins néerlandaise – Pays – Bas :** (137)**,** (138) | Régime alimentaire, | Hyperméthylation, MSI, mutation APC. |
| **Etude cas-témoin de Majorque – Espagne :** (139)**.** | Graisses mono-insaturées et calcium alimentaires | Mutation *KRAS*. |
| **Études transversales** | | |
| **Etude transversale** (140)**.** | Tabagisme | Mutation *KRAS* et mutation *APC*. |

# III- Hypothèses de l'étude

Au Maroc, l'incidence du CCR est en nette augmentation et touche de plus en plus la population jeune. Ce pays connait aussi une transition nutritionnelle marquée par le passage d'un régime alimentaire dit méditerranéen vers un régime dit occidental marquée, entre autres, par une forte consommation d'aliments riches en graisses avec un apport quotidien qui est passé de 42 g à 59 g entre 1968 et 1999 par habitant (2). Selon l'Enquête Nationale sur la Consommation et les Dépenses des Ménages, la consommation en quantité de matières grasses a augmenté entre 2001 et 2014 suite à la consommation d'huiles qui a augmenté en moyenne de 5,4 L (22,4 L contre 17, 02 L par personne et par an) (3). Ce changement du régime alimentaire des marocains pourait expliquer en partie l'augmentation de l'incidence du CCR, mais le mécanisme d'action n'est pas encore bien élucidé. On pense, comme cela a été suggéré par d'autres études (119,120,141), que les graisses alimentaires (acides gras saturés, mono-saturé et poly-saturés) pourraient avoir un rôle mutagène nocif pouvant provoquer des mutations ponctuelles au niveau de certains gènes clés connus par leur pouvoir oncogène, notamment le gène *KRAS* ce qui conduirait à la formation une tumeur colorectale maligne.

**Commenté [KE6]:** à actualiser

Les études épidémiologiques qui se sont intéressées à la question de recherche concernant l'association entre les facteurs nutritionnels et certaines mutations génétiques du CCR, en plus d'être rares, ont été particulièrement menées dans un le contexte occidental. En Afrique, comme au Maroc, c'est la première étude qui tente d'explorer une telle association. Les hypothèses de cette thèse sont les suivantes :

- La fréquence et ou les types des mutations *KRAS* au Maroc pourraient être différentes par rapport aux autres pays.
- La consommation des graisses alimentaires pourrait avoir un effet sur le risque de survenue des mutations *KRAS* portées par les tumeurs colorectales.

# IV- Objectifs de l'étude

## 1- Objectif principal

L'objectif principal de ce travail doctoral est d'étudier l'association entre la consommation des graisses alimentaires avec leurs sous-types (PUFA, MUFA, SFA) et le risque de survenue des mutations *KRAS* dans le cadre du cancer colorectal au Maroc.

## 2- Objectifs secondaires

Les objectifs secondaires de cette étude étaient :

• Décrire la distribution des mutations *KRAS* dans les tumeurs des patients CCR au Maroc.

• Décrire les apports alimentaires en graisses totales avec ses sous-groupes chez les patients CCR.

Pour répondre à ces objectifs, la présente thèse s'est déroulée en 2 étapes :

La 1ère étape a consisté en une revue systématique de littérature réalisée à l'échelle internationale, et englobant tous les articles ayant traité l'association entre les différents facteurs nutritionnels associés aux mutations *KRAS* dans le cadre du cancer colorectal.

La 2ème étape était centrée sur la recherche de l'association entre les graisses alimentaires et les mutations KRAS dans le cadre du cancer colorectal au Maroc.

# Chapitre 2 - Association entre les facteurs nutritionnels et les mutations *KRAS* des cancers colorectaux (Article1)

# I- Stratégie de recherche

Afin d'identifier les différentes études rapportant des associations entre les facteurs nutritionnels et les mutations *KRAS* dans le cadre du CCR à l'échelle mondiale, cette recherche a été menée conformément aux directives PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses) pour les revues systématiques (142). Nous avons effectué un recensement exhaustif d'articles rédigés en anglais et indexés dans les bases de données de PubMed (http://www.ncbi.nlm.-nih.gov), Cochrane (www.thecochranelibrary.com) et ScienceDirect (https://www.sciencedirect.com). Les principaux termes de recherche comprenaient « facteurs nutritionnels = nutritional factors » ou « nutrition = nutrition » ou « nutriment = nutrient » ou « régime alimentaire = diet » ou « aliment = food » ET « mutation KRAS » ou « Kirsten rat sarcome » ou « K-ras » ou « Ki- ras » ou « KRAS2 » ou « K-ras2 » ou « Ki-ras2 » ET « cancer colorectal = colorectal cancer » ou « carcinome colorectal = colorectal carcinoma » ou « colon = colon » ou « rectum = rectum ». Pour éviter de louper des articles, la liste des références bibliographiques des articles inclus a été également vérifiée. Toutes les études identifiées et publiées jusqu'au 31 décembre 2019 ont été prises en compte dans notre revue systématique.

## 1- Critères d'inclusion et d'exclusion

Les études ont été incluses si elles exploraient l'association entre les facteurs nutritionnels et des mutations de *KRAS* chez des sujets humains dans le cadre du CCR. Nous avons exclu les études expérimentales sur des cellules humaines ou animales, et les études sur les mutations *KRAS* liées à d'autres types de cancer. Seules les études observationnelles ont été incluses (séries de cas, cas-témoins et études de cohorte).

## 2- Extraction de données

Toutes les études identifiées ont été examinées indépendamment par deux auteurs pour la pertinence des critères d'inclusion/exclusion. Les deux auteurs ont extrait les données spécifiques de chaque étude, notamment le nom du premier auteur, le pays, le schéma d'étude, le nombre de participants, l'année de publication, l'exposition et les facteurs de confusion, ainsi que les principaux résultats.

La recherche documentaire a identifié 2274 études. Après exclusion des études indexées en double dans les bases de recherches de PubMed, Cochrane et Science Direct, et après exclusion progressive des recherches hors du champ de notre revue (principalement des études *in vitro* et sur des animaux, des recherches impliquant d'autres types de cancers, et des études axées sur le

traitement du cancer ou sur la survie), il ne restait que 41 études éligibles pour une analyse plus approfondie via la lecture du texte intégral. 13 articles ont été exclus suite à cette étape pour les raisons suivantes : études expérimentales sur l'homme ou l'animal, études *in vitro*, ou études de synthèse bibliographique. Cela a abouti à 28 études originales incluses publiées entre 1997 et 2019. Le diagramme PRISMA du processus de revue systématique est illustré à la **figure 30.**

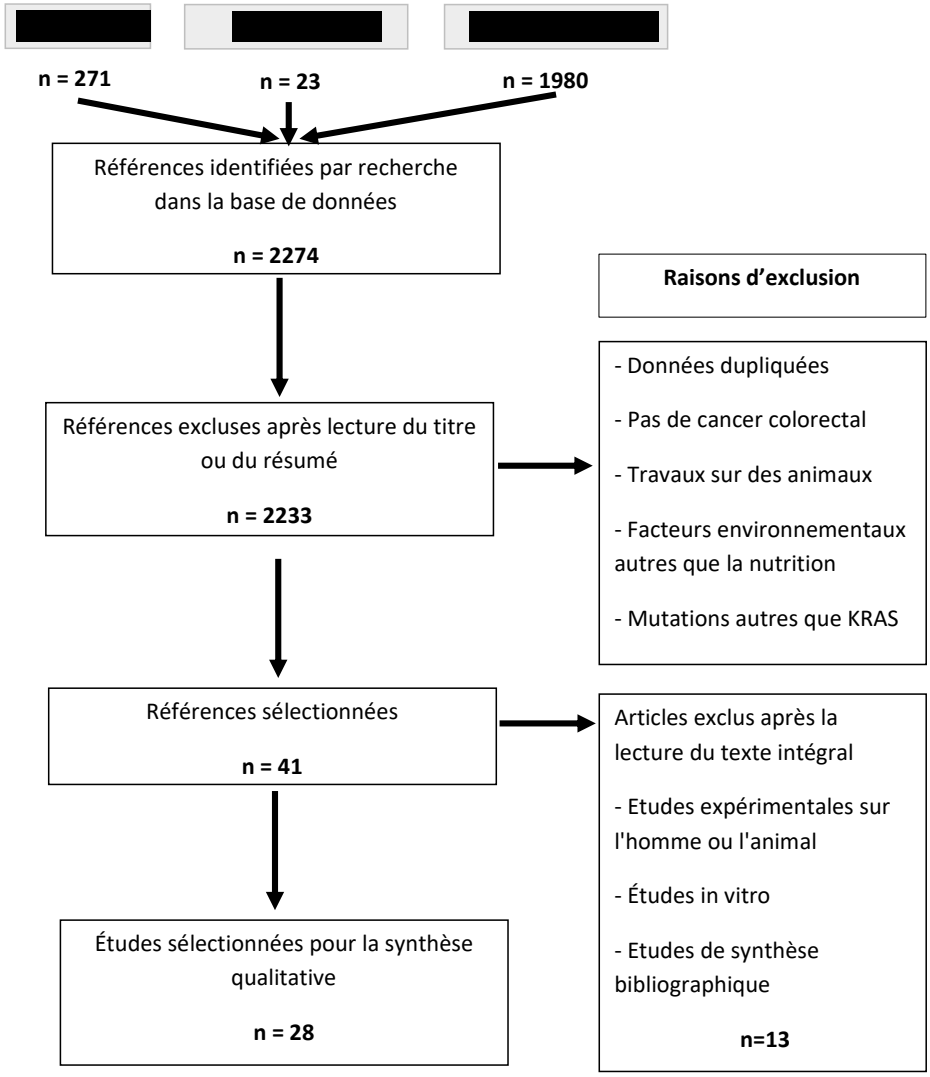



**Figure 30 Organigramme du processus de recherche systématique de la littérature conformément aux directives PRISMA.**

## II- Évaluation de la qualité des études incluses dans la revue systématique

La qualité des études incluses a été évaluée à l'aide des lignes directrices PRISMA (142) selon les critères suivants : 1- l'exactitude et la validité des questions ; 2- la représentabilité de la population étudiée ; 3- la force des résultats par rapport au schéma de l'étude ; et 4- les faiblesses méthodologiques de l'étude (les biais et les limites) (143). Les différents articles ont été à la fin classés selon le niveau de preuve des études : Niveau I : essais randomisés de grande envergure avec des résultats clairs ; Niveau II : Petits essais randomisés avec des résultats incertains ; Niveau III : Etudes cohortes ; Niveau IV : Etudes avec des cas et des controles ; Niveau V : Etudes avec des cas sans controles.

L'évaluation de la qualité des études sélectionnées est présentée dans le tableau 9. Elle montre que les études incluses avaient une qualité acceptable. Près des deux tiers d'entre elles étaient des études nichées dans des études cohorte ou dans des études cas-témoins à grande échelle.

Parmi les 28 articles inclus, douze étaient des études de cohorte ; douze étaient des études cas-témoins ; trois étaient des études de séries de cas et une étude concernait un rapport de cas. Toutes les études avaient pour objectif de déterminer un lien entre les facteurs nutritionnels connus ou suspectés pour le CCR et certaines mutations *KRAS*.

**Tableau 9 Évaluation de la qualité des articles publiés sur les facteurs nutritionnels et les mutations *KRAS* dans le cancer colorectal.**

| Référence | Pertinence pour cette revue systématique | Objectifs clairement énoncés | Méthode d'étude appropriée | Échantillon représentatif par rapport à la population cible | Prise en compte des biais de confusion | Bon taux de réponse | Les questions ont-elles été pilotées ? | Les tableaux et les figures étaient-ils compréhensibles ? | Les résultats peuvent-ils être appliqués à la situation locale ? | Accepté comme niveau de preuve de type IV ? |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **He et al., 2019** (144) | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Non (Type III) |
| **Keum et al., 2017** (145) | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Non (Type III) |
| **Mehta et al., 2017** (146) | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Non (Type III) |
| **Carr et al., 2017** (147) | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Non (Type III) |
| **Hogervorst et al., 2014** (118) | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Non (Type III) |
| **Jung et al., 2014** (148) | Oui | Oui | Oui | Non | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Non (Type III) |
| **Gilsing et al., 2013** (122) | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Non (Type III) |
| **Kamal et al., 2012** (149) | Oui | Oui | Oui | Non | Non | Oui | Non | Oui | Oui | Non (Type III) |
| **Razzak et al., 2012** (150) | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Non (Type III) |

| | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Ottini et al., 2011** (151) | Oui | Oui | Oui | Non | - | - | - | - | Non | Non (Type V) |
| **Naguib et al., 2010** (95) | Oui | Oui | Oui | Non | Non | Oui | Oui | Oui | Non | Non (Type V) |
| **Slattery et al., 2010** (152) | Oui | Oui | Oui | Non | Oui | Non | Oui | Oui | Oui | Non (Type III) |
| **Schernhammer et al., 2008** (153) | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Non (Type III) |
| **Weijenberg et al., 2007** (120) | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Non (Type III) |
| **Bongaerts et al., 2006** (154) | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Non (Type III) |
| **Wark et al., 2006** (141) | Oui | Oui | Oui | Non | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Non (Type III) |
| **Brink et al., 2005** (155) | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Non (Type III) |
| **Brink et al., 2005** (156) | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Non (Type III) |
| **Brink et al., 2004** (119) | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Non (Type III) |
| **Howsam et al., 2004** (157) | Oui | Oui | Oui | Non | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Non (Type III) |
| **Laso et al., 2004** (158) | Oui | Oui | Oui | Non | Non | Oui | Oui | Oui | Oui | Non (Type III) |

| | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Slattery et al., 2002** (159) | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Non (Type III) |
| **Slattery et al., 2001** (160) | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Non (Type III) |
| **Slattery et al., 2000** (161) | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | No (Type III) |
| **Kampman et al., 2000** (162) | Oui | Oui | Oui | Non | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Non (Type III) |
| **O'Brien et al, 2000** (163) | Oui | Oui | Oui | Non | Non | Oui | Oui | Oui | Oui | Non (Type V) |
| **Martinez et al, 1999** (164) | Oui | Oui | Oui | Non | Oui | Oui | Oui | Oui | Non | Non (Type V) |
| **Bautista et al., 1997** (139) | Oui | Oui | Oui | Non | Oui | Oui | Oui | Oui | Oui | Non (Type III) |

# III- Résultats apportés par les études incluses dans la revue systématique

Certains articles ont étudié un seul type d'aliment ou de nutriment, tandis que d'autres en ont abordé plusieurs. Les facteurs nutritionnels étudiés comprenaient la viande, les fruits et légumes, les fibres, les produits laitiers, le café et le thé, les aliments à base d'acrylamide, les boissons alcoolisées et les composés organochlorés, ainsi que de nombreux nutriments, y compris les vitamines (A, B1, B2, B6, B9, B12, D, E), le calcium, les protéines animales, le fer héminique et les graisses.

## 1- Associations entre les aliments et le statut mutationnel de *KRAS*

**Aliments riches en acrylamide** : l'acrylamide, présent dans les aliments riches en glucides traités thermiquement tels que le café, les pommes de terre cuites par friture ou au four, et les produits de boulangerie, a été classé par le Centre international de Recherche sur le Cancer (CIRC) comme un cancérogène probable pour l'homme (groupe 2A) (IARC). Une seule étude sur les 28 incluses dans cette revue s'est concentrée sur le lien entre les mutations *KRAS* et l'acrylamide. Cette étude était de type série de cas nichée dans une cohorte néerlandaise sur l'alimentation et le cancer portant sur 120 852 participants (58 279 hommes et 62 573 femmes), avec 733 tumeurs disponibles pour l'analyse moléculaire. Les résultats de cette étude ont indiqué que l'apport en acrylamide alimentaire était positivement associé au risque de CCR, avec l'activation des mutations *KRAS* chez les hommes mais pas chez les femmes (118).

**Boissons alcoolisées** : sur la base d'une étude de série de cas nichée dans la cohorte néerlandaise sur l'alimentation et le cancer (NLCS), Bongaerts et al, ont conclu que la consommation d'alcool n'affectait pas le statut mutationnel KRAS (154), bien qu'ils reportent une association positive avec la bière. En revanche, l'étude de Slattery a montré une association positive entre une consommation élevée d'alcool et des tumeurs hébergeant des mutations *KRAS* (161). Enfin, deux études de séries de cas n'ont signalé aucune association (95,164)

**Café et thé** : Il a été démontré que la caféine et la théophylline présentes dans le café et le thé n'ont aucune influence sur le risque de cancer du côlon (166). Les études sur le café et le thé et leur relation avec les mutations *KRAS* sont rares. Nous n'avons identifié que deux études sur le

thé (141,149) et deux études sur le café ou la caféine (51,149,160), qui n'ont rapporté aucune association entre la consommation de thé ou de café et les mutations *KRAS*.

**Produits laitiers** : Les études sur les associations entre les mutations *KRAS* et les produits laitiers étaient incohérentes. Slattery et al. et Wark et al. n'ont montré aucune association entre les produits laitiers et la mutation *KRAS* (141,152), alors que Kampman et al. ont observé que les régimes alimentaires pauvres en produits laitiers étaient plus susceptibles d'être associés à des tumeurs abritant des mutations *KRAS* dans le codon 12 (162).

**Fibres alimentaires** : Nous avons identifié deux études cas-témoins révélant qu'une consommation élevée de fibres était associée à un risque réduit de CCR avec mutation *KRAS* (152,158). Cependant, aucune association n'a été rapportée dans trois autres études (une cohorte et deux études de séries de cas) (95,144,164).

**Fruits et légumes** : dans une étude cas-témoins qui s'est intéressée à l'association entre les légumes et les mutations *KRAS*, une consommation élevée de légumes était significativement associée à un risque réduit de mutations *KRAS* (152), alors que deux étude cas-témoins ont montré que de faibles niveaux de consommation de légumes crucifères étaient associés à un risque réduit d'avoir des mutations *KRAS* (161).

D'autres recherches ont montré que la distribution des mutations spécifiques *KRAS* peut varier en fonction de la consommation de fruits et légumes. Ainsi, dans l'étude de Kamal et al., les patients qui ont développé un adénome hébergeant une mutation *KRAS* sur le codon 13 ont consommé moins de fruits et légumes, et les patients avec des mutations de transversions touchant le codon 12 ont consommé plus de fruits et de légumes à feuilles vertes par rapport aux patients avec des mutations de transition affectant le codon 12. Alors que dans l'étude de Naguib et al., les individus porteurs de cancers avec *KRAS* muté (transitions G >A) ont consommé moins de fruits et légumes (95).

Enfin, slattery et al, n'a signalé aucune association significative entre le statut KRAS et la consommation de légumes crucifères (159).

**Viande (viande rouge, viande blanche et poisson)**

**Poisson** : Aucune des quatre études identifiées qui s'intéressait au poisson n'a montré d'association entre la consommation de poisson et le statut de mutation KRAS (95,152,155,162).

**Viande rouge** : les études identifiées ont donné des résultats incohérents concernant l'association entre la viande rouge et les mutations KRAS. Slattery et al. n'ont trouvé dans leur étude cas-témoins aucune association significative entre les produits carnés frais et le cancer du côlon ou du rectum, ni globalement ni en ce qui concerne le statut de mutation *KRAS* (152,159). La viande rouge n'était pas non plus associée à des mutations *KRAS* dans une étude cas-témoins de Kampman et al. (162), et des études de séries de cas d'O'Brien et al (163), et Martinez et al. (164). Cependant, Carr et al. ont rapporté dans une étude cas-témoins avec des patients atteints de cancer du côlon, l'existence d'associations positives entre une consommation plus élevée de viande rouge et des mutations *KRAS* (147).

**Viande blanche** : Naguib et al. ont trouvé une association entre les mutations de KRAS et la consommation de viande blanche (95), tandis que Kampman et al. ont observé des différences substantielles selon le codon KRAS affecté. En fait, ils ont constaté que la consommation de volaille (par 17 g) était inversement associée à la mutation du codon 13 de *KRAS*, et positivement associée à la mutation du codon 12 de KRAS (162).

**Composés organochlorés** : L'alimentation est une source importante d'exposition à de nombreux produits chimiques organiques synthétiques utilisés dans l'industrie et l'agriculture, y compris les composés organochlorés industriels, qui ont été classés comme « probablement » ou « possiblement » cancérogènes pour l'homme (165). Dans une étude cas-témoins menée en Espagne, les chercheurs ont découvert qu'une concentration sérique plus élevée de composés organochlorés était associée à un risque élevé de cancer colorectal avec *KRAS* sauvage mais pas avec *KRAS* muté (157).

## 2- Associations entre les nutriments et le statut mutationnel de *KRAS*

**Protéines animales** : il a été démontré que des niveaux élevés de protéines animales sont associés à un risque accru de tumeurs rectales (152). Une association possible avec la mutation du codon 12 de KRAS a été mise en évidence dans une étude de rapport de cas qui a rapporté l'autopsie d'un roi italien (151). Une association a également été détectée dans une étude cas-témoins dans laquelle un apport élevé en protéines animales était positivement associé à des tumeurs du côlon présentant des mutations du codon 12 (162).

**Calcium** : Les études épidémiologiques ont fourni des résultats mitigés concernant l'apport en calcium et les mutations KRAS. En fait, certains chercheurs ont signalé un rôle protecteur de

l'apport en calcium, qui était associé à une diminution de risque d'avoir des tumeurs KRAS+ (139,158). D'autres études n'ont pas trouvé d'association spécifique entre le calcium alimentaire et les tumeurs présentant des mutations *KRAS* (95,141,145,164). Dans l'étude de Kampman et al., les tumeurs du côlon avec des mutations du codon 12 et 13 du gène *KRAS* étaient différemment associées à l'apport en calcium, avec une association positive entre le calcium et les mutations dans le codon 12, et des associations inverses dans le codon 13 (162).

**Fer héminique** : Le fer héminique est un élément que l'on trouve exclusivement dans les produits d'origine animale et notamment dans la viande rouge. Gilsing et al. ont montré que l'apport en fer héminique était associé à un risque accru de CCR hébergeant des transitions activatrices G > A dans les mutations *KRAS* (122). Laso et al., cependant, ont fourni des résultats contradictoires : les patients porteurs de mutations KRAS dans le codon 12 ont consommé significativement moins de fer que les témoins. De plus, une analyse multivariée de l'apport en fer héminique, ajusté en fonction de l'âge et de l'énergie, et comparé aux témoins et à chaque sous-type moléculaire de CCR n'a montré aucun OR significatif (158).

**Graisse** : La graisse a reçu beaucoup d'attention dans la recherche de son impact potentiel sur le CCR ; néanmoins, le lien entre l'apport en graisses et le statut mutationnel de KRAS dans le CCR est largement incohérent. Nous avons identifié un certain nombre d'études, et beaucoup n'ont pas observé d'association entre un apport élevé en graisses totales et le risque de CCR avec mutations KRAS (95,139,152,161,162,164). D'autres études identifiées ont révélé qu'une consommation élevée d'acides gras polyinsaturés, en particulier d'acide linoléique, était associée à un risque accru de mutations KRAS(120,141,167). Slattery et al. ont observé que les graisses saturées et monoinsaturées, mais pas les graisses polyinsaturées, étaient associées à un risque accru de tumeurs du côlon, avec des mutations spécifiques de KRAS au codon 12 (Slattery et al., 2000). Un apport élevé en graisses monoinsaturées, principalement dérivées de l'huile d'olive dans le régime alimentaire espagnol, s'est avéré être significativement associé à une diminution du risque de cancer avec le génotype KRAS (120).

**Vitamines B (B1, B2, B6, B9, B12) :** Un faible apport en vitamine B1 était associé à des mutations KRAS dans le codon 12 mais pas dans le codon 13 dans l'étude de Laso et al. (158). La vitamine B2 était différemment associée au risque d'adénomes KRAS+ et KRAS- (141). En fait, l'apport de vitamine B2 était plutôt positivement, mais pas significativement, associé aux adénomes KRAS+. Cependant, l'étude de Naguib n'a détecté aucune association entre cette vitamine et les mutations KRAS (95).

Quant à la vitamine B6, l'étude prospective sur la santé des femmes de l'Iowa qui comprenait 41 836 femmes âgées, n'a révélé aucune association entre l'apport en cette vitamine et les mutations *KRAS* (150). De même, deux autres études ont rapporté le même résultat (95,161).
Les résultats sur le folate alimentaire ou le folate des globules rouges (vitamine B9) en relation avec les mutations *KRAS* dans les tumeurs colorectales étaient incohérents. Dans certaines études, les mutations *KRAS* n'étaient pas significativement associées au manque de folate (95,150,153,161). Dans d'autres études, un risque plus élevé de mutations *KRAS* était associé à un apport plus faible en folate total ou en folate de globules rouges (149,158,164). Dans l'étude de Brink et al., des différences dans les associations entre le cancer du côlon et le cancer rectal ont été observées. L'apport alimentaire en folate n'était pas significativement associé au statut de mutation *KRAS* dans le cancer du côlon, mais il était associé aux tumeurs mutées par KRAS dans le cancer rectal, et les effets du folate sur le risque de cancer rectal ont montré des différences chez les hommes par rapport aux femmes (155).
Concernant la vitamine B12, les résultats étaient également contradictoires. Dans l'étude prospective sur la santé des femmes de l'Iowa (150), et dans l'étude de Naguib et al., les chercheurs n'ont pas observé d'association entre l'apport en vitamine B12 et le risque global de CRC ou de mutations *KRAS* chez les femmes plus âgées (95). Alors que dans une étude qui comprenait des informations tirées de base de données de deux cohortes prospectives indépendantes comprenant 88 691 femmes et 47 371 hommes, un apport élevé en vitamine B12 était inversement associé au cancer du côlon, quel que soit le statut KRAS (153). À l'inverse, de faibles niveaux d'apport en vitamine B12 étaient associés à un risque réduit ou à des mutations KRAS dans une étude cas-témoins multicentrique sur le cancer du côlon (Slattery et al., 2000).

**Vitamine C** : Une seule étude a été menée pour rechercher une éventuelle association entre l'apport en vitamine C et les tumeurs présentant des mutations *KRAS*, mais les résultats trouvés ne soulignent aucune association (95).

**Vitamine D** : Malgré l'accumulation de preuves de l'effet préventif de la vitamine D sur la cancérogenèse colorectale, ses mécanismes précis restent flous (148). Jung et al. ont constaté qu'un score de vitamine D prédit plus élevé était significativement associé à un risque plus faible de cancer colorectal, mais aucune relation directe avec le gène *KRAS* n'a été identifiée (148). Naguib et al. ont trouvé le même résultat (95). Cependant, Laso et al. ont observé que les mutations *KRAS* dans le codon 12 étaient significativement associées au manque de vitamine D, suggérant le rôle protecteur de cette vitamine (158).

**Vitamine E** : Un apport plus faible en vitamine E était associé à un risque accru de CCR. Néanmoins, aucune association avec le statut de mutation *KRAS* n'a été observée (158).

**Le tableau10** illustre les principaux résultats pertinents pour chacun des aliments et nutriments étudiés (classés par ordre chronologique).

**Tableau 10 Principaux résultats des études incluses**

| Référence | Schéma d'étude | Localisation géographique | Taille de l'échantillon | Ethnicité | Objectif principal | Expositions pertinentes | Facteurs de confusion | Groupes de comparaison | Principaux résultats |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **He et al, 2019** (144) | Deux grandes études cohorte prospectives: Nurses' Health Study (NHS), 1980–2012) et Health Professionals Follow-up Study (HPFS), (1986–2012). | Etats unis<br>- Nurses' Health Study (NHS): 11 États américains<br>- Health Professionals Follow-up Study (HPFS): 50 États américains. | - Un total de 138,793 participants ont été inclu : 90,869 de NHS et 47,924 from de HPFS.<br>- 1,337 cas avec mutation KRAS. | Non spécifiée | Apport alimentaire en fibres, céréales complètes et risque du cancer colorectal. | - Total de fibres (par 5 g/jour)<br>- Fibres de céréales (par 5 g/jour)<br>- Fibres de fruits (par 5 g/jour)<br>- Fibres de légumes (par 5 g/jour)<br>- Grains entiers (par 20 g/jour). | Âge, antécédents familiaux de CCR, antécédents de troubles gastro-intestinaux inférieurs endoscopie, tabagisme, indice de masse corporelle, activité physique, consommation d'alcool, consommation régulière d'aspirine, consommation régulière de multivitamines, apport total en folates, apport en calcium, apport en vitamine D, charge glycémique, consommation de viande rouge transformée, utilisation d'hormones. | - Groupe I : KRAS+<br>- Groupe II : KRAS- | Absence d'association |
| **Keum et al, 2019** (145) | Deux études de cohorte prospectives en cours : the Nurses' Health Study (NHS) (1980–2010), et the Health Professionals Follow-up Study (HPFS) (1986–2010). | Etats Unis:<br>- NHS: 11 Etats américains.<br>- HPFS: 50 Etats américains. | - 88,506 femmes Et 47,733 hommes<br>- 853 cas de CCR. | Non spécifiée | Apport en calcium et risque de cancer du côlon selon les caractéristiques moléculaires de la tumeure. | Apport total en calcium (mg/j). | Âge, sexe, caucasien (oui vs. non), antécédents familiaux de CCR, antécédents de sigmoïdoscopie/coloscopie, utilisation régulière d'aspirine, tabagisme, IMC, activité physique, scores de 25-hydroxyvitamine D, apports énergétiques, alcool, viande rouge et transformée et folate. | - Groupe I : KRAS+<br>- Groupe II : KRAS- | Absence d'association |

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Mehta et al., 2017** (146) | Deux études cohort en cours, the Health Professionals Follow-up Study (HPFS) et the Nurses' Health Study (NHS). | Etats Unis:<br>- NHS: 11 Etats américains.<br>- HPFS: 50 Etats américains | - 137,217 participants (47,449 hommes et 89,768 femmes).<br>- 1,285 tumeurs pour le statut mutationnel KRAS. | Non spécifiée | Diététique occidenatle et prudente: modèles et risque de CCR. | Score des modèles alimentaires occidentaux et prudents. | Âge, sexe, antécédents familiaux de CCR, antécédents de troubles gastro-intestinaux inférieurs endoscopie, tabagisme, IMC, activité physique, AINS et apport calorique total. | - Groupe I : KRAS+<br>- Groupe II : KRAS- | Aucune association avec des tumeurs porteuses de la mutation *KRAS*. |
| **Carr et al. , 2017** (147) | Etude cas-témoins | Sud-ouest de l'Allemagne | - 2449 cas et 2479 témoins. | Non spécifiée | Association entre la consommation de viande rouge et viande transformée et mutations *KRAS* | Viande rouge et transformée (fréquence : fois/jour). | Âge, sexe, scolarité, IMC, antécédents familiaux de CCR, antécédents de gros intestin, endoscopie, participation à un bilan de santé, tabagisme, utilisation régulière d'AINS, consommation de fruits et de céréales complètes. | - Groupe I: KRAS+<br>- Groupe II : KRAS- | Association positive entre la consommation plus élevée de viande rouge et transformée et la mutation *KRAS* (OR> 1 fois/jour vs ≤ 1 fois/semaine : 1,49, IC à 95 % : 1,09-2,03). |
| **Hogervorst et al., 2014** (118) | Étude de cohorte de cas nichée dans l'étude Netherlands Cohort Study on diet and cancer (NLCS). | Pays-Bas (204 communes avec registres de population informatisés). | - 120,852 participants (58,279 hommes + 62,573 femmes)<br>- Sous-cohorte (n = 5000)<br>- 733 cas de CCR disponibles pour analyse moléculaire | Non spécifiée | L'acrylamide et le risque de CCR caractérisé par des mutations *KRAS* et *APC*. | Apport d'acrylamide (g/jour). | Âge, tabagisme, IMC, antécédents familiaux de CCR, apport énergétique total. | - Groupe I: KRAS+<br>- Groupe II: KRAS$^{-}$ | Association positive avec la consommation d'acrylamide chez les hommes (HR [4e quartile vs. 1er] = 2,12 ; IC à 95 % : 1,16-3,87 ; p = 0,01). |

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Jung et al., 2014** (148) | 2 cohortes: the Health Professionals Follow-up Study (HPFS) et the Nurses' Health Study (NHS) (1986 – 2008). | Etats Unis:<br>- NHS: 11 États américains<br>- HPFS: 50 États américains. | - 140,418 participants.<br><br>- 1059 cas incidents de CCR avec données moléculaires tumorales. | Non spécifiée | Association entre vitamine D et le risque de CCR. | - Score prévu de vitamine D (ng/mL) | Âge, sexe, famille, antécédents d'endoscopie, consommation d'aspirine, tabagisme, consommation totale de fruits et légumes, calories totales. | - Groupe I : $KRAS^{+}$<br>- Groupe II: $KRAS^{-}$. | Association négative entre le score prévu plus élevé de vitamine D et la mutation *KRAS* (HR = 0,70 ; IC à 95 % : 0,50-0,98). |
| **Gilsing et al., 2013** (122) | Étude de cohorte lancée en septembre 1986. | Pays-Bas (204 communes avec registres de population informatisés). | Les cas ont été dénombrés à partir de toute la cohorte (120 852 hommes et femmes).<br>- les années-personnes accumulées de l'ensemble de la cohorte ont été estimées à partir d'une sous-cohorte aléatoire de 5000 hommes et femmes.<br>- 733 cas de CRC étaient disponibles pour l'analyse moléculaire. | Non spécifiée | Apport alimentaire en fer héminique et risque de CCR avec mutations *APC* et *KRAS* et surexpression de p53 | Apport alimentaire en fer héminique (g/day) | Âge, sexe, IMC, antécédents familiaux de CCR, tabagisme, activité physique non professionnelle, apport énergétique total, consommation d'alcool, consommation totale de légumes. | - Groupe I: type sauvage de KRAS<br>- Groupe II: mutant actif de type KRAS | Association positive avec l'apport en fer héminique (HR = 1,71 ; IC à 95 % : 1,15-2,57 ; p = 0,03) |
| **Kamal et al., 2012** (149) | Étude de cohorte rétrospective | Egypte. Hôpital Kasr El Aini, Université du | 80 patients avec CCR (56 hommes et 24 femmes). | Non spécifiée | Associations entre la mutation *KRAS* et les | Viande, légumes à feuilles vertes, thé et café < 3 fois/semaine versus plus de 3 | Non mentionné | - Groupe I : KRAS+<br>- Groupe II : $KRAS^{-}$ | Lien potentiel entre l'acide folique et la mutation *KRAS*, suggérant que l'acide |

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Caire. | | | variables potentielles connues ou suspectées d'être liées au risque de CCR. | fois/semaine.<br>Acide folique des globules rouges (ng/mL). | | | folique peut être un facteur de risque pour le développement d'une mutation *KRAS*.<br>- L'OR pour l'acide folique était de 0,983 pour chaque 1 ng/mL supérieur de folate. |
| **Razzak et al., 2012** (150) | Étude de cohorte: Iowa Women's Health Study. | Iowa, Etats-Unis | - n = 41,836<br>- 514 des cas incidents de CCR étaient disponibles pour les tests de marqueurs moléculaires. | Femmes caucasiennes. | Associations entre le folate alimentaire, la vitamine B6, la vitamine B12 et la méthionine avec différentes voies dans le CCR. | - Folate (µg/jour)<br>- Vitamine B6 (mg/jour)<br>- Vitamine B12 (µg/jour)<br>- Methionine (g/jour). | Âge, IMC, rapport taille-hanches, statut tabagique, consommation d'œstrogènes exogènes, niveau d'activité physique et apport quotidien en énergie totale, lipides totaux, saccharose, viande rouge, calcium, méthionine, vitamine E, alcool. | - Groupe I: KRAS+<br>- Groupe II: $KRAS^-$ | Aucune des expositions alimentaires n'était associée aux sous-types de CCR définis par *KRAS*. |
| **Ottini et al., 2011** (151) | Etude de cas | Italie | 1 individu (Le roi Ferrante I d'Aragon). | Caucasien | Explication de la mort du roi Ferrante $I^{er}$ | Analyse des isotopes de Carbone ($\delta$-$^{13}C$) et nitrogène ($\delta$-$^{15}N$). | Non mentionnés | - | L'abondance possible de cancérogènes alimentaires, liée à la consommation de viande, pourrait expliquer la mutation *KRAS* à l'origine de la tumeur colorectale qui a tué Ferrante $I^{er}$ il y a plus de 5 siècles. |
| **Naguib et al., 2010** (95) | Série de cas. | Norfolk, Royaume-Uni. | -25 639 à partir de l'EPIC Norfolk cohort (1993 – 1997).<br>- 202 cas de CCR ont été | Non spécifiée | Associations entre les mutations *BRAF* et *KRAS* et les facteurs | Alcool (g/jour), viandes (g/jour), dont les viandes rouges, transformées, viandes blanches, poissons blancs, et | Non mentionnés | - Groupe I: Patients avec $KRAS^+$<br>- Groupe II: Patients avec $KRAS^-$ | - La mutation *KRAS* était associée à une augmentation de la consommation de viande blanche ($p < 0,001$ ; ANOVA) |

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | testés pour la mutation KRAS. | | clinicopathologiques, le style de vie et l'alimentation dans le CCR. | poissons gras, fruits et légumes, Matière grasse dont la matière grasse totale, PUFA, MUFA, SFA, vitamines B2, B3, B6, B9, B12, C et D, les fibres et macronutriments : énergie totale (MJ/jour), glucides (g/jour), protéines (g/jour), polysaccharides non amylacés (g/jour), calcium (mg/jour). | | | - Des associations *KRAS* (G à A) ont été trouvées chez les individus ayant une consommation significativement plus faible de fruits ou de légumes (p =0,02). |
| **Slattery et al., 2010** (152) | Étude cas-témoins des participants de Kaiser Permanente Medical Care Program study. | Le nord de la Californie et Utah, Etats Unis. | - 951 cas<br>- 1205 témoins | 82% blancs, non hispanique, 4.1% Américains africains, 7.6% Hispaniques, 4.6% Asiatiques, 0.7% Américains indiens, et 1% de plusieurs races. | Associations entre l'alimentation, l'activité physique et la taille corporelle avec les mutations tumorales rectales et les changements épigénétiques. | Aliments et régimes alimentaires impliquant des produits laitiers riches en matières grasses, faibles en matières grasses, fruits, légumes, viande rouge, poisson, grains entiers, céréales raffinées, régime occidental, et régime prudent.<br>- Nutriments : calories, SFA, MUFA, PUFA, gras trans, gras oméga-3, protéines animales, protéines végétales, glucides, fibres | Âge, sexe, consommation récente d'aspirine, niveau d'activité à long terme, paquets-années de tabagisme, calcium alimentaire, apport énergétique. | - Groupe I: CpG Phénotype du méthylateur des îles CIMP+<br>- Groupe II: mutation TP53<br>- Groupe III: mutation KRAS2$^{+}$<br>- Groupe IV: les témoins. | - Des niveaux élevés de consommation de légumes ont réduit le risque de mutations *KRAS* (OR = 0,60 ; IC à 95 % : 0,40-0,89 ; p < 0,01)<br>- Les fibres alimentaires étaient associées à un risque réduit de mutations tumorales rectales *KRAS*.<br>- Un régime alimentaire prudent a significativement réduit le risque de mutation *KRAS* (OR = 0,68, IC à 95 % : 0,47-0,98 ; p < 0,03).<br>- Pas de résultat |

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | alimentaires. | | | significatif pour les autres facteurs. |
| **Schernhammer et al., 2008** (153) | Deux études de cohorte prospectives: NHS et HPFS. | Etats Unis:<br>- NHS: 11 États américains<br>- HPFS: 50 États américains. | - 88,691 femmes et 47,371 hommes<br>- 669 des cas incidents de CCR étaient disponibles pour l'analyse moléculaire. | Non spécifiée | Association entre l'apport alimentaire en folates, la vitamine B et l'incidence de la mutation *KRAS* dans les cancers du côlon. | Folate (µg/jour). | Âge, sexe, apport énergétique, sigmoïdoscopie de dépistage, antécédents familiaux, utilisation d'aspirine, tabagisme, activité physique, IMC en 5 catégories, polypes du côlon, apport de bœuf, apport en calcium, utilisation de multivitamines, consommation d'alcool et apport en vitamines B6, B12 et méthionine. | - Groupe I: $KRAS^-$ chez les cas ayant le cancer<br>- Groupe II: $KRAS^+$ chez les cas ayant le cancer | De faibles apports en folate et en vitamine B6 étaient associés à un risque accru de cancer du côlon, mais ces effets ne différaient pas significativement selon le statut mutationnel de *KRAS*. |
| **Weijenberg et al., 2007** (120) | Etude de cohorte: Netherlands Cohort Study on diet and cancer (NLCS). | Pays-Bas (204 communes avec registres de population informatisés). | - 531 cas incidents de CCR étaient disponibles pour l'analyse moléculaire. | Non spécifiée | Apport de base de graisse par rapport au risque de tumeurs du côlon et du rectum avec certaines altérations génétiques. | Variables de matières grasses (g/jour), y compris matières grasses totales, SFA, MUFA, PUFA, acide linolénique, acide linoléique. | Âge, sexe, IMC, antécédents familiaux de CCR, apport énergétique quotidien, apport quotidien en acide linoléique, apport quotidien en calcium, tabagisme. | - Groupe I: cancer du côlon sans aberrations génétiques<br>- Groupe II: cancer du côlon avec des mutations *KRAS* actives. | - Aucune association avec matières grasses totales, acides gras saturés, MUFA et PUFA.<br>- L'acide linoléique a montré une association positive avec la mutation KRAS (RR = 1,41, IC 95% : 1,18-1,69). |
| **Bongaerts et al., 2006** (154) | Étude de cohort prospective: Netherlands Cohort Study on diet and cancer (NLCS). | Pays-Bas (204 communes avec registres de population informatisés). | La cohorte concernait 58 279 hommes et 62 573 femmes.<br>- 578 des cas incidents de CCR étaient disponibles pour l'analyse | Non spécifiée | Associations entre la consommation d'alcool et de boissons alcoolisées et le risque de CCR sans et avec des | Consommation d'alcool : alcool total (g/jour), bière (verres/semaine), vin (verres/semaine), spiritueux (verres/semaine). | Âge, antécédents familiaux de CCR, IMC, apport en calcium, apport linoléique, tabagisme, consommation totale d'alcool. | - Groupe I : cancer de colon avec, $KRAS^+$<br>- Groupe II: cancer de colon avec $KRAS^-$<br>- Groupe III: cancer de rectum avec | - Aucune association entre l'alcool et les mutations *KRAS*.<br>- Association positive avec la consommation de bière (RR : 3,48 ; IC à 95 % : 1,1-11,0). |

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | moléculaire. | | mutations spécifiques du gène *KRAS*. | | | KRAS$^{+}$<br>- Groupe IV : cancer de rectum avec KRAS-<br>- Hommes et femmes analysés séparément. | |
| Wark et al., 2006 (141) | Etude cas-témoins | Pays-Bas (patients externes de 10 hôpitaux). | - 658 cas<br>- 709 témoins | Non spécifiée | Associations entre l'alimentation, le mode de vie et les mutations KRAS. | - Aliments (g/jour) : produits laitiers, viande rouge, thé<br>- Macronutriments (g/jour) : graisses alimentaires totales, PUFA, MUFA, protéines.<br>- Micronutriments (mg/jour) : calcium, vitamine B2. | Sexe, âge, énergie totale. | - Groupe I: patients avec *KRAS*$^{+}$<br>- Groupe II: patients avec *KRAS*$^{-}$<br>- Groupe III: témoins | Pas de résultats significatifs :<br>- Viande rouge OR = 1,70 (IC à 95 %, 0,94-3,09), risque potentiel, résultat non statistiquement significatif<br>- Matières grasses alimentaires totales OR = 0,55 (IC à 95 %, 0,28-1,06)<br>- PUFA OR = 0,58 (IC 95%, 0,31-1,10)<br>- Aucune différence par rapport au risque d'adénomes avec *KRAS* muté n'a pu être détectée pour d'autres facteurs. |
| **Brink et al., 2005** (155) | Etude de cohorte: Netherlands Cohort Study on diet and cancer (NLCS). | Pays-Bas (204 municipalités néerlandaises avec registres de population informatisés). | -2948 membres d'une sous-cohorte.<br>-608 cas incidents de cancer du côlon et du rectum | Non spécifiée | Association entre la viande et les mutations *KRAS* dans le cancer sporadique du | Viande (g/jour) : viande fraîche totale, bœuf, porc, viande hachée, foie, poulet, autres viandes, produits carnés, poisson. | Âge, sexe, indice de Quetelet, tabagisme, apport énergétique, antécédents familiaux de CCR. | - Groupe I: patients avec *KRAS*<br>- Groupe II: patients avec G>C or G>T activation de la | - Pour les produits carnés, association positive montrée (RR pour le quartile d'apport le plus élevé vs le plus bas = 2,37 ; IC à 95 % : 0,75 à |

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | étaient disponibles pour l'analyse moléculaire. | | côlon et du rectum. | | | mutation *KRAS*<br>- Groupe III: patients avec G>A activation de la mutation *KRAS*.<br>- Groupe IV: patients avec *KRAS*$^{-}$. | 7,51 ; P = 0,07)<br>- Aucune association claire n'a été observée pour la viande fraîche totale, les différents types de viande fraîche, les produits carnés et le poisson. |
| **Brink et al., 2005** (1) | Etude de cohorte: Netherlands Cohort Study on diet and cancer (NLCS). | Pays-Bas (204 municipalités néerlandaises avec registres de population informatisés). | - 3048 membres d'une sous-cohorte. (1,475 hommes et 1,573 femmes).<br>- 608 cas incidents de CCR étaient disponibles pour l'analyse moléculaire. | Non spécifiée | Association entre le folate alimentaire et les mutations spécifiques de *KRAS* dans le CCR. | - Folate (µg /jour). | Âge, sexe, IMC, tabagisme, alcool, viande fraîche, apport énergétique, antécédents familiaux de CCR, vitamine C, fer, fibres. | - Groupe I: cancer du côlon, *KRAS* $^{+}$<br>- Groupe II: cancer du côlon, *KRAS*$^{-}$<br>- Groupe III: cancer de rectum, *KRAS*$^{+}$<br>- Groupe IV: cancer de rectum, *KRAS*$^{-}$. | - Chez les femmes : l'apport en folates était associé à un risque accru de mutation *KRAS* G>T et G>C (RR = 2,69 ; IC 95%, 1,43-5,09) mais inversement associé à G>A (RR = 0,08 ; IC 95% , 0,01-0,53)<br>- Chez les hommes : l'apport en folates était associé à une diminution du risque de mutation *KRAS* (RR = 0,40 ; IC 95%, 0,17-0,89). |
| **Brink et al., 2004** (119) | Etude de cohorte: Netherlands Cohort Study on diet and cancer (NLCS). | Pays-Bas (204 communes avec registres de population informatisés). | - 2948 membres d'une sous-cohorte<br>- 608 cas incidents de CCR étaient disponibles pour l'analyse moléculaire. | Non spécifiée | Associations entre l'apport alimentaire de diverses graisses et des mutations spécifiques de *KRAS* dans le CCR. | Variables de matières grasses (g/jour) :<br>- Graisse totale<br>- SFA<br>- MUFA<br>- PUFA<br>- Acide linolénique<br>- L'acide linoléique. | Âge, sexe, indice de Quetelet, tabagisme, apport énergétique, antécédents familiaux de CCR. | - Groupe I: cancer de côlon, *KRAS*$^{+}$<br>- Group II: cancer de côlon, *KRAS*$^{-}$<br>- Group III: cancer de rectum, *KRAS*$^{+}$<br>- Group IV: | - Aucune association avec la consommation de graisses totales, de SFA et de MUFA<br>- Association positive avec une consommation élevée de PUFA et d'acide linoléique (RR pour 1 écart-type |

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | cancer de rectum, *KRAS*$^{-}$. | d'augmentation d'AGPI et d'acide linoléique = 1,21 ; IC à 95 %, 1,05-1,41 ; et 1,22 ; IC à 95 %, 1,05-1,42). |
| **Howsam et al., 2004** (157) | Etude cas-témoins | Barcelone, Catalogne, Espagne. | Sous-échantillon de cas (n = 132) et de témoins hospitaliers (n = 76) sélectionnés à partir d'une étude cas-témoins plus vaste. | Non spécifiée | Association entre le risque de CCR et l'exposition aux composés organochlorés. | Différents types d'organochlorés :<br>- p,p´-DDE (faible, moyen, élevé)<br>- α-HCH (faible, moyen, élevé)<br>- PCB-28 (faible, moyen, élevé)<br>- PCB-118 (faible, moyen, élevé). | Âge, sexe, IMC, apport énergétique. | - Groupe I: KRAS$^{-}$<br>- Groupe II: KRAS$^{+}$ | - L'exposition aux mono-ortho PCB-28 et PCB-118 augmente le risque de tumeur avec KRAS$^{+}$<br>- PCB-28 OR = 2,83 (IC à 95 %, 1,13-7,06).<br>- PCB-118 OR = 1,64 (IC à 95 %, 0,67–4,01). |
| **Laso et al., 2004** (158) | Etude cas-témoins | Catalogne, Espagne. | - 246 cas<br>- 296 témoins | Non spécifiée | Association entre l'apport en micronutriments spécifiques et la mutation *KRAS* dans le CCR. | - Fibre (g/jour)<br>- Folate (µg/jour)<br>- Vitamines A (µg/jour), B1 (mg/jour), D (µg/jour), E (mg/jour)<br>- Potassium (mg/jour)<br>- Calcium (mg/jour)<br>- Fer (g/jour) | Non mentionés | - Groupe I: les témoins<br>- Groupe II: patients avec CCR<br>- Groupe III: patients avec *KRAS* | - Faible apport en vitamine E (OR = 2,3 ; IC 95%, 1,2-4,6)<br>- Faible apport en vitamine D OR = 2 (IC 95%, 1.1-4.2)<br>- Faible apport en vitamine B1 OR = 2,5 (IC 95%, 1,2-5,1)<br>- Faible apport en vitamine A OR = 2,5 (IC 95%, 1,2-5,1)<br>- Faible apport en folate OR = 2 (IC 95%, 1.1-3.9)<br>- Faible apport en fibres OR = 2,7 (IC 95%, 1,4-5,1)<br>- Faible apport en calcium OR = 2,3 (IC |

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | | à 95 %, 1,1-4,6)<br>- Faible apport en vitamine A OR = 2,5 (IC 95%, 1,2-5,1). |
| **Slattery et al., 2002** (1) | Etude cas-témoins | Etats Unis: Californie du Nord, Utah, Minnesota. | - 1836 cas<br>- 1958 témoins | Blanche, Afro-américaine, Hispanique. | Association entre GSTM-1 et NAT2 et les tumeurs du côlon. | -Légumes crucifères (élevé, intermédiaire, faible)<br>-Fréquence de consommation de viande rouge/jour (<0,86, 0,86-3,5, >3,5) | Âge, sexe. | - Groupe I: *KRAS*.<br>- Groupe II: *KRAS* + MSI (microsatellite instability)<br>- Groupe III: *KRAS* + p53 + MSI | Pas de résultat significatif :<br>- Viande rouge OR = 0,7 (IC 95%, 0,5-1,1)<br>- Légume crucifère OR = 0,7 (IC 95% 0,5-1,2). |
| **Slattery et al., 2001** (160) | Etude cas-témoins | Etats Unis: Californie du Nord, Utah, Minnesota. | - 1428 cas<br>- 2410 témoins | Blanche, Afro-américaine, Hispanique | Association entre les facteurs liés au mode de vie et les mutations *KRAS* dans les tumeurs cancéreuses du côlon. | - caffeine (low, intermediate, and high)<br>- Western diet and prudent diet patterns (low, intermediate, and high). | Âge. | - Groupe I: patients avec $KRAS^{+}$<br>- Groupe II: patients avec $KRAS^{-}$<br>- Groupe III: les témoins | - Pour le régime alimentaire occidental, OR faible = 1,0, OR intermédiaire = 1,2 (IC à 95 %, 0,95-1,6) et OR élevé = 1,5 (IC à 95 %, 1,2 à 1,9).<br>- Le modèle de régime prudent n'a montré aucune association claire. |
| **Slattery et al., 2000** (161) | Etude cas-témoins | Etas Unis: Californie du Nord, Utah, Minnesota. | - 1836 cas<br>- 1958 témoins | Afro-Americaine, blanche, Hispanique. | Associations entre l'apport alimentaire et les mutations *KRAS* dans les tumeurs du côlon. | - Matières grasses alimentaires (g/1000 kcal) : matières grasses, SFA, MUFA, PUFA, cholestérol<br>- Facteurs liés à l'insuline : Glucides (g/1000 kcal), Céréales raffinées (portions/jour) | Âge, sexe, apport énergétique, IMC, activité physique, calcium alimentaire, fibres. | - Groupe I: patients avec $KRAS^{+}$<br>- Group II: patients avec $KRAS^{-}$<br>- Group III: les témoins. | Faibles niveaux d'apport en légumes OR = 0,6 (IC à 95 % : 0,4-0,9 ; p = 0,01). |

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | - Facteurs de méthylation de l'ADN : folate (mg/1000 kcal), vitamine B6 (mg/1000 kcal), méthionine (g/1000 kcal), alcool (g/jour)<br>- Détoxification cancérigène: légumes crucifères. | | | |
| **Kampman et al., 2000** (162) | Etude cas-témoins | Pays-Bas | - 204 cas<br>- 259 témoins | Caucasienne | Associations entre le produit animal et les mutations des codons 12 et 13 de *KRAS* dans les carcinomes du côlon. | - Aliments : viandes rouges totales, bœuf, viandes transformées, volailles, poissons, produits laitiers<br>- Nutriments : matières grasses totales, SFA, cholestérol, protéines totales, protéines animales, calcium. | Âge, sexe, apport énergétique total | - Groupe I: patients avec $KRAS^+$<br>- Group II: patients avec $KRAS^-$<br>- Group III: les témoins. | - Protéine animale OR = 1,5 (IC 95% : 1-2,1) pour le codon 12 mais OR = 0,4 (IC 95% : 0,2-1) pour le codon 13<br>- Calcium OR = 1,2 (IC 95% : 0,9-1,6) pour le codon 12 mais OR = 0,6 (IC 95% : 0,3-1,2) pour le codon 13. |
| **O'Brien et al, 2000** (163) | Série de cas | Norwich, Royaume-Uni. | 51 participants (26 hommes et 26 femmes). | Non spécifiée | Associations entre les mutations *KRAS* et la consommation de viande chez les patients atteints de CCR gauche. | Viande rouge (g/jour) | Non mentionnés | - Groupe I: $KRAS^+$<br>- Groupe II : $KRAS^-$ | Aucune corrélation entre les mutations *KRAS* et la consommation de viande rouge. |
| **Martinez et al, 1999** (164) | Série de cas | États-Unis : région métropolitaine de Phoenix, | 678 participants | 96% étaient blancs. | Associations entre les variables connues ou | - Matières grasses totales, SFA, fibres alimentaires, viande rouge, alcool (g/jour) | Âge, sexe, apport énergétique. | - Groupe I: $KRAS^+$<br>- Groupe II: $KRAS^-$ | - Seul l'apport en folate total était associé à la mutation *KRAS* ; par rapport |

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Arizona. | | | suspectées d'être liées au risque de CCR et la survenue de mutations *KRAS* dans les adénomes colorectaux. | - Calcium alimentaire, calcium total, folate alimentaire, folate total (mg/jour). | | | aux individus du tertile inférieur, ceux du tertile supérieur avaient un risque 50 % plus faible d'avoir une mutation KRAS (OR = 0,52 ; IC à 95 % : 0,30-0,88 ; p = 0,02). |
| **Bautista et al., 1997** (139) | Etude cas-témoins | Espagne, île de Majorque. | - 286 cas et 295 témoins.<br>- 106 cas de CCR étaient disponibles pour l'analyse moléculaire. | Non spécifiée | Associations possibles entre les facteurs alimentaires et la mutation *KRAS* dans les tumeurs du CCR. | - Matières grasses totales, PUFA, MUFA, SFA<br>- Calcium | Âge, activité physique, nombre de repas, apport calorique total ; les graisses ont également été ajustées pour le calcium, et le calcium a été ajusté pour les AGMI. | - Groupe I: KRAS+<br>- Groupe II : KRAS-<br>- Group III: les témoins | Un apport élevé en calcium était associé à une diminution du risque de tumeurs mutées par KRAS (OR = 0,36 ; IC à 95 % : 0,14-0,97)<br>- Aucune association entre KRAS+ et d'autres nutriments. |

**Abbreviations: ANOVA**, analyse de la variance; **APC**, gène de la polypose adénomateuse coli; **CCR**, cancer colorectal; **GST**, glutathione S-transferase; **GSTM-1**: Glutathione S-transferases mu form; **HPFS**: Health Professionals Follow-Up Study; **HR**, hazard ratio; **IC**, Intervalle de confiance **; IMC**, Indice de masse corporelle, **MUFA**, acides gras mono-insaturés; **MSI**, microsatellite instability; **NAT**, N-acetyltransferase; **NAT2:** N-acetyltransferase 2; **NHS**, Nurses' Health Studies; **NLCS**, Netherlands Cohort Study on diet and cancer; **OR**, odds ratio; **PUFA** acides gras poly-insaturés; **RR**, risque relatif; **SFA**, acides gras saturés.

# IV- Discussion de l'association entre les facteurs nutritionnels et les mutations *KRAS* des cancers colorectaux dans le monde

## *1-* Associations entre les aliments et le statut mutationnel de *KRAS*

**Aliments à base d'acrylamide** : les données épidémiologiques sur les effets de l'acrylamide alimentaire restent rares, sans aucune preuve directe que l'apport alimentaire d'acrylamide est associé à un risque de CCR (169–171). Cependant, des études expérimentales sur des rongeurs ont conclu que l'acrylamide est cancérigène et conduit à plusieurs tumeurs. In vivo, l'acrylamide est oxydé en époxyde glycidamide qui forme des adduits avec les bases de l'ADN et provoque des mutations (172). De plus, il a été démontré que l'exposition à l'acrylamide et au glycidamide influence les niveaux d'hormones dans les cellules colorectales humaines, en augmentant l'expression des gènes impliqués dans la production d'hormones sexuelles, et en affectant la capacité des tumeurs à échapper aux mécanismes de surveillance basés sur l'apoptose (173). Ces études expérimentales ne concordent avec les résultats de Hogervorst que chez les hommes (118). Le fait que les mutations *KRAS* chez la femme ne soient pas affectées par l'exposition à l'acrylamide reste un mystère à élucider par des expériences prenant en compte l'hétérogénéité tumorale et environnementale, notamment les différences hormonales entre les deux sexes.

**Boissons alcoolisées** : Dans une analyse regroupée de huit études de cohorte prospectives, le risque de CCR était accru lorsque les niveaux de consommation quotidienne d'alcool dépassaient 30,0 g (174). Cela suggère qu'il existe une relation dose-effet entre la consommation d'alcool et le CCR. Ainsi, des niveaux plus élevés de consommation quotidienne d'alcool peuvent entraîner des mutations génétiques (175). En effet chez les gros consommateurs d'alcool ou les consommateurs chroniques, les mécanismes liés à la tumorigenèse colorectale ont été observés. Parmi ces mécanismes, on peut citer les dommages cellulaires associés à l'éthanol et à ses métabolites, en particulier l'acétaldéhyde qui peut casser et endommager l'ADN conduisant à des mutations permanentes dans les séquences d'ADN ; et induisent la formation d'espèces réactives de l'oxygène par la voie du cytochrome (176). Cela signifie que les études chez les gros consommateurs peuvent clarifier l'association entre les boissons alcoolisées et les mutations *KRAS* dans le CCR. Pour des niveaux de consommation

d'alcool modérés, comme dans les études analysées dans cette revue systématique, il existe un certain risque de développer des tumeurs colorectales mais éventuellement par des mécanismes autres que ceux à l'origine des mutations *KRAS*.

**Produits laitiers** : dans une revue systématique concernant les pays du Moyen-Orient et d'Afrique du Nord (région MENA), et focalisant sur l'association entre les produits laitiers et CCR, certaines études ont indiqué que les produits laitiers étaient un facteur de protection pour le CCR et d'autres les considéraient comme un facteur de risque (84,177). Les preuves épidémiologiques contradictoires liées aux produits laitiers pourraient s'expliquer par la double nature potentielle de ces aliments. En effet, les produits laitiers contiennent naturellement du calcium qui peut jouer un rôle dans la prévention de la cancérogenèse (178). En plus, le calcium est considéré comme un agent chimiopréventif potentiel qui réduit le cancer du côlon en se liant à certaines substances (acides biliaires et acides gras libres) dont l'effet est toxique sur les cellules épithéliales coliques ; et en induisant la différenciation cellulaire lorsqu'elle pénètre à l'intérieur de ces cellules (179). D'un autre côté, les produits laitiers peuvent également contenir des graisses, des hormones et des facteurs de croissance, qui peuvent favoriser la croissance tumorale (180). Par conséquent, cette composition compliquée des produits laitiers peut expliquer l'incohérence des résultats épidémiologiques trouvée dans cette revue systématique.

**Fibres** : Une revue de toutes les méta-analyses publiées sur l'association entre les fibres alimentaires et le cancer colorectal a conclu que la consommation élevée de fibres peut bénéficier d'une réduction de l'incidence de développer un CCR (181). Apparemment, une teneur élevée en fibres a de nombreux rôles, notamment la dilution et la liaison des cancérogènes potentiels ainsi que la réduction du temps de transit (182). Par conséquent, il n'était pas surprenant de constater que les fibres alimentaires étaient significativement associées à un risque réduit de tumeurs rectales dans l'ensemble, ainsi qu'à un risque réduit de mutations tumorales KRAS (152,158).

**Fruits et légumes** : Les fruits et légumes contiennent de nombreux nutriments et composés phytochimiques qui ont des propriétés antioxydantes, antimutagènes et anticancérigènes (183,184). La relation entre la consommation de fruits et légumes et le faible risque de statut mutationnel KRAS peut être due à leur richesse en fibres et en certains composés bioactifs tels que les flavonoïdes, qui sont capables d'inhiber la formation de composés nitrosés (185). Ces

derniers sont capables d'induire une alkylation de la base guanine, qui, si elle n'est pas réparée, peut conduire à des transitions de base G à A (186).

**Viande (Poisson, viande rouge et blanche) :**

**Poisson** : Bien que l'on ait longtemps cru que les acides gras n-3 (plus connus sous le nom d'acides gras oméga-3), qui sont présents à des niveaux élevés dans le poisson, sont capables de prévenir la cancérogenèse par de multiples voies (187,188), un nombre de plus en plus élevé d'études ont montré des résultats contradictoires sur l'association entre les acides gras oméga-3 et la prévention du cancer. En fait, une réanalyse des recherches antérieures a suggéré qu'il n'y aurait peut-être pas de réduction du risque de cancer après tout (189), ou que l'association entre les poissons et le CCR est très faible avec une absence d'une relation dose-effet linéaire et une différence selon le sexe et les pays (190). Les études génétiques de cette revue confirment les résultats antérieurs en ne montrant aucun effet mutagène ou protecteur des poissons.

**Viande rouge** : Des études ont montré que la viande rouge est fortement associée à une augmentation du risque de CCR d'environ 20 % lorsque la consommation est aux alentours de 150 g/j (85,191,192). La viande rouge au barbecue ou la viande préparée à haute température peuvent être d'importantes sources de composés mutagènes et cancérigènes, tels que les amines hétérocycliques (193) et les promoteurs de tumeurs (194). La consommation de viande rouge peut augmenter le risque de cancer du côlon en induisant la production endogène de composés N-nitrosés et de leurs précurseurs, ce qui peut induire des mutations *KRAS* (195,196).

Dans l'étude de cohorte prospective de Brink et al., l'absence d'association entre la viande fraîche et le risque de cancer du côlon ou du rectum avec des mutations KRAS pourrait être due à la faible teneur attendue en cancérogènes dans les préparations de viande fraîche consommées par les participants dans cette étude, et aussi au manque de corrélations entre la préparation de la viande et la quantité de viande fraîche consommée (155).

**Viande blanche** : Les études épidémiologiques montrent généralement qu'il n'y a pas d'association entre la consommation de viande blanche et le risque de CCR (197). Cependant, Kampman et al. ont suggéré que les tumeurs du côlon avec des mutations des codons 12 et 13 KRAS sont liées différemment à la consommation de volaille (162). Des études biologiques réalisées in vitro sont nécessaires pour élucider ces résultats contradictoires.

**Composés organochlorés** : Une seule étude a traité ce sujet avec un petit échantillon (157). Les résultats restent donc générateurs d'hypothèses, et d'autres études sont nécessaires pour répondre aux questions concernant l'association entre les mutations *KRAS* et les composés organochlorés.

## 2- Associations entre les nutriments et le statut mutationnel de *KRAS*

**Protéines animales** : Dans les études animales et in vitro, un régime riche en protéines pourrait endommager l'ADN des colonocytes et diminuer l'épaisseur de la muqueuse colique (198), néanmoins les données épidémiologiques restent controversées. Deux études de cette revue systématique s'accordent sur une association positive possible entre les protéines animales et la mutation KRAS+ (152,162). Cependant, une méta-analyse portant sur 8187 cas a conclu qu'il n'y avait aucune relation entre les protéines animales ou végétales et le risque de CCR (198).

**Calcium** : Les études chez l'animal ont indiqué un effet protecteur du calcium alimentaire, qui lie les acides biliaires dans la lumière intestinale, inhibant leurs effets prolifératifs et cancérigènes (199,200), et réduit le nombre de mutations dans le gène *KRAS* du rat (201). En outre, une méta-analyse récente comprenant 14 études de cohorte et 15 études cas-témoins, suggère que des apports plus élevés de calcium alimentaire peuvent aider à réduire légèrement le risque de CCR (202).

**Fer héminique** : dans une méta-analyse de cinq études prospectives, le risque relatif de cancer du côlon était de 1,18 (IC à 95 % : 1,06-1,32) pour les patients ayant la catégorie la plus élevée d'apport en fer héminique par rapport à ceux de la catégorie la plus faible (203). Le fer héminique et ses produits métaboliques peuvent augmenter le taux de mutation global et favoriser des mutations ponctuelles spécifiques dans l'ADN du tissu colique. Par exemple, il a été démontré que l'hème catalyse la formation endogène de composés N-nitrosés (204,205). Ces métabolites induisent des transitions G>A dans une variété de gènes, y compris KRAS, à la fois dans des études sur des rongeurs et des études in vitro (206).

**Graisse** : L'association entre les graisses alimentaires totales, y compris les constituants des graisses tels que les graisses saturées, les graisses monoinsaturées, les graisses polyinsaturées et le cholestérol, et le risque de CCR a été évaluée dans de nombreuses études

épidémiologiques. Les résultats ont généralement été mitigés (207). Dans notre revue, nous notons le même constat concernant les mutations KRAS : alors que certaines études ont rapporté des associations positives, plusieurs études ont observé des associations nulles ou inverses. Il est à noter que certaines études récentes ont souligné le potentiel cancérigène des graisses (82). La principale hypothèse soutenant un effet possible des graisses sur le risque de CCR est basée sur l'effet intraluminal des produits de digestion des graisses. En fait, la graisse peut favoriser les dommages cellulaires du côlon en augmentant l'excrétion d'acides biliaires et d'acides gras dans la lumière colique (208).

**Vitamines** : Les vitamines B sont essentielles pour la méthylation de l'ADN et la biosynthèse des nucléotides. Un apport alimentaire adéquat de ces vitamines a déjà été lié à un risque plus faible de cancer du côlon (209). L'acide folique, une vitamine du complexe B hydrosoluble (B9) est la plus étudiée et la plus controversée. En fait, la relation entre l'apport en folate ou ses taux sanguins et les paramètres moléculaires colorectaux semble être assez complexe. Les études incluses dans la présente revue systématique ont montré des résultats incohérents qui peuvent différer selon le sexe, la position de la tumeur, la concentration d'acide folique et le type de mutations KRAS. Il existe des preuves d'un « double rôle » du folate dans la cancérogenèse, le folate pouvant prévenir les cancers précoces mais causer des dommages si les lésions se sont formées (210). Malgré cet effet, des études épidémiologiques ont montré que des niveaux réduits de folate peuvent être un facteur de risque pour le développement d'une mutation *KRAS*, en particulier parce que le folate est une coenzyme importante pour la méthylation et la synthèse de l'ADN. Toutefois, une méta-analyse de 27 articles a montré une réduction de l'estimation du risque relatif de 0,85 (IC à 95 %, 0,74-0,99) en comparant une supplémentation faible à élevée en acide folique (211). L'absence de preuves épidémiologiques cohérentes concernant l'apport en acide folique ou ses taux sanguins et le statut mutationnel KRAS suggère que davantage de travail est encore nécessaire pour délimiter pleinement l'influence de ce nutriment sur les sous-types moléculaires de CCR.

**Vitamine D** : l'association inverse constante et significative entre la vitamine D et le risque de CCR a été soutenue par des études expérimentales, qui ont démontré que la vitamine D réduit la prolifération, l'inflammation et l'angiogenèse, stimule la différenciation et l'apoptose et renforce le système immunitaire (212). Une méta-analyse récente incluant 15 études dans 14 pays a obtenu un résultat important : avoir une concentration de 25(OH)D > 35 ng/ml a été

associée à un risque de cancer colorectal de près de 40 % inférieur par rapport à une concentration 25(OH)D < 15 ng/ml (213).

En résumé, la présente revue systématique des études épidémiologiques axées sur les associations entre les facteurs nutritionnels et les mutations KRAS dans le CCR a révélé qu'il n'y avait pas d'association entre la consommation de poisson, de vitamine C, de café et de thé et le statut de mutation *KRAS* dans le CCR. Il a été démontré que des niveaux élevés de protéines animales, d'aliments contenant de l'acrylamide et de faibles niveaux de consommation de vitamine A sont associés à un risque accru de tumeurs du CCR avec des mutations *KRAS*. Cependant, concernant les boissons alcoolisées, les produits laitiers, les fibres, les fruits et légumes, la viande rouge, le calcium, le fer héminique, les graisses et la vitamine B, des résultats incohérents et contradictoires ont été trouvés entre ces facteurs nutritionnels et des mutations spécifiques *KRAS* dans le CCR.

Ces incohérences peuvent s'expliquer par la force des preuves, qui variait considérablement selon la conception de l'étude. Bien que les études cas-témoins aient été plus susceptibles de trouver une association significative entre un facteur nutritionnel d'intérêt et les mutations *KRAS*, ces associations significatives ne se sont pas reportées aux études de cohorte, qui sont considérées comme ayant une conception plus solide avec un niveau de preuve plus élevé, sans limites connues des études cas-témoins. Les résultats incohérents des études épidémiologiques sur les mutations *KRAS* dans le CCR et les facteurs nutritionnels peuvent également être dus à la petite taille des échantillons dans plusieurs études, à de manque de précision de mesure des variables nutritionnelles et certaines variables confusionnelles. De plus, certaines études concluent que le codon 12 a une association préférentielle par rapport au codon 13, ce qui montre que dans un même gène, la susceptibilité aux mutations par les nutriments peut varier, rendant l'association gène-nutrition très complexe. Parallèlement à ces considérations, les associations entre le régime alimentaire et le statut mutationnel de *KRAS* peuvent être difficiles à confirmer dans les études épidémiologiques qui ont utilisé des questionnaires pour évaluer l'exposition. De telles évaluations peuvent ne pas être suffisamment sensibles pour détecter des associations ; l'évaluation biologique de nutriments spécifiques supposés affecter les mutations *KRAS* dans les fluides corporels ou les échantillons de tissus peut être plus appropriée.

## 3- Conclusion

Certains résultats épidémiologiques sur l'alimentation et les mutations *KRAS* dans les tumeurs colorectales étaient très incohérentes et contradictoires ; d'autres étaient homogènes, en particulier pour le poisson, les vitamines C et E, le café, le thé, les protéines animales, les aliments à base d'acrylamide et la vitamine A. D'autres études plus robustes de type cohorte prospective sur les associations épidémiologiques entre l'alimentation et les mutations *KRAS* sont nécessaires. En outre, il est impératif de mener des recherches sur la manière la plus efficace de mettre en œuvre ce qui est déjà connu sur les choix nutritionnels sains, afin de réduire le risque de CCR et d'autres cancers liés à l'alimentation chez la population générale

# Chapitre 3 - Association entre les acides gras et les mutations *KRAS* des CCRs au Maroc

# (Article 2)

Nous allons nous contenter dans ce chapitre de l'étude de l'association entre les graisses et les mutations Kras dans le CCR au Maroc. Les autres facteurs nutritionnelles et/ou nutriments ne seront pas traités dans le cadre de cette thèse. Mais avant de présenter le détail concernant cette étude, nous allons exposer dans un premier temps un rappel de l'étude cas témoins globale nationale sur « les facteurs de risque comportementaux, nutritionnels et génétiques des CCRs au Maroc », à partir de laquelle cette étude de série de cas a été élaborée. Le détail concernant l'étude « des facteurs de risque comportementaux, nutritionnels et génétiques des CCRs au Maroc » à laquelle nous avons participé a été déjà publié (214).

# I- Rappel de l'étude cas-témoin nationale globale «Facteurs de risque comportementaux, nutritionnels et génétiques des CCRs au Maroc »

Avec 3032 sujets répartis en 1516 cas et 1516 témoins, l'étude Cas-Témoins portant sur le CCR a été réalisée par le Laboratoire d'Epidémiologie et Recherche en Sciences de la Santé en collaboration avec la Société Marocaine des Maladies de l'Appareil Digestif (SMMAD) et la Fondation Lalla Salma de Lutte contre le Cancer, est sans doute la plus large étude épidémiologique sur les CCR au Maroc qui a traité plusieurs volets de recherche s'intéressant aux facteurs de risques comportementaux, nutritionnels et génétiques liés au CCR.

## 1- Schéma de l'étude cas-témoins globale

Il s'agit d'une étude cas-témoin multicentrique appariée sur l'âge, le sexe et le centre de recrutement. Elle a été réalisée entre septembre 2009 et février 2017 dans cinq grands hôpitaux universitaires (CHU) : Hassan II de Fès, Ibn Rochd de Casablanca, Ibn Sina de Rabat, Mohammed VI d'Oujda, Mohammed VI de Marrakech.

## 2- Population de l'étude cas-témoins globale

- **Pour les cas :** ce sont des patients dont l'inclusion à l'étude a été faite au moment de laconfirmation histopathologique de leur diagnostic de CCR (ou pas plus de trois mois après le diagnostic), et qui n'avaient pas encore commencé un protocole thérapeutique (chimiothérapie, radiothérapie, hormonothérapie ou chirurgie) au moment de l'inclusion.

D'autres critères d'inclusion et d'exclusion ont été considérés dans cette étude. **Les critères d'inclusion :** Age : 18 ans et plus au moment du diagnostic ; Sexe : Tout sexe confondu.

**Les critères d'exclusion :** Patients sous traitement palliatif ; Patients grabataires ou confinés dans leurs lits ou chaises ; Patients ayant déjà reçu une chimiothérapie ou une radiothérapie ou une hormonothérapie ou un autre traitement médical spécifique du cancer ; Patients sous régime alimentaire quel que soit la maladie ; Patients avec problème psychiatrique, avec un trouble cognitif ou trouble alimentaire.

Chaque cas a été apparié avec un témoin selon l'âge (± 1 à 5 ans), le sexe et le centre de recrutement.

❖ **Pour les témoins :** Ce sont des sujets qui ne sont pas atteints de CCR et qui ont été recrutés dans des services autres que les services d'oncologie : Médecine interne, traumatologie, ophtalmologie, ORL, urgences ou des visiteurs.

**Les critères d'exclusion :** Atteinte de CCR ou autre type de cancer ; Être sous régime alimentaire quel que soit la maladie (diabète, hypertension et maladies cardiovasculaires).

Les cas ont été recrutés dans le milieu hospitalier, plus précisément dans les centres d'oncologie des différents centres d'étude. Quant aux témoins, ils étaient recrutés dans le même milieu hospitalier dans des services différents ou parmi les visiteurs.

## 3- Taille de l'échantillon de l'étude cas-témoins globale

L'estimation de la taille de l'échantillon était basée sur la consommation de viande rouge comme l'une des principales expositions d'intérêt.

La taille de l'échantillon a été calculée à l'aide de la formule ci-dessous spécifique aux études cas-témoins appariés individuellement (215), en considérant une erreur de type I (Cronbach alpha) égale à 5 %, une puissance statistique de 90 % (beta= .10), et une différence minimale en termes de risque de 43 % comme rapporté par le rapport WCRF/AICR (216).

$$m = \left[Z\alpha/\,2 + Z\beta\,\sqrt{P\,(1-P)}\right]^2 /(\mathrm{P}\,\text{-}1/\,2)^2$$

- $m$ : est le nombre de paires discordantes.

- $Z\alpha$ est la valeur de Z correspondant à $\alpha$ (risque de première espèce) pour une situation bilatérale ; $\alpha$ choisi en fonction du degré de confiance (1-$\alpha$) désiré ; ici 95% ;

$\mathrm{P} = \psi\,/(1+\psi\,) \approx R\,/(1+R)$ avec $\psi$ étant l'OR et R représentant le RR

Le nombre de paires requis pour l'étude était de 1496, soit 1496 cas et 1496 témoins.

## 4- Caractéristiques de la population de l'étude cas-témoins globale

En février 2017, nous avons recruté 2966 participants (1483 cas et 1483 témoins) considérés comme éligibles et inclus dans notre étude.

**Le tableau 11** montre les variables sociodémographiques et les facteurs liés au mode de vie parmi les cas et les témoins qui ne différaient pas significativement en ce qui concerne l'âge (p=0,36), le sexe (p=0,51), le centre (p=0,99), l'état matrimonial (p=0,30) et l'utilisation d'AINS (p=0,08). Cependant, les participants du groupe témoin étaient significativement plus instruits et moins susceptibles d'avoir des antécédents familiaux de CCR que les cas.

**Tableau 11 Principales caractéristiques des cas et des témoins dans l'étude Cas-Témoins globale (5).**

| **Caractéristiques** | **Cas (N=1483)** | **Témoins (N=1483)** | ***p*** |
|---|---|---|---|
| **Variables d'appariement** | | | |
| Âge au recrutement (années), moyenne (écart-type) | 56,45 (13,98) | 55,51 (13,73) | 0,36 |
| Sexe, n (%) | | | |
| Femmes | 746 (50,30) | 746 (50,30) | 0,51 |
| Hommes | 737 (49,69) | 737 (49,79) | |
| **Centre, n (%)** | | | |
| Rabat | 482 (32,50) | 482 (32,50) | 1,00 |
| Marrakech | 27 (1,82) | 27 (1,82) | 0,99 |
| Fès | 241 (16,25) | 241 (16,25) | — |
| Oujda | 251 (16,92) | 251 (16,92) | — |
| Casablanca | 480 (32,36) | 480 (32,36) | — |
| **Caractéristiques générales** | | | |
| **Résidence, n (%)** | | | |
| Urbain | 1021 (68,84) | 1117 (75,32) | 0,001 |
| Rural | 462 (31,15) | 366 (24,67) | — |

| | | | |
|---|---|---|---|
| **État matrimonial, n (%)** | | | |
| Célibataire | 142 (9,57) | 146 (9,84) | — |
| Marié (e) | 1128 (76,06) | 1138 (76,73) | 0,30 |
| Divorcé (e) | 47 (3,16) | 59 (3,97) | — |
| Veuf (ve) | 166 (11,19) | 140 (9,44) | — |
| **Niveau d'éducation, n (%)** | | | |
| Analphabète | 936 (63,11) | 748 (50,43) | — |
| Primaire | 281 (18,94) | 276 (18,61) | 0,001 |
| Secondaire | 178 (12,00) | 271 (18,27) | — |
| Supérieur | 88 (5,93) | 188 (12,67) | — |
| **Niveau de revenu (dirham marocain), n (%)** | | | |
| <2000 | 1216 (81,99) | 1061 (71,54) | — |
| 2000-5000 | 208 (14,02) | 299 (20,16) | 0,001 |
| >5000 | 59 (3,97) | 123 (8,29) | — |
| **Antécédents familiaux de cancer colorectal, n (%)** | | | |
| Oui | 83 (5,59) | 12 (0,80) | 0,001 |
| Non | 1400 (94,40) | 1471 (99,19) | — |
| **Utilisation régulière antérieure d'anti-inflammatoires non stéroïdiens, n (%)** | | | |
| Oui | 105 (7,08) | 126 (8,49) | 0,08 |
| Non | 1378 (92,91) | 1357 (7,50) | — |

# II- Description de l'étude de série de cas nichée dans l'étude cas-témoins globale

L'objectif principal de l'étude sur le volet génétique était d'explorer l'association possible entre certains facteurs nutritionnels et certains biomarqueurs moléculaires chez las cas de CCR.

Cette étude a consisté à recueillir rétrospectivement les échantillons tumoraux des cas préalablement inclus dans l'étude cas-témoin nationale globale. Ces échantillons ont permis l'analyse des données moléculaires relatives à certains biomarqueurs intervenant dans le processus carcinogène du CCR.

## 1- Schéma de l'étude

Il s'agit d'une étude de série de cas nichée dans l'étude Cas-Témoin globale. La collecte des échantillons tumoraux s'est déroulée entre février 2016 et juillet 2017 dans les services d'anatomopathologie des 4 centres hospitaliers universitaires au Maroc : CHUs de Casablanca, Oujda, Rabat et Fès.

## 2- Population de l'étude

Parmi les cas inclus dans l'étude cas-témoin globale, seuls étaient inclus dans ce volet génétique : les patients dont la biopsie utilisée pour de diagnostic ou la pièce chirurgicale prélevée au moment de la chirurgie était disponible et les patients dont les données nutritionnelles ont été bien renseignées au moment de leurs inclusions.
Il a été exclu de cette étude, les patients atteints de CCR héréditaire. Les patients avec un CCR héréditaire ont des mutations germinales déjà présentes dès la naissance. Or, dans notre étude, on cherche des mutations somatiques qui sont probablement liées à la nutrition.

## 3- Recueil des données

Les données ont été recueillies dans 4 centres hospitaliers universitaires marocains au moyen d'entretiens en face-à-face menés par des enquêteurs formés à cet effet. Tous les participants nouvellement diagnostiqués (pas plus de 3 mois après la confirmation histologique) ont été invités à répondre, au moment de leurs inclusions à l'étude nationale cas-témoin globale, à des questionnaires sur les sections suivantes :

### 3-1 Données sociodémographiques et comportementales

**Section 1 - caractéristiques sociodémographiques** : incluant l'âge; le sexe; le centre de recrutement (Rabat, Marrakech, Fès, Oujda et Casablanca) ; la résidence (urbaine et rurale); la profession (employé, retraité, sans emploi, femme au foyer et étudiant); l'état matrimonial (célibataire, marié, divorcé ou veuf) ); le niveau d'éducation (analphabète, primaire, secondaire et supérieur); le niveau de revenu (<2000 MAD [dirham marocain], 2000-5000 MAD, >5000 MAD) ; et le type d'habitat (habitats luxueux, nouvelle médina, bidonvilles, habitat moderne et ancienne médina.

**Section 2 - données cliniques :** incluant le type de cancer ; la date de la biopsie ; le stade du cancer ; le patient opéré ou non et les date et type de chirurgie) ; les antécédents familiaux de CCR chez les parents du premier et du deuxième degré ; et l'utilisation d'anti- inflammatoires non stéroïdiens (AINS).

**Section 3 - Consommation de substances** telles que : l'alcool et la cigarette.

La consommation d'alcool a été divisée en 2 catégories : n'ayant jamais consommé de l'alcool et consommateurs actuels. Les consommateurs actuels ont été invités à préciser la quantité et la fréquence de consommation des 5 types de boissons alcoolisées proposées (vin rouge, vin blanc, vin rose, whisky et vodka). Le statut tabagique a été défini selon le Guide de l'Union internationale contre la tuberculose et les maladies pulmonaires. Les répondants ont été définis comme des fumeurs actuels (fumeurs quotidiens et occasionnels) s'ils fumaient au moment de l'enquête et avaient fumé plus de 100 cigarettes au cours de leur vie. Ils étaient définis comme ex-fumeurs s'ils avaient fumé plus de 100 cigarettes au cours de leur vie mais avaient arrêté de fumer 3 mois au mois au moment de l'inclusion dans l'étude ; et ils étaient définis comme n'ayant jamais fumé s'ils n'avaient jamais fumé ou avaient fumé moins de 100 cigarettes au cours de leur vie. Ainsi, le statut de fumeur a été divisé en 3 catégories : n'ayant jamais fumé, ex-fumeurs et fumeurs actuels (217).

**Section 4 - les niveaux d'activité physique :** indiquent le temps moyen que les participants ont consacré aux activités suivantes au cours de l'année précédant le moment de l'inclusion dans l'étude : activité physique au travail, trajet aller-retour à la maison et activités récréatives. Selon le Global Physical Activity Questionnaire (GPAQ Analysis Guide), le nombre d'heures par semaine consacrées à chaque activité a été multiplié par la dépense énergétique correspondante, comme score d'activité physique exprimé en minutes MET par semaine.

« MET » est l'acronyme de la dénomination anglaise « Metabolic Equivalent of a Task » ou « équivalent métabolique d'une tâche ». Cette valeur représente donc l'impact métabolique de l'activité. Plus l'intensité de l'activité sera grande et plus la valeur MET sera élevée. Une valeur

MET de 1 fait référence à un corps au repos. Une activité physique d'intensité modérée correspond à une valeur MET comprise entre 3 et 6.

L'activité a été classée en 3 catégories : intensité faible (<600 MET-minutes par semaine), intensité modérée (600-3000 MET-minutes par semaine) et intensité vigoureuse (≥3000 MET-minutes par semaine).

**Section 5 - les mesures anthropométriques :** incluent la taille et le poids actuel au moment de l'enquête qui ont été extraites des dossiers médicaux, alors que toutes les mesures antérieures (avant l'apparition des symptômes), ont été auto-déclarées.

Les mesures anthropométriques ont également été évaluées et définies conformément aux recommandations mondiales pour la santé de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) (Global Recommendations on Physical Activity for Health).

### 3-2- Données nutritionnelles

Les données alimentaires ont été obtenues à l'aide d'un questionnaire semi-quantitatif validé de fréquence alimentaire (FFQ) qui a été développé pour évaluer l'apport alimentaire dans la population marocaine (220). Il a été inspiré du Global Allergy and Asthma European Network (GA2LEN) (221) et validé selon le contexte marocain. Il comprend 255 aliments y compris les aliments marocains traditionnels et répartis en 32 groupes suivants : (1) pain, (2) petit-déjeuner aux céréales, (3) couscous (l'un des aliments de base traditionnels de la cuisine des pays du Maghreb préparé à partir de semoule de blé dur), ( 4) pâtes, (5) gâteau, (6) riz, (7) sucre, (8) bonbons sans chocolat, (9) chocolat, (10) huile végétale, (11) margarine et graisse végétale, (12) beurre et graisse animale, (13) fruits secs, (14) légumineuses, (15) légumes, (16) pommes de terre, (17) fruits, (18) jus, (19) boissons non alcoolisées, (20) café/thé, (21) bière, (22) vin, (23) autres boissons alcoolisées, (24) viandes rouges et viandes transformées, (25) volaille, (26) sekat (abats et cervelle), (27) poisson, (28) œufs, (29) lait de vache/ soja, (30) fromage, (31) autres produits laitiers, et (32) aliments divers.

Les participants ont enregistré leur consommation alimentaire de l'année précédente avant l'entretien. La fréquence de consommation a été classée en 8 catégories différentes (jamais, 1-3 fois par mois, une fois par semaine, 2-4 fois par semaine, 5-6 fois par semaine, une fois par jour, 2-3 fois par jour, et ≥4 fois/jour). Concernant les aliments saisonniers, les participants ont été invités à répondre à la question en fonction des apports pendant les périodes/saisons où ces aliments sont disponibles. L'apport quotidien des aliments a ensuite été calculé en fonction du nombre de mois par an pendant lesquels chaque aliment saisonnier était disponible.

Les apports nutritionnels et énergétiques ont été calculés en multipliant les apports quotidiens de chaque aliment par la teneur en nutriments et en calories (pour 100 g) de tous les aliments en utilisant une table marocaine de composition des aliments mise à jour en 2020 (222).
Les types de matière grasse étudiés étaient les acides gras qui sont des composants importants des lipides dans les plantes, les produits animaux. Un acide gras est constitué d'une chaîne droite d'un nombre pair d'atomes de carbone, avec des atomes d'hydrogène le long de la chaîne et à une extrémité de la chaîne et un groupe carboxyle (—COOH) à l'autre extrémité (223). Les acides gras sont classés de point de vue biochimique en :

- Acides gras saturés (SFA), qui ne possèdent aucune double liaison ;
- Acides gras monoinsaturés (MUFA) qui possèdent une seule double liaison ;
- Acides gras polyinsaturés (PUFA) qui possèdent plusieurs doubles liaisons.

Les apports individuels moyens en matières grasses (matière grasse totale, PUFA, MUFA et SFA) par jour ont été calculés en utilisant la même table de composition alimentaire marocaine informatisée. Prenons comme exemple, l'extraction de la teneur en SFA à partir de la table alimentaire. Dans cette table, les catégories d'aliments sont désignées par la lettre q (q1, q2, q3, …… , q32), alors que les aliments qui représentent les sous-groupes sont désignés par la lettre p. Exemple : Dans le groupe q1 du pain, on trouve les sous-groupes suivants : (q1p1 : tout type de pain ; q1p2 : pain complet (blé dur) ; q1p3 : pain blanc; q1p4 : pain de zouane (Seigle) ; q1p5 : mllaoui/rghaif/mssemen/batbout/matlouaa ; q1p6 : pain de smida/harcha (Semoule) ; q1p7 : pain fait maison ; q1p8 : autres types de pain.

En se basant sur l'apport alimentaire en g/jour de tous les aliments présents dans la table, on peut déduire celui d'un nutriment en multipliant la quantité de l'aliment consommé par la teneur en nutriment concerné.

Le calcul de la quantité de SFA présente dans la catégorie q1 (pain), par exemple, se fait de la manière suivante :

- Quantité de SFA dans q1p1 : (SFA_q1p1) = Q1p1 * 0.76 /100.
- Quantité de SFA dans q1p2 : (SFA_q1p2) = Q1p2 * 0.81 /100.
- Quantité de SFA dans q1p3 : (SFA_q1p3) = Q1p3 * 0.64 /100.
- Quantité de SFA dans q1p4 : (SFA_q1p4) = Q1p4 * 0.2 /100.
- Quantité de SFA dans q1p5 : (SFA_q1p5) = Q1p5 * 0.2 /100.
- Quantité de SFA dans q1p6 : (SFA_q1p6) = Q1p1 * Q1p6 * 3 /100.
- Quantité de SFA dans q1p7 : (SFA_q1p7) = Q1p7 * 0.5 /100.

- Quantité de SFA dans q1p8 : (SFA_q1p8) = Q1p8 * 0 /100.

La somme de toutes ces valeurs (exclusion faite pour la tête du groupe) indique l'apport en SFA exprimé en g/jour pour cette catégorie. En procédant ainsi pour les autres catégories, la formule finale devient :

Quantité en SFA totale = Somme (SFA_q1p2, SFA_q1p3, SFA_q1p4, SFA_q1p5, SFA_q1p6, SFA_q1p7, SFA_q1p8, SFA_q2p2, SFA_q2p3, SFA_q2p4, SFA_q2p5, SFA_q2p6, SFA_q3p1, SFA_q3p3, SFA_q3p5, SFA_q4p2, FA_q4p5, SFA_q5p2, SFA_q5p3, SFA_q5p4, SFA_q5p5, SFA_q5p6, SFA_q5p10, SFA_q5p11, SFA_q5p12, SFA_q5p13, SFA_q6p2, SFA_q6p4, SFA_q7p1, SFA_q7p2, SFA_q7p3, SFA_q8p2, SFA_q8p3, SFA_q8p5, SFA_q9p1, SFA_q10p1, SFA_q10p2, SFA_q10p3,SFA_q10p4, SFA_q10p5, SFA_q11p2, SFA_q11p3, SFA_q11p4, SFA_q11p5, SFA_q12p4, SFA_q13p2, SFA_q13p3, SFA_q13p4, SFA_q13p5,SFA_q13p6, SFA_q13p7, SFA_q13p8,SFA_q14p2, SFA_q14p3, SFA_q14p4, SFA_q14p5, SFA_q14p6, SFA_q14p7, SFA_q14p8, SFA_q15p2, SFA_q15p3, SFA_q15p4, SFA_q15p5, SFA_q15p6, SFA_q15p7, SFA_q15p8, SFA_q15p9, SFA_q15p10, SFA_q15p11, SFA_q15p12, SFA_q15p13, SFA_q15p14, SFA_q15p15, SFA_q15p16, SFA_q15p17, SFA_q15p18, SFA_q15p19, SFA_q15p20, SFA_q15p21, SFA_q15p22, SFA_q15p23, SFA_q15p24, SFA_q15p25, SFA_q15p26, SFA_q15p27, SFA_q15p28, SFA_q15p29, SFA_q15p30, SFA_q15p31, SFA_q15p32, SFA_q15p33, SFA_q16p2, SFA_q16p3, SFA_q16p4, SFA_q16p6, SFA_q16p7, SFA_q16p8, SFA_q17p2, SFA_q17p3, SFA_q17p4, SFA_q17p5, SFA_q17p7, SFA_q17p8, SFA_q17p9, SFA_q17p10, SFA_q17p11, SFA_q17p12, SFA_q17p13, SFA_q17p14, SFA_q17p15, SFA_q17p16, SFA_q17p17, SFA_q17p18, SFA_q17p19, SFA_q17p20, SFA_q17p21, SFA_q17p22, q17p23, q17p24, q17p25, q17p26, q17p27, SFA_q18p1, SFA_q18p2, SFA_q18p3, SFA_q19p1, SFA_q19p3, SFA_q20p2, SFA_q20p3, SFA_q20p4, SFA_q20p5, SFA_q21p1, SFA_q22p1, SFA_q24p2, SFA_q24p3, SFA_q24p4, SFA_q24p5, SFA_q24p6, SFA_q24p7, SFA_q24p8, SFA_q24p10, SFA_q24p11, SFA_q24p12, SFA_q24p13, SFA_q24p14, SFA_q24p17, SFA_q24p18, SFA_q25p2, SFA_q25p3, SFA_q25p4, SFA_q25p5, SFA_q25p6, SFA_q25p7, SFA_q25p8, SFA_q25p9, SFA_q26p1, SFA_q26p2, SFA_q27p1, SFA_q28p1, SFA_q29p2, SFA_q29p3, SFA_q29p4,SFA_q29p5, SFA_q29p6, SFA_q29p7, SFA_q29p8, SFA_q29p9, SFA_q30p1, SFA_q31p1, SFA_q31p3, SFA_q31p4, SFA_q32p1, SFA_q32p2, SFA_q32p4, SFA_q32p6, SFA_q32p7, SFA_q32p8, SFA_q32p9, SFA_q32p10, SFA_q32p11, SFA_q32p12, SFA_q32p13.

## 4- Analyse moléculaire

L'analyse moléculaire a été faite sur les échantillons tumoraux collectés dans les 4 services d'anatomopathologie des 4 CHUs participants à cette étude. Les principales étapes de cette analyse moléculaire étaient les suivantes :

### 4-1 Matériel biologique

L'ADN était extrait à partir de tissus tumoraux (biopsies ou pièces) fixés et inclus en paraffine. Des coupes de 5 micromètres d'épaisseur ont été réalisées et colorées par HES (hématoxyline, phloxine, safran). Un anatomopathologiste a délimité la zone tumorale en précisant le pourcentage de cellules tumorales par observation microscopique de la lame. Un seuil minimal de 60% a été respecté afin de mettre en évidence les mutations *KRAS.*

### 4-2 Extraction de l'ADN

L'extraction de l'ADN est réalisée à l'aide d'un Kit d'extraction (Invitrogen by Thermo Fisher Scientific). L'échantillon tissulaire inclus en paraffine était d'abord déparaffiné, digéré enzymatiquement puis isolé.

- **Déparaffinage**

Les zones tumorales de 10 coupes de 5 µm d'épaisseurs chacune, ont été grattées à l'aide d'une lame de bistouri stérile et placées dans des tubes Eppendorf de 1.5 ml.

Le tissu tumoral est soumis ensuite à deux bains de toluène suivis de deux bains d'éthanol.
Le toluène permet l'élimination de la paraffine alors que l'éthanol permet d'extraire le toluène résiduel.

**- Premier lavage au toluène :** 1 ml de toluène est ajouté à l'échantillon, suivi d'une brève homogénéisation puis une centrifugation de 1400 rpm pendant une minute à température ambiante. Le surnageant est éliminé par pipetage.

**- Deuxième lavage au toluène :** 1 ml de toluène est ajouté à l'échantillon, suivi d'une brève homogénéisation. Le tube est mis ensuite à 50°C pendant 3 min puis centrifugé à 1400 rpm pendant une minute à température ambiante.

**- Deux lavages à l'éthanol :** 1 ml d'éthanol est ajouté à l'échantillon, suivi d'une brève homogénéisation puis une centrifugation de 1400 rpm pendant une minute à température ambiante. On procède ensuite à une évaporation de l'éthanol en mettant l'échantillon à 45°C pendant 30 min sous agitation lente.

- **Digestion enzymatique**

Le culot obtenu de l'étape précédente est remis en suspension dans 180 µl de tampon de digestion (ATL) qui favorise la lyse des membranes cellulaires. On ajoute ensuite 20 µl de protéinase K qui permet de digérer les protéines associées à l'ADN. La digestion est réalisée à une température de 56°C pendant toute la nuit dans un four muni d'un agitateur.

- **Isolement de l'ADN**

On procède d'abord à une précipitation de l'ADN en utilisant de l'éthanol et une solution d'isolation additif du Kit, puis on réalise un transfert de l'ADN sur une colonne d'extraction munie d'une membrane de silice ayant la capacité de fixer l'ADN pour faciliter son lavage.
Après une centrifugation à 8000 rpm pendant 1 mn, un lavage avec une solution Wash 1, suivi d'un deuxième et un troisième lavage avec une autre solution Wash 2, sont réalisés. Ces lavages permettent d'éliminer les protéines puis les sels à travers la membrane. Une dernière centrifugation à vide vise à éliminer toute trace de solutions de lavage. La membrane de silice fixe alors l'ADN seul.
Pour l'élution de l'ADN, on prépare une solution d'élution préalablement chauffée dans un bain marie à une température de 95°C. Son addition à la colonne d'extraction permettra de décrocher l'ADN de la membrane de silice. A cet égard, 60 microlitres de la solution d'élution sont ajoutés à la surface de la membrane, laissée à température ambiante pendant 1 mn puis centrifugée à une vitesse de 100000 tr/mn pendant 1 min. L'ADN finalement élué, est prêt pour la quantification.

## 4-3 Dosage de l'ADN

- **Dosage par NANODROP**

Pour déterminer la pureté et la concentration de l'ADN extrait, l'absorbance de l'échantillon est mesurée par spectrophotométrie à 260 nm et 280 nm, qui correspondent respectivement aux longueurs d'onde ou l'absorbance est maximale pour les acides nucléiques et pour les protéines **(Figure 31).**



**Figure 31 Spectrophotométrie NANODROP**

La pureté de l'échantillon est déduite par le rapport d'absorbance A260/A280 nm qui doit être compris entre 1.8 et 2 pour une bonne qualité d'ADN.

Le protocole consiste à déposer 2 µl d'ADN extrait, dans le NANODROP, pour lire la concentration, le rapport A260/A280 et la courbe qui renseignent sur la qualité de l'ADN.

- **Dosage par Qubit 3.0**

Ce dosage est réalisé par un fluorimètre (Qubit 3.0) **(Figure 32).** Ce système utilise la technologie fluorimétrique spécialement conçue à l'aide de colorants Molecular Probes pour quantifier les biomolécules d'intérêt. Ces colorants fluorescents émettent des signaux uniquement lorsqu'ils sont liés à des molécules cibles spécifiques. Une courbe d'étalonnage est obtenue grace à l'utilisation de standards. Une fois l'ADN est dosé, il est conservé à -80°C pour une utilisation ultérieure.




**Figure 32 Fluorimètre (Qubit 3.0)**

Les échantillons obtenus sont dilués avent l'étape suivante pour obtenir une concentration finale de 10 ng/µl.

## 4-4 Amplification de l'ADN tumorale par PCR

- **Principe de la PCR**

Le principe de la PCR (Polymerase Chain Reaction) repose sur l'amplification enzymatique *in vitro* par une enzyme (ADN polymérase) d'un court fragment du génome recherché. Cette technique se fait dans un Thermocycleur **(Figure 33).**



**Figure 33 Thermocycleur utilisé pour l'amplification de l'ADN tumoral.**

L'ADN polymérase utilisée est une Taq polymérase résistante à la chaleur, et purifiée à partir de *Thermus aquaticus*. Elle réalise une série de réactions en boucles permettant la réplication exponentielle d'une matrice d'ADN double brin. En effet, les produits obtenus à la fin de chaque cycle servent de matrice pour le cycle suivant.

Pour délimiter la séquence d'ADN à amplifier, on utilise deux amorces d'orientation opposée et complémentaires de deux séquences adjacentes à la région cible.

Chaque cycle de réplication est réalisé en trois étapes : 1- dénaturation de l'ADN double brin afin d'obtenir des matrices simple brin ; 2- hybridation des amorces spécifiques ; 3- polymérisation du brin complémentaire par la Taq polymérase **(Figure 34).**

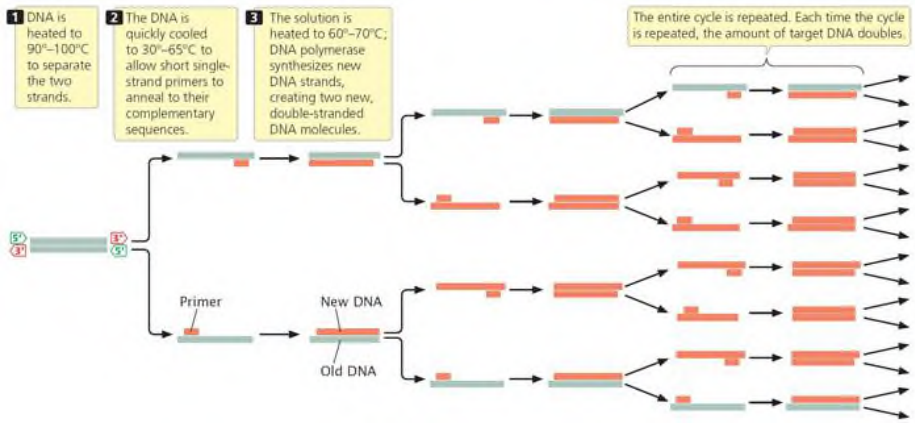



**Figure 34 Principe de la PCR**

- **Protocole de la PCR**

L'amplification de l'exon 2 du gène *KRAS* était réalisée en choisissant les amorces suivantes :

| Cible | Séquence des amorces F/R (5'→3') | Taille de l'amorce (b) |
|---|---|---|
| **Gène KRAS, exon 2.** | F : 5' –GGTGGAGTATTTGATAGTGTA- 3' | 21 |
| | R : 5' –GGTCCTGCACCAGTAATATGCA- 3' | 22 |

Pour chaque essai de PCR, un témoin négatif exempt d'ADN a été associé à l'ensemble des échantillons traités, ce qui permet de contrôler la qualité de la manipulation et s'assurer de l'absence des contaminants d'acides nucléiques. Les amplifications réalisées dans le milieu réactionnel sont détaillées dans le tableau 12.

**Tableau 12 Protocole PCR utilisé pour amplifier l'exon 2 du gène KRAS.**

| Mélange réactionnel | Concentration initiale | Volume utilisée pour une réaction (µl) |
|---|---|---|
| **Tampon** | 25 mM | 5 |
| **$MgCl_2$** | (10 mM) | 4 |
| **dNTP** | 12,5 uM | 1 |
| **Amorce F** | 12,5 uM | 1 |
| **Amorce F** | (5u/ml) | 1 |
| **Taq polymérase** | 25 mM | 0,4 |
| **H20** | | 32,6 |
| **ADN tumoral** | 10 ng/ml | 5 |

L'amplification est effectuée en 30 cycles précédés par une étape de dénaturation initiale qui 32dure 6 min à 94°C. Chaque cycle suivant comporte les phases suivantes : (1) dénaturation à 94°C pendant 45 secondes ; (2) hybridation des amorces à 53°C pendant 30 secondes ; et (3) élongation à 72°C pendant 30 secondes.

Après l'achèvement des 30 cycles, une élongation finale est réalisée à 72°C durant 10 min.

## 4-5 Electrophorèse des produits PCR

Le contrôle des produits PCR amplifiés se fait par électrophorèse sur gel d'agarose.

Les produits PCR obtenus sont soumis à une électrophorèse sur gel d'agarose 2% pour apprécier la qualité et la quantité des amplicons. Le gel utilisé contient 1 g de poudre d'agarose, 50 ml du tampon TBE 1X et 2 µl du bromure d'éthidium (10 mg/ml). Un marqueur de taille est également déposé pour identifier le poids moléculaire des amplicons ciblés initialement. Après migration sous champ électrique, les bandes ayant été séparées selon leurs poids moléculaires sont visualisées sous lumière UV grâce à l'intercalation du bromure d'éthidium entre les différentes paires de bases **(Figure 35).**

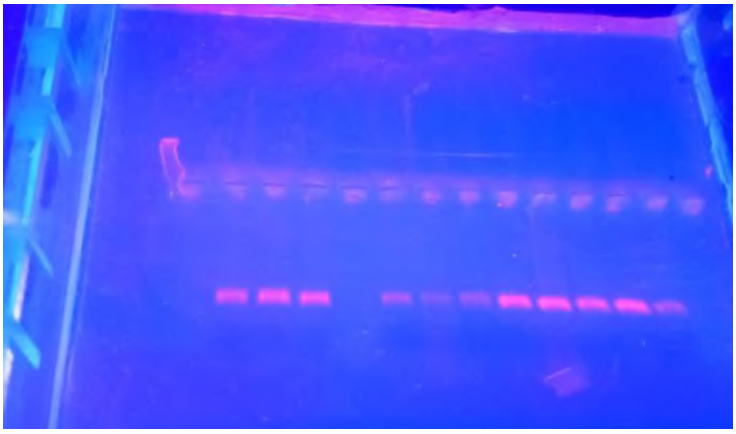


**Figure 35 Electrophorèse de l'ADN tumoral révélant des bandes fluorescentes.**

Après avoir ajusté les paramètres PCR, nous avons procédé au séquençage des produits PCR, après nous être assurés qu'il n'y avait pas de contamination dans le contrôle négatif et que les bandes PCR étaient suffisamment intenses pour être séquencées.

## 4-6 Séquençage de l'ADN

Le séquençage de l'ADN consiste à déterminer l'ordre d'enchaînement des bases azotées (A, T, G et C) pour un fragment d'ADN donné. Dans notre étude, c'est le séquençage classique de Sanger qui a été employé en utilisant le séquenceur 3500 XD **(Figure 36)**.



**Figure 36 Le séquenceur 3500 DX utilisé pour le séquençage de l'ADN.**

- **Principe du séquençage de Sanger**

Tout comme la PCR, le séquençage de Sanger permet d'amplifier l'ADN cible par puis de le dénaturer afin d'obtenir un ADN simple brin. À l'aide de l'amorce

spécifique utilisée en PCR (sens ou antisens), la synthèse de l'ADN complémentaire à partir de cette amorce est effectuée par une ADN polymérase qui additionne progressivement les désoxyribonucléotides triphosphates (dNTP) de l'extrémité 5 vers l'extrémité 3.

Comme le milieu réactionnel contient aussi des didéoxyribonucléotides triphosphates (ddNTP), cette enzyme ajoute d'une manière aléatoire inconstante les ddNTP à la place des DNTP. L'insertion par exemple de (ddATP) la place de dATP conduit à l'arrêt de la polymérisation suite à l'absence de l'extrémité 3' libre dans les ddNTP.
La réaction se faisant dans un seul tube, les ddNTP (ddATP, ddGTP, ddCTP et ddTTP) sont marqués à l'aide de 4 fluorophores « couleurs » spécifiques à chaque ddNTP.
A l'issu de cette étape, les nombreuses séquences d'ADN de différentes longueurs portent un fluorophore terminal. Elles sont dites "terminateurs d'élongation" ou "BigDye Terminators".

Les fragments d'ADN sont séparés ensuite par électrophorèse capillaire. Chaque fragment avec un ddNTP à son extrémité sera excité par un laser, induisant l'émission d'un signal sous forme d'une fluorescence émise qui sera reçue par un détecteur lié à un logiciel capable de les analyser pour tracer un électrophorégramme.

- **Protocole du séquençage Sanger**

Les produits PCR sont d'abord purifiés avant d'entamer la réaction de séquence qui est ensuite purifiée avant l'analyse finale des résultats.

- **Purification des produits PCR**

La purification consiste à éliminer les amorces et les dNTP, pour ne garder que l'ADN à séquencer. Dans un tube Eppendorf de 0.2 ml, 2.5 µl de la solution ExoSap est mise en présence de 5.5 µl du produit PCR. Le mélange réactionnel est ensuite déposé dans le Thermocycleur selon un programme de purification qui dure 1h 30 au totale **(Figure 37)**

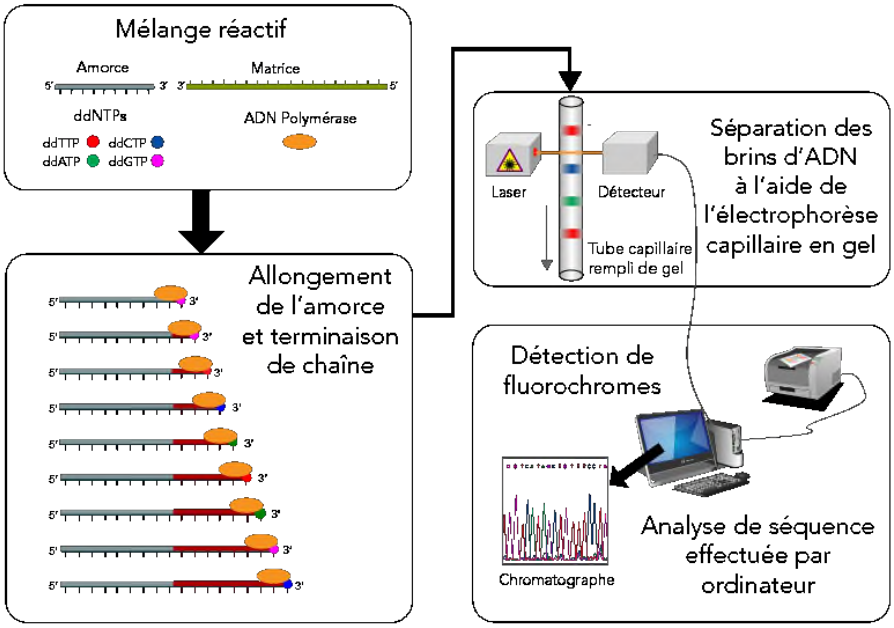



**Figure 37 Principe du séquençage de Sanger.**

- **La réaction de séquence**

Cette étape permet l'extension de chaque produit simple brin qui se termine par un ddNTP spécifique. Le programme de cette réaction est détaillé dans **le tableau 13.**

La réaction de séquence est réalisée à l'aide d'un Kit « ABI®BigDye® Terminator V1.1 cycle sequencing ». Un mix constitué du BigDye (Taq polymérase, dNTP, ddNTP, ddNTP marqués, tampon, MgCl2), de l'amorce sens ou antisens, de l'eau purifiée stérile **(Tableau 14),** et du produit PCR purifié est préparé dans un tube Eppendorf puis incubé dans le thermocycleur suivant le programme détaillé dans **le tableau 15.**

**Tableau 13 Programme de la réaction de séquence.**

| Etape | Température | Temps | Cycles |
|---|---|---|---|
| **1** | 96°C | 1 min | 1 |
| **2** | 96°C<br>50°C<br>60°C | 10 s<br>5 s<br>4 min | 25 |
| **3** | 60°C | ∞ | 1 |

**Tableau 14 Volumes des réactifs du mix de la réaction de séquence.**

| Mélange réactionnel | BigDye (µl) | Amorces 10mM (µl) | Produit. PCR purifié (µl) | Eau stérile (µl) | Volume finale (µl) |
|---|---|---|---|---|---|
| Tube 1 F (contenant les amorces F) | 1.5 | 1 | 5.5 | 3 | 11 |
| Tube 1 R (contenant les amorces R) | 1.5 | 1 | 5.5 | 3 | 11 |

**Tableau 15 Programme de la réaction de séquence**

| Etapes | Température (°C) | Temps | Cycles |
|---|---|---|---|
| **1** | 96 | 1 | 1 |
| **2** | 96<br>50<br>60 | 10 s<br>5 s<br>4 min | 25 |
| **3** | 10 | | 1 |

- **Purification de la réaction de séquence**

Cette étape vise à éliminer l'excès des réactifs de la réaction de séquence pour ne pas gêner la lecture. Cette purification est réalisée au moyen d'un Kit **«** BigDye® XTerminator™ purification Kit » constitué du SAM™Solution (tampon), et de résines BigDye®XTerminator™Solution. Le protocole consiste à mélanger 45 µl du SAM, 10 µl du BigDye, et 5 µl du produit de la réaction de séquence, dans un tube eppendorf de 0.2 ul.

Le mélange est vigoureusement agité pendant 30 mn, puis centrifugé 2 minutes à 13 000 tr/mn. On dépose ensuite 13 µl du surnageant sur la plaque de séquençage, puis le programme est lancé sur le séquenceur 3500 XD.

➢ **Analyse des séquences**

Un traitement informatique des données physiques (fluorescences) permet de tracer un électrophorégramme qui traduit la séquence en nucléotides de la région amplifiée. Le logiciel d'analyse des séquences utilisé est le « séquencing analysis ». La séquence otenue est ensuite comparée à la séquence de référence

La lecture des résultats se fait toujours à l'aide d'une amorce sens et anti-sens afin de confirmer l'éventuelle mutation en question **(Figure 38).**

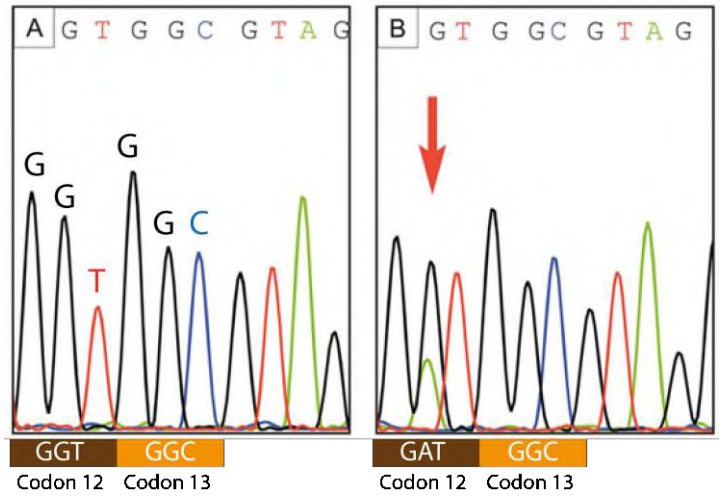



**Figure 38 Électrophorégramme révélant une mutation de substitution de G en A au niveau du codon 12 de l'exon 2.**

# 5- Analyse statistique

## 5-1 Variables de l'étude

Les variables de l'étude ont été classées en deux groupes : variable d'intérêt principale (variable dépendante) et les variables explicatives (variables indépendantes). La variable d'intérêt principal était la présence ou non d'une mutation *KRAS* notée (*KRAS* sauvage /*KRAS* muté). Les variables explicatives étaient les caractères sociodémographiques tels que le sexe, l'âge, la résidence, le statut matrimonial, le niveau d'éducation, le revenu mensuel, et d'autres

variables comme : l'activité physique, l'indice de masse corporelle (IMC), la consommation du tabac, la localisation tumorale, l'apport énergétique total, l'apport en graisses totales, l'apport en SFA, en PMUFA et en PUFA.

### 5-1-1 Variable d'intérêt principal (statut mutationnel)

Le statut mutationnel était défini par les tumeurs porteuses de mutations *KRAS* au niveau de l'exon2 dans les codons 12 et 13. Les tumeurs ne portant pas de telles mutations ont été définies comme étant *KRAS* sauvage.

### 5-1-2 Variables explicatives

**- L' apport énergétique total :** cette variable a été calculée en multipliant les apports quotidiens de chaque aliment par la teneur en calories (pour 100 g) de tous les aliments en se basant sur la table de composition alimentaire marocaine (222).

**- La consommation des graisses alimentaires (SFA, PUFA, MUFA) :** En se basant sur la table de composition alimentaire marocaine, ces apports nutritionnels ont été calculés en multipliant les apports quotidiens de chaque aliment par la teneur en nutriments de tous les aliments. Ces consommations sont des variables quantitatives (g/jour), qu'on a catégorisées en des variables qualitatives : les médianes des apports consommés des graisses totales et des sous-groupes de gras (SFA, PUFA, MUFA).

La contribution des SFA et PUFA dans l'apport énegétique global a été calculé à partir de la formule suivante : %E = Quantité de l'aliment en gramme x 900/apport énergétique total.

La contribution des MUFA dans l'apport énergétique global est calculé à partir de la formule suivante : % MUFA = Graisses totales [%E] – SFA [%E] – PUFA [%E] – Gras trans [%E].
Or la dernière variable (Acides gras-trans) n'est pas disponible pour cette étude.

Les principaux groupes d'aliments cités dans le FFQ qui contiennent une forte proportion de matières grasses étaient :

- les huiles végétales (100 %) ; la matière grasse originelle de soja (99 %) ; le beurre animal (82 %) ; la matière grasse à tartiner (80 %), le beurre traditionnel (smen 77%), la myonnaise (78%) ; les noix et pois chiches (65%), les amandes et crème double (50%), etc.

A partir de ces groupes alimentaires, la composition en termes de SFA, PUFA, MUFA des aliments suivants a été déterminée en se basant sur la table alimentaire marocaine.

Les SFA étaient principalement présents dans les graisses animales (52%), les margarines et huiles végétales (35%), les madeleines (16%), la crème (15%), l'huile d'olive, le chocolat (14%), l'huile de maïs, le fromage (13%), croissants (12%), frites, viandes rouges (11%).

La principale source de MUFA provient des huiles végétales (56%), margarines et graisses végétales (36%), graisses animales (21%), myonnaise (19%), fruits secs (16%), bonbons marocains, gâteau, noix de coco (16%), chocolat (13%). Les PUFA se retrouvent principalement dans la myonnaise (43%), les huiles végétales (30%), les fruits secs (15%), les chips, les mélanges de matières grasses (12%), les graines de soja (11%), les pommes de terre, et les gâteaux (5%).

- **Les variables sociodémographiques** : l'âge, le sexe (masculin et féminin), le milieu de résidence (urbain et rural), le statut matrimonial (célibataire, marié, divorcé, veuf), le niveau d'éducation (analphabète, primaire, secondaire, et supérieur), et le revenu mensuel (bas (≤2000 DH), moyen (>2000-≤5000DH), et haut (>5000)).

- **Les variables anthropométriques** : L'IMC (Indice de Masse Corporelle) a été calculé en divisant le poids sur la taille au carrée (IMC= poids/taille$^2$).

- **Les variables cliniques** : localisation tumorale (colon ou rectum).

- **Le statut tabagique** : (non consommateurs, anciens consommateurs et consommateurs actuels).

- **L'activité physique** : L'intensité de l'activité physique a été évaluée à l'aide du Global Physical Activity Questionnaire (GPAQ) et classée en trois catégories (élevée, modérée et faible) sur la base du score d'activité physique exprimé en équivalent métabolique de tâches-minutes par semaine (MET) (48) . Les MET ont été divisés en trois catégories : faible intensité (<600 MET-minutes par semaine), intensité modérée (600-3000 MET-minutes par semaine), intensité vigoureuse (≥3000 MET-minutes par semaine), et intensité (forte, modérée, et faible).

## 5-2 Etapes de l'analyse statistique

La première étape de l'analyse statistique concerne la description de l'échantillon en fonction du statut mutationnel (avec mutation *KRAS*+ / sans mutation *KRAS*-). Les variables qualitatives étaient représentées par des pourcentages (%) et les variables quantitatives par des moyennes et des écart-types (m ± ET).

Les comparaisons statistiques entre les deux groupes *KRAS* muté et *KRAS* sauvage, ont été effectuées pour toutes les variables qualitatives en utilisant le test $\chi 2$.

Pour les variables quantitatives, nous avons utilisé le test-student des échantillons indépendants. Une analyse bivariée a été réalisée pour étudier l'association entre le statut mutationnel *KRAS* et toutes les autres variables. Une régression logistique binaire a été utilisée pour estimer les OR et les intervalles de confiance à 95 % de l'association entre le statut *KRAS* et les apports en graisses totales et en différents types de gras. Nous avons inclus dans le modèle initial toutes les variables dont le p était inférieur à 0,2 et nous avons procédé par élimination pas à pas descendante jusqu'à l'obtention du modèle final. L'OR ajusté a été calculé en tenant compte des facteurs de confusion potentiels : âge, sexe et apport énergétique.

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées acev l'outil SPSS V.20.

## 6- Considérations éthiques

Cette étude a été approuvée par le Comité d'éthique de l'Université de Fès. Chaque patient CRC a signé son consentement avant de participer à l'étude et a donné la permission d'utiliser son échantillon de tissu en paraffine pour l'analyse moléculaire.

# III- Résultats de l'étude de l'association entre les acides gras et les mutations *KRAS* des CCRs au Maroc

Parmi 1484 cas de l'étude cas-témoin globale, 201 cas ont pu être inclus dans ce volet génétique dont la répartition par CHU est la suivante : Casablanca (76), Oujda (56), Rabat (38) et Fès (31 échantillons).

En raison de contraintes techniques (quantités insuffisantes des cellules tumorales, Specimen détérioré, etc.), seulement 120 échantillons parmi ceux de Rabat, Oujda et Casablanca ont été analysés au niveau du Laboratoire Centrale d'Analyses Médicales, au sein de l'unité de génétique médicale et d'oncogénétique du CHU Hassan II Fès.

En ce qui concerne le centre de Fès, nous avons pu obtenir les résultats des mutations *KRAS* de 31 patients dont la même analyse moléculaire a été préalablement établie augmentant ainsi la taille de notre population d'étude à 151.
**Le tableau 16** montre les échantillons analysés parmi ceux disponibles pour l'étude moléculaire.

**Tableau 16 Répartition des patients recrutés selon les centres hospitaliers**

| CHU | Nombre d'échantillons recueillis | Nombre d'échantillons analysés (échantillons exclus) |
|---|---|---|
| **Casablanca** | 76 | 58 (3 exclus) = 55 |
| **Oujda** | 56 | 39 |
| **Rabat** | 38 | 26 |
| **Fès** | 31 échantillons avec le statut *KRAS* déterminé au préalable. | |

## 1- Caractéristiques générales de la population d'étude

L'âge moyen de la population étudié était de 53,66 ± 13,99 ans. Plus de la moitié des participants étaient des femmes (55 %) et environ trois quarts étaient mariés (75,5%) et vivaient en milieu urbain (72,2%). La majorité des patients étaient des analphabètes (62,3%) et appartenaient à une classe sociale défavorisée avec un revenu mensuel inférieur à 2000 MAD (82,1%).

La plupart des participants étaient actifs (73,8 %) et n'avaient jamais fumé (84,8 %). La prévalence de l'obésité dans l'échantillon était de 16%, et 43,3% étaient en surpoids, et les tumeurs étaient localisées dans le côlon pour 49,7 % et dans le rectum pour 50,33 %. Comparé au groupe KRAS-, le groupe KRAS+ a montré une prévalence similaire de différentes caractéristiques, à l'exception de la résidence, où une fréquence élevée et intrigante de la mutation KRAS a été enregistrée dans la zone rurale **(Tableau 17).**

**Tableau 17 Caractéristiques générales de la population étudiée, N = 151.**

| **Caractéristiques générales** | | **Population totale n (%)** | **Cancer colorectal** | | **p** |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | **Tumeurs avec KRAS+ muté N=9952 n (%)** | **Tumeurs avec KRAS non muté KRAS- N=9952 n (%)** | |
| **Age** (années), Moyenne (ET) | | 53,6 (14) | 54,6 (13,2) | 53,2 (14,4) | 0,55 |
| **Sexe** | Femme | 83 (55,00) | 28 (53,80) | 55 (55,60) | 0,84 |
| **État civil** | Célibataire | 13 (8,60) | 4 (7,70) | 9 (9,10) | |
| | Marié (e) | 114 (75,50) | 37 (71,20) | 77 (77,8) | 0,63 |
| | Divorcé (e) | 7 (4,60) | 3 (5,80) | 4 (4,00) | |
| | Veuf (ve) | 17 (11,30) | 8 (15,40) | 9 (9,10) | |
| **Zone de résidence** | Urban | 109 (72,20) | 34 (65,40) | 75 (75,80) | 0,17 |
| | Rural | 42 (27,80) | 18 (34,60) | 24 (24,20) | |
| **Niveau d'éducation** | Analphabète | 94 (62,30) | 33 (63,50) | 61 (61,60) | |
| | Primaire | 28 (18,50) | 9 (17,30) | 19 (19,20) | 0,48 |
| | Secondaire ou universitaire | 29 (19,20) | 10 (19,20) | 19 (19,20) | |

Mis en forme : Centré, Espace Avant : 0 pt

Tableau mis en forme

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **Revenu mensuel (MDH)** | ≤2000 | 124 (82,10) | 45 (86,50) | 79 (79,80) | |
| | >2000 | 27 (17,90) | 7 (13,50) | 20 (20,20) | 0,29 |
| **Tabagisme** | Non-fumeurs | 128 (84,80) | 44 (84,60) | 84 (84,80) | 0,82 |
| | Fumeurs et ex-fumeurs | 23 (15,20) | 8 (15,40) | 15 (15,20) | |
| **IMC** | Normal | 61 (40,70) | 20 (38,50) | 41 (41,80) | |
| | Surpoids | 65 (43,30) | 23 (44,20) | 42 (42,90) | 0,90 |
| | Obésité | 24 (16,00) | 9 (17,30) | 15 (15,30) | |
| **Activité physique** | Inactive | 39 (26,20) | 12 (23,10) | 27 (27,80) | 0,52 |
| | Active | 110 (73,80) | 40 (76,90) | 70 (72,20) | |
| **Emplacement de la tumeur** | Colon | 75 (49,70) | 24 (46,20) | 51 (51,50) | 0,53 |
| | Rectum | 76 (50,30) | 28 (53,80) | 48 (48,50) | |

IMC : Indice de masse corporelle, MDH : Dirham marocain, ET : écart type

Les principales caractéristiques de la population d'étude de série de cas (âge, sexe, apport énergétique) ne diffèrent pas de celles observées sur la population de l'étude cas-témoin globale **(Tableau 18).**

**Tableau 18 Comparaison des principales caractéristiques (âge, sexe et apport énergétique) entre la population de l'étude cas-témoins globale et de l'étude de série de cas**

| Variables | Cas de l'étude cas-témoins globale (N=1483) | Cas de l'étude de série de cas (n = 151) | p |
|---|---|---|---|
| **Moyenne d'âge (± ET)** | 56,45 (±13,98) | 53,60 (± 14) | 0,44 |
| **Moyenne de l'apport énergétique (± ET)** | 3244,66 (± 827,26) | 3288,87 ± 1004,44 | 0,99 |
| **Fréquence du sexe (femmes)** | 50,30% | 55,00% | 0,89 |

## 2- Description de la mutation *KRAS* chez la population étudiée

L'analyse des mutations a été effectuée dans 151 cas parmi les 154 patients atteints de CCR (98 %). Les mutations *KRAS* ont été détectées dans 34,4% (52/151) des patients, dont 65,4% avaient une mutation unique au codon 12, et 34,6% portaient une mutation unique au codon 13. Les mutations les plus fréquentes étaient : 35G>A (30,8%), 38G>A (30,8%) et 35G>T (15,4%) **(Tableau 19).** Parmi ces mutations, 53,8 % sont localisées dans le rectum, tandis que 46,2 % se trouvent dans le côlon.

**Tableau 19 Distribution des mutations KRAS dans les codons 12 et 13 de l'exon 2.**

| Codon | Base | Sauvage | Muté | Changement des acides aminés | Mutations *KRAS* (N=52) |
|---|---|---|---|---|---|
| **12** | 1ère | G | A | G12S | 1 (1,9%) |
| | | | T | G12C | 3 (5,8%) |
| | 2ème | G | A | G12D | 16 (30,8 %) |
| | | | T | G12V | 8 (15,4%) |
| | | | C | G12A | 4 (7,7%) |
| | 3ème | T | A | Pas de changement | 1 (1,9%) |
| | | | C | Pas de changement | 1 (1,9%) |
| **13** | 2ème | G | A | G13D | 16 (30,8 %) |
| | 3ème | C | T | Pas de changement | 2 (3,8%) |

## 4-Association entre l'apport en graisses alimentaires et les mutations *KRAS*

L'apport alimentaire dans les groupes *KRAS*$^{+}$ et *KRAS*$^{-}$ est présenté dans **le tableau 21**. Le groupe *KRAS*$^{+}$ avait des apports plus élevés en apport énergétique, en graisses totales et en différents sous-groupes de graisses (SFA, MUFA et PUFA) par rapport au groupe *KRAS*$^{-}$. À l'exception des graisses saturées, toutes les différences observées étaient statistiquement significatives.

**Tableau 20 Moyennes de l'apport énergétique et de l'apport en graisses totales et en gras chez la population étudiée ainsi que leur contribution dans l'apport énergétique total.**

| Variables | Moyenne | Contribution dans l'apport énergétique total sans alcool | Recommandations chez l'adulte (224) |
|---|---|---|---|
| **Apport énergétique sans alcool (kcal/jour)** | 3048,99±1552,50 | 100% | |
| **Matière grasse totale (g/jour)** | 102,78±46,75 | 30,33% | 20 à 35% |
| **SFA (g/jour)** | 40,14±37,19 | 11,85% | <10% |
| **MUFA (g/jour)** | 38,37±19,96 | Il manque des données pour la calculer | - |
| **PUFA (g/jour)** | 17,42±8,25 | 5,14 % | 6 à11% avec 2,5 à 3,5% pour prévenir une carence |

L'apport en graisses totales et en PUFA avoisinent les recommandations de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture. On note cependant un apport légérement excessif en SFA dans la population étudiée.

**Tableau 21 Apport en graisses alimentaires stratifié selon la présence de mutations KRAS dans les codons 12 et 13.**

| Variables | *KRAS*+ muté<br>Moyenne ± ET | *KRAS* non muté–<br>Moyenne ± ET | p |
|---|---|---|---|
| **Apport énergétique (kcal/jour)** | 4663,84±1566,51 | 2853,73±1402,67 | 0,03 |
| **Matière grasse totale (g/jour)** | 116,11±60,94 | 95,71±35,49 | 0,01 |
| **SFA (g/jour)** | 45,71±41,07 | 37,15±34,80 | 0,18 |
| **MUFA (g/jour)** | 43,82±22,22 | 35,45±18,09 | 0,01 |
| **PUFA (g/jour)** | 19,77±8,25 | 16,16±5,76 | 0,01 |

SFA : acides gras saturés. MUFA : acides gras mono-insaturés, PUFA : acides gras poly-insaturés, ET : écart-type.

Sur la base de l'apport médian de variables lipidiques (faibles consommateurs contre consommateurs élevés), aucune association significative n'a été observée entre les graisses totales, les apports en SFA et la mutation *KRAS*. Les apports en PUFA et MUFA étaient positivement associés aux tumeurs présentant des mutations *KRAS*. Par conséquent, un apport plus élevé en MUFA (au-delà de 34,9 g/jour) était significativement associé à l'occurrence des mutations *KRAS* par rapport à l'apport le plus faible (au-dessus de 34,9) (OR = 1,56, IC à 95 % = 1,17–3,61). Une augmentation de la consommation de PUFA au-delà de 16,9 g/jour a été associée à une augmentation du risque de mutations *KRAS* (OR = 2,48, IC 95% = 1,22-4,96) par rapport au groupe de référence dont la consommation est inférieure à 16,9 g **(Tableau 22).**

Après ajustement sur les facteurs de confusion (âge, sexe et apport énergétique), une association positive était toujours observée, entre une consommation élevée de PUFA (> 16,9 g/jour) et des mutations *KRAS* (OR=2,15, 95% IC=1,01-4,59). Cependant, aucune association significative n'a été observée pour les autres variables (graisse totale, MUFA et SFA) et la mutation *KRAS* sur les codons 12 et 13 de l'exon 2 **(Tableau 22).**

**Tableau 22 OR bruts et ajustés pour l'apport en matières grasses et le risque de mutations KRAS dans les tumeurs colorectales (faibles consommateurs versus consommateurs élevés sur la base de l'apport médian) (N =151)**

| Apport de matières grasses | | Apport faible | Apport élevé |
|---|---|---|---|
| **Matière grasse totale (g/jour)** | Mediane | ≤94,04 | >94,04 |
| | OR (95% CI) | 1 | 1,34(0,68-2,64) |
| | ORa (95% CI) | | 1,35(0,29-1,84) |
| **SFA (g/jour)** | Mediane | ≤ 27,35 | > 27,35 |
| | OR (95% CI) | 1 | 1,61 (0,80-3,21) |
| | ORa (95% CI) | | 1,33 (0,29-2,42) |
| **MUFA (g/jour)** | Mediane | ≤34,92 | >34,92 |
| | OR (95% CI) | 1 | 1,56 (1,17-3,61) |
| | ORa (95% CI) | | 1,11(0,54-2,24) |
| **PUFA (g/jour)** | Mediane | ≤16,87 | >16,87 |
| | OR (95% CI) | 1 | 2,48 (1,22-4,96) |
| | ORa (95% CI) | | 2,15(1,01- 4,59) |

ORa : OR ajusté pour l'âge, le sexe et l'apport énergétique, SFA: acides gras saturés. MUFA : acides gras mono-insaturés, PUFA : acides gras poly-insaturés.

# IV- Discussion de l'association entre les acides gras et les mutations *KRAS* des CCRs au Maroc

## 1- Prévalence de mutations *KRAS*

Dans la présente étude, nous cherchons à déterminer l'association entre l'apport en graisses et les mutations de *KRAS* aux codons 12 et 13 de l'exon 2, dans le cas du cancer colorectal.
La fréquence des mutations *KRAS* (34,44%) au codon 12 et 13 de l'exon 2, trouvée dans cet échantillon marocain, semble être similaire aux patients d'autres régions du monde.

- Région de la Méditerranée orientale (EMRO) : 30,23% (225).

- Région européenne (EURO) : 35,12% (225).

- Région américaine (PAHO) (31,83 %), (225)

- Région de l'Asie du Sud-Est (SEARO) : 33,17 % (225).

- Région du Pacifique occidental (WAPRO) : 32,64 % (225).

- Région du Moyen-Orient et de l'Afrique du Nord (MENA) qui comprend le Maroc (32,4 %) (226).

Par rapport aux données nationales, Dehbi et al., ont trouvé une prévalence égale à 39,5% (45/114) (89), quand d'autres chercheurs ont observé respectivement 29% (18/62), 23,9% (22/92), 33,3% (36/116) et 28 % (16/57) (90–92). La fréquence de *KRAS* obtenue est donc relativement similaire à celles déjà relevées dans le contexte marocain.

## 2- Nature des mutations *KRAS*

Concernant la nature des mutations *KRAS*, une prévalence particulièrement élevée au niveau du codon 13 a été détectée. Il s'agit des mutations 38G>A et 35G>A qui représentent chacune 30,8% de l'ensemble des mutations. Cette distribution diffère des données locales et internationales révélant une nette prédominance de 35G>A (89,227–229).

Parmi les études nationales, notre étude a inclus le plus grand nombre de cas (N=151), recueillis dans presque toutes les régions du pays. Ces aspects devraient rendre nos données plus représentatives du profil génétique *KRAS* en comparaison avec les études locales.

## 3- Association entre l'apport lipidique et les mutations *KRAS*

Nous n'avons trouvé aucune association entre les paramètres sociodémographiques et cliniques tels que l'âge, le sexe, l'IMC, la localisation de la tumeur et les mutations *KRAS.* Un fait observé dans la plupart des études nationales (230–232) et internationales (120,139,141).

L'exploration de l'apport énergétique et lipidique des patients CCR a montré que les graisses polyinsaturées (PUFA), mais pas les graisses totales, ni les graisses saturées et monoinsaturées, étaient associées à un risque accru de tumeurs porteuses de mutations *KRAS*. Ces résultats sont cohérents avec les résultats des études menées par Weijenberg et al qui ont rapporté le rôle cancérigène potentiel des PUFAs, et en particulier de l'acide linoléique (120,167).

De plus en plus de preuves suggèrent que les PUFAs alimentaires peuvent interagir avec les colonocytes directement ou indirectement par différents mécanismes ; dont les plus importants sont : l'absorption préférentielle des PUFAs par les cellules cancéreuses ; l'altération du

remodelage de la chromatine et de la structure membranaire ; la modification de la signalisation cellulaire et de l'épigénome via la modulation de la méthylation de l'ADN (233,234). De plus, les PUFAs peuvent interagir avec les radicaux oxygène dans les systèmes biologiques, induisant leur peroxydation et la formation d'une variété de produits, dont beaucoup interagissent avec les protéines et l'ADN. Le malondialdéhyde (MDA) est l'un des produits les plus abondants de la peroxydation des PUFAs reconnu pour son effet cancérigène et mutagène (235). Le pouvoir mutagène de cette substance a été démontré dans des essais sur cellules bactériennes, de mammifères et des cellules humaines, et son pouvoir cancérogène a été établi chez les rongeur (236). Le MDA induit des insertions et des délétions ainsi que des substitutions de bases azotées en réagissant avec l'ADN pour former des adduits à la désoxyguanosine et la désoxycytidine. Le principal aduit à l'ADN est une pyrimidopurinone appelée M1G qui est hautement mutagène chez les rongeurs et les cellules humaines (235). Les mutations les plus courantes sont les transversions G>T et les transitions G>A, avec une contribution mineure des transversions G>C (237,238). Dans la présente étude, nous avons observé que G>A (32/52 : 62 %) et G>T (8/52 : 15 %) sont les mutations les plus représentées qui sont en accord avec le spectre mutationnel causé par M1G.

Bien que le rôle des PUFAs n’est pas encore entièrement compris, les chercheurs ont observé qu'un régime riche en acides gras polyinsaturés stimulait une augmentation de près de 20 fois des niveaux de M1G jusqu'à des niveaux de 28 pour 107 nucléotides (239).

# Conclusions générales : Recommandations et perspectives

L'objectif principal de ce travail était d'étudier l'association possible entre la consommation des graisses et le risque de certaines mutations *KRAS* dans le cadre du CCR au Maroc.

En premier lieu, nous avons élaboré une revue systématique de la littérature qui a permis de faire l'état des lieux des différents résultats figurant dans tous les articles à l'échelle mondiale. Ces articles traitaient l'association entre les facteurs nutritionnels et les mutations *KRAS*.
Cette revue a montré une incohérence des résultats concernant presque la totalité des aliments ou des nutriments étudiés. En effet, le nombre d'étude recensé était très faible, vue les contraintes de temps et de financement qui s'opposent à ce type d'étude alliant les données épidémiologiques et les données moléculaires.
La plupart des études relevées dans notre revue invitaient à l'investissement dans ce champ de recherche afin d'enrichir les bases de données internationales pour une meilleur compréhension de l'éthologie du CCR.
Selon cette perspective, nous avons exploré l'association possible entre les apports alimentaires en gras et le risque des mutations *KRAS* dans le contexte marocain. Dans l'ensemble, nous avons trouvé que la fréquence des mutations *KRAS* s'opèrent dans 34% des tumeurs analysées et qu'un apport alimentaire riche en PUFA (acides gras polyinsaturés) a été positivement associé avec ces mutations. Ces résultats étaient en concordance avec les résultats publiés à l'échelle internationale sauf pour les fréquences spécifiques des mutations *KRAS* qui révèlent une haute prévalence au niveau du codon 13.

Cette étude présente certaines limites potentielles :
- Premièrement, en raison de la conception rétrospective de l'étude, les données nutritionnelles collectées peuvent être sujettes à un biais de rappel, mais comme l'étude ne concerne que des cas (pas de contrôle), l'impact de ce biais pourrait être donc atténué.

- Deuxièmement, les patients modifient probablement spontanément leur alimentation une fois que les premiers symptômes suspectés sont apparus avant que le diagnostic de cancer ne soit confirmé, ce qui peut conduire à un biais de classification erronée. L'inclusion des patients nouvellement diagnostiqués (moins de 3 mois après le diagnostic) et la collecte du régime alimentaire habituel au cours des 12 mois précédant le diagnostic peuvent réduire ce biais. En

plus, l'inclusion des cas, diminue également le biais de mauvaise classification lié à une surestimation des aliments reconnus comme étant un facteur de risque de CCR.

- Troisièmement, les aberrations dans d'autres gènes impliqués dans la carcinogenèse colorectale ne sont pas disponibles pour cette étude et seuls les codons 12 et 13 de l'exon 2 ont été analysés. En plus, les PUFA spécifiques (acides gras ω-6 et ω -3), en particulier l'acide linolénique comme principal représentant de PUFA, ne sont pas évalués.

- Quatrièmement, la conversion des apports nutritionnels journaliers consommés en macronutriments et en micronutriments a été produite grâce à une table de composition alimentaire inspirée des tables de différents pays tels que la France et les états unis, dont la composition nutritionnelle diffère par rapport au Maroc.

- Enfin, pour cette étude de série de cas, les résultats sont basés sur un nombre relativement faible de patients, ce qui a rendu impossible l'analyse stratifiée de plusieurs caractéristiques, notamment, de la localisation tumorale.

En dépit de ces limites, cette étude présente plusieurs points forts :

C'est la première étude en son genre au Maroc et en Afrique.

- Les participants ont été recrutés dans les principaux quatre grands centres hospitaliers universitaires (CHU) du Maroc, et pouvaient être considérés comme représentatifs de la population marocaine.

- La collecte des données nutritionnelles s'est basée sur un FFQ adapté au contexte national prenant en compte les spécificités culturelles locales de toutes les régions incluses.

- Les variables relatives aux apports alimentaires en graisses ont été calculées à partir d'une table marocaine de composition alimentaire, mise à jour en 2020.

- Les analyses génétiques d'échantillons tumoraux ont été effectuées dans un même laboratoire afin de standardiser au maximum les conditions d'analyse moléculaire. De plus, nous avons contrôlé un large éventail de facteurs de confusion potentiels notamment l'âge, la résidence, le niveau d'éducation, le revenu mensuel, l'activité physique, l'indice de masse corporelle et l'apport énergétique total.

Les résultats de cette étude sont harmonieux avec les résultats internationaux et suggèrent que les personnes qui ont un apport élevé de PUFA ont probablement un risque élevé pour la survenue des mutations *KRAS* impliquées dans la carcinogenèse colorectale.

Une consommation de PUFA supérieure à 16,9 g/jour, augmente le risque des mutations *KRAS* d'un facteur de 2,5. Les aliments riches en PUFA sont surtout les mayonnaise, les huiles végétales, les fruits secs, les chips, les graines de soja, les pommes de terre et les gâteaux qui présentent respectivement une teneur en PUFA avoisinant 43%, 30%, 15%, 11% et 5%.
La consommation raisonnable de ces aliments, pourrait minimiser les apports en PUFA et donc diminuer le risque des mutations *KRAS.*

Finalement, ce travail constitue une première contribution vers la mise en évidence des facteurs de risque associés à certaines mutations activatrices *KRAS* dans le cadre du CCR. Elle doit être complétée par d'autres études qui s'intéressent à :
- L'étude de l'association entre d'autres facteurs nutritionnels (per exemple le fer héminique, le folate, les vitamines, etc.) et le risque de la mutation *KRAS*.
- L'étude de l'association entre les facteurs nutritionnels connus pour le CCR et d'autres mutations affectant d'autres gènes clés du CCR, notamment les gènes APC, TP53, BRAF, etc.
- L'étude des facteurs relatifs au mode de vie et la survenue de différentes mutations impliquées dans le cancer colorectal.

# Références bibliographiques


1. Hou TY, Davidson LA, Kim E, Fan Y-Y, Fuentes NR, Triff K, et al. Nutrient-Gene Interaction in Colon Cancer, from the Membrane to Cellular Physiology. Annu Rev Nutr. 17 juill 2016;36:543- 70.
2. Benjelloun S. Nutrition transition in Morocco. Public Health Nutr. févr 2002;5(1A):135-40.
3. Maaroufi Y. Enquête nationale sur la consommation et les dépenses des ménages [Internet]. Site institutionnel du Haut-Commissariat au Plan du Royaume du Maroc. [cité 29 déc 2021]. Disponible sur: https://www.hcp.ma/Enquete-nationale-sur-la-consommation-et-les-depenses-des-menages_a95.html
4. Moghaddam AA, Woodward M, Huxley R. Obesity and risk of colorectal cancer: a meta-analysis of 31 studies with 70,000 events. Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol. déc 2007;16(12):2533-47.
5. Cefalì M, Epistolio S, Palmarocchi MC, Frattini M, De Dosso S. Research progress on KRAS mutations in colorectal cancer. J Cancer Metastasis Treat [Internet]. 11 mai 2021 [cité 6 oct 2021];7. Disponible sur: https://jcmtjournal.com/article/view/4035
6. Hughes LAE, Simons CCJM, van den Brandt PA, van Engeland M, Weijenberg MP. Lifestyle, Diet, and Colorectal Cancer Risk According to (Epi)genetic Instability: Current Evidence and Future Directions of Molecular Pathological Epidemiology. Curr Colorectal Cancer Rep. 2017;13(6):455-69.
7. El Asri A, Zarrouq B, El Kinany K, Bouguenouch L, Ouldim K, El Rhazi K. Associations between nutritional factors and KRAS mutations in colorectal cancer: a systematic review. BMC Cancer. 28 juill 2020;20(1):696.
8. Rizzo DC. Fundamentals of Anatomy and Physiology. 4th edition. Boston, MA: Cengage Learning; 2015. 576 p.
9. Mescher A. Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, Fifteenth Edition. 15th edition. Wrocław: McGraw-Hill Education / Medical; 2018. 576 p.
10. Morrison SJ, Spradling AC. Stem Cells and Niches: Mechanisms That Promote Stem Cell Maintenance throughout Life. Cell. 22 févr 2008;132(4):598-611.
11. Widmaier E, Raff H, Strang K. Vander's Human Physiology. 15th edition. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2018. 800 p.
12. Walther A, Johnstone E, Swanton C, Midgley R, Tomlinson I, Kerr D. Genetic prognostic and predictive markers in colorectal cancer. Nat Rev Cancer. juill 2009;9(7):489-99.
13. Kuipers EJ, Grady WM, Lieberman D, Seufferlein T, Sung JJ, Boelens PG, et al. COLORECTAL CANCER. Nat Rev Dis Primer. 5 nov 2015;1:15065.
14. Amin MB, Edge S, Greene F, Byrd DR, Brookland RK, Washington MK, et al., éditeurs. AJCC Cancer Staging Manual [Internet]. 8e éd. Springer International Publishing; 2017 [cité 2 sept 2021]. Disponible sur: https://www.springer.com/gp/book/9783319406176
15. Lee AM, Shi Q, Pavey E, Alberts SR, Sargent DJ, Sinicrope FA, et al. DPYD Variants as Predictors of 5-fluorouracil Toxicity in Adjuvant Colon Cancer Treatment (NCCTG N0147). JNCI J Natl Cancer Inst [Internet]. déc 2014 [cité 6 janv 2022];106(12). Disponible sur: https://academic.oup.com/jnci/article-lookup/doi/10.1093/jnci/dju298
16. Zeki SS, Graham TA, Wright NA. Stem cells and their implications for colorectal cancer. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. févr 2011;8(2):90-100.
17. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. Cell. 4 mars 2011;144(5):646-74.
18. Grady WM, Carethers JM. Genomic and epigenetic instability in colorectal cancer pathogenesis. Gastroenterology. oct 2008;135(4):1079-99.
19. Hause RJ, Pritchard CC, Shendure J, Salipante SJ. Classification and characterization of microsatellite instability across 18 cancer types. Nat Med. nov 2016;22(11):1342-50.

20. Weisenberger DJ, Liang G, Lenz H-J. DNA methylation aberrancies delineate clinically distinct subsets of colorectal cancer and provide novel targets for epigenetic therapies. Oncogene. 1 févr 2018;37(5):566-77.
21. Wood LD, Parsons DW, Jones S, Lin J, Sjöblom T, Leary RJ, et al. The genomic landscapes of human breast and colorectal cancers. Science. 16 nov 2007;318(5853):1108-13.
22. Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, Zhou S, Diaz LA, Kinzler KW. Cancer genome landscapes. Science. 29 mars 2013;339(6127):1546-58.
23. Nguyen HT, Duong H-Q. The molecular characteristics of colorectal cancer: Implications for diagnosis and therapy (Review). Oncol Lett. 1 juill 2018;16(1):9-18.
24. Koveitypour Z, Panahi F, Vakilian M, Peymani M, Seyed Forootan F, Nasr Esfahani MH, et al. Signaling pathways involved in colorectal cancer progression. Cell Biosci. 2 déc 2019;9(1):97.
25. Zenonos K, Kyprianou K. RAS signaling pathways, mutations and their role in colorectal cancer. World J Gastrointest Oncol. 15 mai 2013;5(5):97-101.
26. Shi X, Wang J, Lei Y, Cong C, Tan D, Zhou X. Research progress on the PI3K/AKT signaling pathway in gynecological cancer (Review). Mol Med Rep. 1 juin 2019;19(6):4529-35.
27. Guinney J, Dienstmann R, Wang X, de Reyniès A, Schlicker A, Soneson C, et al. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. Nat Med. nov 2015;21(11):1350-6.
28. Guo Y-J, Pan W-W, Liu S-B, Shen Z-F, Xu Y, Hu L-L. ERK/MAPK signalling pathway and tumorigenesis (Review). Exp Ther Med. 1 mars 2020;19(3):1997-2007.
29. Cox AD, Der CJ. Ras history. Small GTPases. 2010;1(1):2-27.
30. An Overview of RAS Oncoproteins [Internet]. News-Medical.net. 2019 [cité 3 oct 2021]. Disponible sur: https://www.news-medical.net/whitepaper/20190917/An-Overview-of-RAS-Oncoproteins.aspx
31. Bylsma LC, Gillezeau C, Garawin TA, Kelsh MA, Fryzek JP, Sangaré L, et al. Prevalence of RAS and BRAF mutations in metastatic colorectal cancer patients by tumor sidedness: A systematic review and meta-analysis. Cancer Med. 19 déc 2019;9(3):1044-57.
32. KRAS (Kirsten rat sarcoma 2 viral oncogene homolog) [Internet]. [cité 5 oct 2021]. Disponible sur: http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/GC_KRAS.html
33. Carta C, Pantaleoni F, Bocchinfuso G, Stella L, Vasta I, Sarkozy A, et al. Germline Missense Mutations Affecting KRAS Isoform B Are Associated with a Severe Noonan Syndrome Phenotype. Am J Hum Genet. juill 2006;79(1):129-35.
34. Schöneborn H, Raudzus F, Coppey M, Neumann S, Heumann R. Perspectives of RAS and RHEB GTPase signaling pathways in regenerating brain neurons. Int J Mol Sci. 14 déc 2018;19:4052.
35. Pantsar T. The current understanding of KRAS protein structure and dynamics. Comput Struct Biotechnol J. 1 janv 2020;18:189-98.
36. Cook JH, Melloni GEM, Gulhan DC, Park PJ, Haigis KM. The origins and genetic interactions of KRAS mutations are allele- and tissue-specific. Nat Commun. 22 mars 2021;12(1):1808.
37. Han CW, Jeong MS, Jang SB. Structure, signaling and the drug discovery of the Ras oncogene protein. BMB Rep. juill 2017;50(7):355-60.
38. Frémin C, Meloche S. Fremin C, Meloche SFrom basic research to clinical development of MEK1/2 inhibitors for cancer therapy. J Hematol Oncol 3: 8. J Hematol OncolJ Hematol Oncol. 1 févr 2010;3:8.
39. Wicki A, Herrmann R, Christofori G. Kras in metastatic colorectal cancer. Swiss Med Wkly. 19 nov 2010;140:w13112.
40. Eser S, Reiff N, Messer M, Seidler B, Gottschalk K, Dobler M, et al. Selective requirement of PI3K/PDK1 signaling for Kras oncogene-driven pancreatic cell plasticity and cancer. Cancer Cell. 18 mars 2013;23(3):406-20.
41. Kashatus DF. Ral GTPases in tumorigenesis: emerging from the shadows. Exp Cell Res. 10 sept 2013;319(15):2337-42.
42. Meng M, Zhong K, Jiang T, Liu Z, Kwan HY, Su T. The current understanding on the impact of KRAS on colorectal cancer. Biomed Pharmacother. 1 août 2021;140:111717.
43. Ballman KV. Biomarker: Predictive or Prognostic? J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol. 20 nov 2015;33(33):3968-71.

44. Gallo G, Sena G, Vescio G, Papandrea M, Sacco R, Trompetto M, et al. The prognostic value of KRAS and BRAF in stage I-III colorectal cancer. A systematic review. Ann Ital Chir. 2019;90:127-37.
45. Yuan Y, Liu Y, Wu Y, Zhang J, Shen C, Zhang F, et al. Clinical characteristics and prognostic value of the KRAS mutation in Chinese colorectal cancer patients. Int J Biol Markers. 1 juin 2021;36(2):33-9.
46. Dai D, Wang Y, Zhu L, Jin H, Wang X. Prognostic value of KRAS mutation status in colorectal cancer patients: a population-based competing risk analysis. PeerJ. 1 juin 2020;8:e9149.
47. Van Cutsem E, Köhne C-H, Hitre E, Zaluski J, Chang Chien C-R, Makhson A, et al. Cetuximab and chemotherapy as initial treatment for metastatic colorectal cancer. N Engl J Med. 2 avr 2009;360(14):1408-17.
48. Garcia J, Riely GJ, Nafa K, Ladanyi M. KRAS mutational testing in the selection of patients for EGFR-targeted therapies. Semin Diagn Pathol. nov 2008;25(4):288-94.
49. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA Cancer J Clin. 2021;71(3):209-49.
50. Dekker E, Tanis PJ, Vleugels JLA, Kasi PM, Wallace MB. Colorectal cancer. Lancet Lond Engl. 19 oct 2019;394(10207):1467-80.
51. Fidler MM, Soerjomataram I, Bray F. A global view on cancer incidence and national levels of the human development index. Int J Cancer. 1 déc 2016;139(11):2436-46.
52. Arnold M, Abnet CC, Neale RE, Vignat J, Giovannucci EL, McGlynn KA, et al. Global Burden of 5 Major Types of Gastrointestinal Cancer. Gastroenterology. juill 2020;159(1):335-349.e15.
53. Edwards BK, Ward E, Kohler BA, Eheman C, Zauber AG, Anderson RN, et al. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2006, featuring colorectal cancer trends and impact of interventions (risk factors, screening, and treatment) to reduce future rates. Cancer. 1 févr 2010;116(3):544-73.
54. Sullivan T, Sullivan R, Ginsburg OM. Screening for Cancer: Considerations for Low- and Middle-Income Countries. In: Gelband H, Jha P, Sankaranarayanan R, Horton S, éditeurs. Cancer: Disease Control Priorities, Third Edition (Volume 3) [Internet]. Washington (DC): The International Bank for Reconstruction and Development / The World Bank; 2015 [cité 8 oct 2021]. Disponible sur: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK343622/
55. Registre des Cancers de la Région du Grand Casablanca 2008-2012 [Internet]. [cité 8 oct 2021]. Disponible sur: https://www.contrelecancer.ma/fr/documents/registre-des-cancers-de-la-region-du-grand-casab-3/
56. Aran V, Victorino AP, Thuler LC, Ferreira CG. Colorectal Cancer: Epidemiology, Disease Mechanisms and Interventions to Reduce Onset and Mortality. Clin Colorectal Cancer. sept 2016;15(3):195-203.
57. Rawla P, Sunkara T, Barsouk A. Epidemiology of colorectal cancer: incidence, mortality, survival, and risk factors. Przeglad Gastroenterol. 2019;14(2):89-103.
58. Peterse EFP, Meester RGS, Siegel RL, Chen JC, Dwyer A, Ahnen DJ, et al. The impact of the rising colorectal cancer incidence in young adults on the optimal age to start screening: Microsimulation analysis I to inform the American Cancer Society colorectal cancer screening guideline. Cancer. 15 juill 2018;124(14):2964-73.
59. Vuik FE, Nieuwenburg SA, Bardou M, Lansdorp-Vogelaar I, Dinis-Ribeiro M, Bento MJ, et al. Increasing incidence of colorectal cancer in young adults in Europe over the last 25 years. Gut. oct 2019;68(10):1820-6.
60. Colorectal cancer statistics, 2020 - Siegel - 2020 - CA: A Cancer Journal for Clinicians - Wiley Online Library [Internet]. [cité 8 oct 2021]. Disponible sur: https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.3322/caac.21601
61. Ellis L, Abrahão R, McKinley M, Yang J, Somsouk M, Marchand LL, et al. Colorectal Cancer Incidence Trends by Age, Stage, and Racial/Ethnic Group in California, 1990-2014. Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol. sept 2018;27(9):1011-8.

62. Income and Poverty in the United States: 2015 [Internet]. [cité 9 oct 2021]. Disponible sur: https://www.census.gov/library/publications/2016/demo/p60-256.html
63. Patel SG, Ahnen DJ. Familial colon cancer syndromes: an update of a rapidly evolving field. Curr Gastroenterol Rep. oct 2012;14(5):428-38.
64. Butterworth AS, Higgins JPT, Pharoah P. Relative and absolute risk of colorectal cancer for individuals with a family history: a meta-analysis. Eur J Cancer Oxf Engl 1990. janv 2006;42(2):216-27.
65. Samadder NJ, Curtin K, Tuohy TMF, Rowe KG, Mineau GP, Smith KR, et al. Increased risk of colorectal neoplasia among family members of patients with colorectal cancer: a population-based study in Utah. Gastroenterology. oct 2014;147(4):814-821.e5; quiz e15-16.
66. Valle L, Vilar E, Tavtigian SV, Stoffel EM. Genetic predisposition to colorectal cancer: syndromes, genes, classification of genetic variants and implications for precision medicine. J Pathol. avr 2019;247(5):574-88.
67. Yang J, Gurudu SR, Koptiuch C, Agrawal D, Buxbaum JL, Abbas Fehmi SM, et al. American Society for Gastrointestinal Endoscopy guideline on the role of endoscopy in familial adenomatous polyposis syndromes. Gastrointest Endosc. mai 2020;91(5):963-982.e2.
68. Hnatyszyn A, Hryhorowicz S, Kaczmarek-Ryś M, Lis E, Słomski R, Scott RJ, et al. Colorectal carcinoma in the course of inflammatory bowel diseases. Hered Cancer Clin Pract. 2019;17:18.
69. Keller DS, Windsor A, Cohen R, Chand M. Colorectal cancer in inflammatory bowel disease: review of the evidence. Tech Coloproctology. janv 2019;23(1):3-13.
70. Ma Y, Yang W, Song M, Smith-Warner SA, Yang J, Li Y, et al. Type 2 diabetes and risk of colorectal cancer in two large U.S. prospective cohorts. Br J Cancer. nov 2018;119(11):1436-42.
71. Peeters PJHL, Bazelier MT, Leufkens HGM, de Vries F, De Bruin ML. The risk of colorectal cancer in patients with type 2 diabetes: associations with treatment stage and obesity. Diabetes Care. mars 2015;38(3):495-502.
72. Brzacki V, Nagorni A, Kallistratos M, Manolis A, Lovic D. Diabetes Mellitus: a Clinical Condition Associated with Metabolic Syndrome and Colorectal Cancer Risk. Curr Pharmacol Rep. août 2019;5(4):205-9.
73. Colorectal cancer - WCRF International [Internet]. [cité 10 oct 2021]. Disponible sur: https://www.wcrf.org/dietandcancer/colorectal-cancer/
74. Hatime Z, El Kinany K, Huybrechts I, Gunter MJ, Khalis M, Deoula M, et al. Extended healthy lifestyle index and colorectal cancer risk in the Moroccan population. Eur J Nutr. mars 2021;60(2):1013-22.
75. Koc S, Esin MN, Ardic A. Colorectal Cancer Prevention and Risk Counseling [Internet]. Colorectal Cancer - From Pathogenesis to Treatment. IntechOpen; 2016 [cité 10 oct 2021]. Disponible sur: https://www.intechopen.com/chapters/50972
76. Keum N, Giovannucci E. Global burden of colorectal cancer: emerging trends, risk factors and prevention strategies. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. déc 2019;16(12):713-32.
77. Carr PR, Alwers E, Bienert S, Weberpals J, Kloor M, Brenner H, et al. Lifestyle factors and risk of sporadic colorectal cancer by microsatellite instability status: a systematic review and meta-analyses. Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol. 1 avr 2018;29(4):825-34.
78. Giovannucci E. An updated review of the epidemiological evidence that cigarette smoking increases risk of colorectal cancer. Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol. juill 2001;10(7):725-31.
79. Walter V, Jansen L, Hoffmeister M, Brenner H. Smoking and survival of colorectal cancer patients: systematic review and meta-analysis. Ann Oncol. août 2014;25(8):1517-25.
80. Ahmed S, Johnson K, Ahmed O, Iqbal N. Advances in the management of colorectal cancer: from biology to treatment. Int J Colorectal Dis. sept 2014;29(9):1031-42.
81. Rossi M, Jahanzaib Anwar M, Usman A, Keshavarzian A, Bishehsari F. Colorectal Cancer and Alcohol Consumption-Populations to Molecules. Cancers. 30 janv 2018;10(2):E38.
82. O'Keefe SJD. Diet, microorganisms and their metabolites, and colon cancer. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. déc 2016;13(12):691-706.

83. Scott KP, Gratz SW, Sheridan PO, Flint HJ, Duncan SH. The influence of diet on the gut microbiota. Pharmacol Res. mars 2013;69(1):52-60.
84. El Kinany K, Mint Sidi Deoula M, Hatime Z, Boudouaya HA, Huybrechts I, El Asri A, et al. Consumption of modern and traditional Moroccan dairy products and colorectal cancer risk: a large case control study. Eur J Nutr. avr 2020;59(3):953-63.
85. S Deoula M, El Kinany K, Huybrechts I, Gunter MJ, Hatime Z, Boudouaya HA, et al. Consumption of meat, traditional and modern processed meat and colorectal cancer risk among the Moroccan population: A large-scale case-control study. Int J Cancer. 1 mars 2020;146(5):1333-45.
86. Aykan NF. Red Meat and Colorectal Cancer. Oncol Rev. 10 févr 2015;9(1):288.
87. Cascella M, Bimonte S, Barbieri A, Del Vecchio V, Caliendo D, Schiavone V, et al. Dissecting the mechanisms and molecules underlying the potential carcinogenicity of red and processed meat in colorectal cancer (CRC): an overview on the current state of knowledge. Infect Agent Cancer. 15 janv 2018;13:3.
88. Ogino S, Stampfer M. Lifestyle Factors and Microsatellite Instability in Colorectal Cancer: The Evolving Field of Molecular Pathological Epidemiology. JNCI J Natl Cancer Inst. 17 mars 2010;102(6):365-7.
89. H D, Ok A boujmia, S B, Hh EI, M K. KRAS and NRAS Mutations in Moroccan Patients with Colorectal Cancer. J Cancer Biol Ther. 5 oct 2019;5(1):254-9.
90. Bennani B, Gilles S, Fina F, Nanni I, Ibrahimi SA, Riffi AA, et al. Mutation analysis of BRAF exon 15 and KRAS codons 12 and 13 in Moroccan patients with colorectal cancer. Int J Biol Markers. déc 2010;25(4):179-84.
91. El Otmani I, El Agy F, El Baradai S, Bouguenouch L, Lahmidani N, El Abkari M, et al. Analysis of Molecular Pretreated Tumor Profiles as Predictive Biomarkers of Therapeutic Response and Survival Outcomes after Neoadjuvant Therapy for Rectal Cancer in Moroccan Population. Dis Markers. 11 janv 2020;2020:e8459303.
92. Marchoudi N, Amrani Hassani Joutei H, Jouali F, Fekkak J, Rhaissi H. Distribution of KRAS and BRAF mutations in Moroccan patients with advanced colorectal cancer. Pathol Biol (Paris). déc 2013;61(6):273-6.
93. Gay LJ, Mitrou PN, Keen J, Bowman R, Naguib A, Cooke J, et al. Dietary, lifestyle and clinicopathological factors associated with APC mutations and promoter methylation in colorectal cancers from the EPIC-Norfolk study. J Pathol. nov 2012;228(3):405-15.
94. Gay LJ, Arends MJ, Mitrou PN, Bowman R, Ibrahim AE, Happerfield L, et al. MLH1 promoter methylation, diet, and lifestyle factors in mismatch repair deficient colorectal cancer patients from EPIC-Norfolk. Nutr Cancer. 2011;63(7):1000-10.
95. A N, Pn M, Lj G, Jc C, Rn L, Ry B, et al. Dietary, lifestyle and clinicopathological factors associated with BRAF and K-ras mutations arising in distinct subsets of colorectal cancers in the EPIC Norfolk study. BMC Cancer [Internet]. 16 mars 2010 [cité 10 oct 2021];10. Disponible sur: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20233436/
96. Park JY, Mitrou PN, Keen J, Dahm CC, Gay LJ, Luben RN, et al. Lifestyle factors and p53 mutation patterns in colorectal cancer patients in the EPIC-Norfolk study. Mutagenesis. juill 2010;25(4):351-8.
97. Samadder NJ, Vierkant RA, Tillmans LS, Wang AH, Lynch CF, Anderson KE, et al. Cigarette Smoking and Colorectal Cancer Risk by KRAS Mutation Status Among Older Women. Am J Gastroenterol. mai 2012;107(5):782-9.
98. Brändstedt J, Wangefjord S, Borgquist S, Nodin B, Eberhard J, Manjer J, et al. Influence of anthropometric factors on tumour biological characteristics of colorectal cancer in men and women: a cohort study. J Transl Med. 2013;11(1):293.
99. Brändstedt J, Wangefjord S, Nodin B, Eberhard J, Jirström K, Manjer J. Associations of hormone replacement therapy and oral contraceptives with risk of colorectal cancer defined by clinicopathological factors, beta-catenin alterations, expression of cyclin D1, p53, and microsatellite-instability. BMC Cancer. 25 mai 2014;14:371.

100. Razzak AA, Oxentenko AS, Vierkant RA, Tillmans LS, Wang AH, Weisenberger DJ, et al. Alcohol intake and colorectal cancer risk by molecularly defined subtypes in a prospective study of older women. Cancer Prev Res Phila Pa. déc 2011;4(12):2035-43.
101. Ogino S, Stampfer M. Lifestyle factors and microsatellite instability in colorectal cancer: the evolving field of molecular pathological epidemiology. J Natl Cancer Inst. 17 mars 2010;102(6):365-7.
102. Nishihara R, Morikawa T, Kuchiba A, Lochhead P, Yamauchi M, Liao X, et al. A prospective study of duration of smoking cessation and colorectal cancer risk by epigenetics-related tumor classification. Am J Epidemiol. 1 juill 2013;178(1):84-100.
103. Song M, Nishihara R, Wu K, Qian ZR, Kim SA, Sukawa Y, et al. Marine ω-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Risk for Colorectal Cancer According to Microsatellite Instability. JNCI J Natl Cancer Inst [Internet]. avr 2015 [cité 13 oct 2021];107(4). Disponible sur: https://academic.oup.com/jnci/article-lookup/doi/10.1093/jnci/djv007
104. Lee JE, Baba Y, Ng K, Giovannucci E, Fuchs CS, Ogino S, et al. Statin use and colorectal cancer risk according to molecular subtypes in two large prospective cohort studies. Cancer Prev Res Phila Pa. nov 2011;4(11):1808-15.
105. Liao X, Lochhead P, Nishihara R, Morikawa T, Kuchiba A, Yamauchi M, et al. Aspirin Use, Tumor *PIK3CA* Mutation, and Colorectal-Cancer Survival. N Engl J Med. 25 oct 2012;367(17):1596-606.
106. Morikawa T, Kuchiba A, Lochhead P, Nishihara R, Yamauchi M, Imamura Y, et al. Prospective analysis of body mass index, physical activity, and colorectal cancer risk associated with β-catenin (CTNNB1) status. Cancer Res. 1 mars 2013;73(5):1600-10.
107. Nishihara R, Lochhead P, Kuchiba A, Jung S, Yamauchi M, Liao X, et al. Aspirin Use and Risk of Colorectal Cancer According to BRAF Mutation Status. JAMA. 26 juin 2013;309(24):2563.
108. Nishihara R, Wang M, Qian ZR, Baba Y, Yamauchi M, Mima K, et al. Alcohol, one-carbon nutrient intake, and risk of colorectal cancer according to tumor methylation level of IGF2 differentially methylated region. Am J Clin Nutr. déc 2014;100(6):1479-88.
109. Jayasekara H, MacInnis RJ, Williamson EJ, Hodge AM, Clendenning M, Rosty C, et al. Lifetime alcohol intake is associated with an increased risk of KRAS+ and BRAF-/KRAS- but not BRAF+ colorectal cancer. Int J Cancer. 1 avr 2017;140(7):1485-93.
110. Hughes LAE, Williamson EJ, van Engeland M, Jenkins MA, Giles GG, Hopper JL, et al. Body size and risk for colorectal cancers showing BRAF mutations or microsatellite instability: a pooled analysis. Int J Epidemiol. août 2012;41(4):1060-72.
111. English DR, Young JP, Simpson JA, Jenkins MA, Southey MC, Walsh MD, et al. Ethnicity and Risk for Colorectal Cancers Showing Somatic *BRAF* V600E Mutation or CpG Island Methylator Phenotype. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. juill 2008;17(7):1774-80.
112. Lüchtenborg M, Weijenberg MP, Kampman E, van Muijen GN, Roemen GMJM, Zeegers MPA, et al. Cigarette smoking and colorectal cancer: APC mutations, hMLH1 expression, and GSTM1 and GSTT1 polymorphisms. Am J Epidemiol. 1 mai 2005;161(9):806-15.
113. Weijenberg MP, Aardening PWM, de Kok TM, de Goeij AFPM, van den Brandt PA. Cigarette smoking and KRAS oncogene mutations in sporadic colorectal cancer: results from the Netherlands Cohort Study. Mutat Res. 29 mars 2008;652(1):54-64.
114. Bongaerts BWC, van den Brandt PA, Goldbohm RA, de Goeij AFPM, Weijenberg MP. Alcohol consumption, type of alcoholic beverage and risk of colorectal cancer at specific subsites. Int J Cancer. 1 nov 2008;123(10):2411-7.
115. Bongaerts BWC, de Goeij AFPM, de Vogel S, van den Brandt PA, Goldbohm RA, Weijenberg MP. Alcohol consumption and distinct molecular pathways to colorectal cancer. Br J Nutr. mars 2007;97(3):430-4.
116. Hughes LAE, Simons CCJM, van den Brandt PA, Goldbohm RA, de Goeij AF, de Bruïne AP, et al. Body Size, Physical Activity and Risk of Colorectal Cancer with or without the CpG Island Methylator Phenotype (CIMP). Aziz SA, éditeur. PLoS ONE. 5 avr 2011;6(4):e18571.

117. Hughes LAE, van den Brandt PA, de Bruïne AP, Wouters KAD, Hulsmans S, Spiertz A, et al. Early Life Exposure to Famine and Colorectal Cancer Risk: A Role for Epigenetic Mechanisms. Hernandez AV, éditeur. PLoS ONE. 23 nov 2009;4(11):e7951.
118. Hogervorst JGF, de Bruijn-Geraets D, Schouten LJ, van Engeland M, de Kok TMCM, Goldbohm RA, et al. Dietary acrylamide intake and the risk of colorectal cancer with specific mutations in KRAS and APC. Carcinogenesis. mai 2014;35(5):1032-8.
119. Brink M. Fat and K-ras mutations in sporadic colorectal cancer in The Netherlands Cohort Study. Carcinogenesis. 1 avr 2004;25(9):1619-28.
120. Weijenberg MP, Lüchtenborg M, de Goeij AFPM, Brink M, van Muijen GNP, de Bruïne AP, et al. Dietary fat and risk of colon and rectal cancer with aberrant MLH1 expression, APC or KRAS genes. Cancer Causes Control CCC. oct 2007;18(8):865-79.
121. de Vogel S, van Engeland M, Luchtenborg M, de Bruine AP, Roemen GM, Lentjes MH, et al. Dietary Folate and APC Mutations in Sporadic Colorectal Cancer. J Nutr. 1 janv 2006;136(12):3015-21.
122. Gilsing AMJ, Fransen F, de Kok TM, Goldbohm AR, Schouten LJ, de Bruïne AP, et al. Dietary heme iron and the risk of colorectal cancer with specific mutations in KRAS and APC. Carcinogenesis. déc 2013;34(12):2757-66.
123. de Vogel S, Bongaerts BWC, Wouters KAD, Kester ADM, Schouten LJ, de Goeij AFPM, et al. Associations of dietary methyl donor intake with MLH1 promoter hypermethylation and related molecular phenotypes in sporadic colorectal cancer. Carcinogenesis. sept 2008;29(9):1765-73.
124. de Vogel S, Wouters KAD, Gottschalk RWH, van Schooten FJ, de Goeij AFPM, de Bruïne AP, et al. Dietary methyl donors, methyl metabolizing enzymes, and epigenetic regulators: diet–gene interactions and promoter CpG island hypermethylation in colorectal cancer. Cancer Causes Control. 2011;22(1):1-12.
125. Simons CCJM, van den Brandt PA, Stehouwer CDA, van Engeland M, Weijenberg MP. Body size, physical activity, early-life energy restriction, and associations with methylated insulin-like growth factor-binding protein genes in colorectal cancer. Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol. sept 2014;23(9):1852-62.
126. van Engeland M, Weijenberg MP, Roemen GMJM, Brink M, de Bruïne AP, Goldbohm RA, et al. Effects of dietary folate and alcohol intake on promoter methylation in sporadic colorectal cancer: the Netherlands cohort study on diet and cancer. Cancer Res. 15 juin 2003;63(12):3133-7.
127. Schernhammer ES, Giovannucci E, Baba Y, Fuchs CS, Ogino S. B Vitamins, Methionine and Alcohol Intake and Risk of Colon Cancer in Relation to BRAF Mutation and CpG Island Methylator Phenotype (CIMP). PLoS ONE. 27 juin 2011;6(6):e21102.
128. Schernhammer ES, Giovannucci E, Kawasaki T, Rosner B, Fuchs CS, Ogino S. Dietary folate, alcohol and B vitamins in relation to LINE-1 hypomethylation in colon cancer. Gut. juin 2010;59(6):794-9.
129. Limsui D, Vierkant RA, Tillmans LS, Wang AH, Weisenberger DJ, Laird PW, et al. Cigarette smoking and colorectal cancer risk by molecularly defined subtypes. J Natl Cancer Inst. 21 juill 2010;102(14):1012-22.
130. Hoffmeister M, Bläker H, Kloor M, Roth W, Toth C, Herpel E, et al. Body mass index and microsatellite instability in colorectal cancer: a population-based study. Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol. déc 2013;22(12):2303-11.
131. Curtin K, Samowitz WS, Wolff RK, Herrick J, Caan BJ, Slattery ML. Somatic alterations, metabolizing genes and smoking in rectal cancer. Int J Cancer. 1 juill 2009;125(1):158-64.
132. Samowitz WS, Albertsen H, Sweeney C, Herrick J, Caan BJ, Anderson KE, et al. Association of smoking, CpG island methylator phenotype, and V600E BRAF mutations in colon cancer. J Natl Cancer Inst. 6 déc 2006;98(23):1731-8.

133. Slattery ML, Curtin K, Anderson K, Ma KN, Ballard L, Edwards S, et al. Associations between cigarette smoking, lifestyle factors, and microsatellite instability in colon tumors. J Natl Cancer Inst. 15 nov 2000;92(22):1831-6.
134. Slattery ML, Anderson K, Curtin K, Ma KN, Schaffer D, Samowitz W. Dietary intake and microsatellite instability in colon tumors. Int J Cancer. 15 août 2001;93(4):601-7.
135. Slattery ML, Curtin K, Sweeney C, Levin TR, Potter J, Wolff RK, et al. Diet and lifestyle factor associations with CpG island methylator phenotype and BRAF mutations in colon cancer. Int J Cancer. 1 févr 2007;120(3):656-63.
136. Poynter JN, Haile RW, Siegmund KD, Campbell PT, Figueiredo JC, Limburg P, et al. Associations between smoking, alcohol consumption, and colorectal cancer, overall and by tumor microsatellite instability status. Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol. oct 2009;18(10):2745-50.
137. Diergaarde B, Braam H, van Muijen GNP, Ligtenberg MJL, Kok FJ, Kampman E. Dietary factors and microsatellite instability in sporadic colon carcinomas. Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol. nov 2003;12(11 Pt 1):1130-6.
138. Diergaarde B, van Geloof WL, van Muijen GNP, Kok FJ, Kampman E. Dietary factors and the occurrence of truncating APC mutations in sporadic colon carcinomas: a Dutch population-based study. Carcinogenesis. févr 2003;24(2):283-90.
139. Bautista D, Obrador A, Moreno V, Cabeza E, Canet R, Benito E, et al. Ki-ras mutation modifies the protective effect of dietary monounsaturated fat and calcium on sporadic colorectal cancer. Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol. janv 1997;6(1):57-61.
140. Martínez F, Fernández-Martos C, Quintana MJ, Castells A, Llombart A, Iñiguez F, et al. APC and KRAS mutations in distal colorectal polyps are related to smoking habits in men: results of a cross-sectional study. Clin Transl Oncol. sept 2011;13(9):664-71.
141. Wark PA, Van der Kuil W, Ploemacher J, Van Muijen GNP, Mulder CJJ, Weijenberg MP, et al. Diet, lifestyle and risk of K-ras mutation-positive and -negative colorectal adenomas. Int J Cancer. 15 juill 2006;119(2):398-405.
142. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, PRISMA Group. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. Ann Intern Med. 18 août 2009;151(4):264-9, W64.
143. Sackett DL. Rules of evidence and clinical recommendations on the use of antithrombotic agents. Chest. févr 1989;95(2 Suppl):2S-4S.
144. He X, Wu K, Zhang X, Nishihara R, Cao Y, Fuchs CS, et al. Dietary intake of fiber, whole grains and risk of colorectal cancer: An updated analysis according to food sources, tumor location and molecular subtypes in two large US cohorts. Int J Cancer. 1 déc 2019;145(11):3040-51.
145. Keum N, Liu L, Hamada T, Qian ZR, Nowak JA, Cao Y, et al. Calcium intake and colon cancer risk subtypes by tumor molecular characteristics. Cancer Causes Control CCC. juin 2019;30(6):637-49.
146. Mehta RS, Song M, Nishihara R, Drew DA, Wu K, Qian ZR, et al. Dietary Patterns and Risk of Colorectal Cancer: Analysis by Tumor Location and Molecular Subtypes. Gastroenterology. juin 2017;152(8):1944-1953.e1.
147. Carr PR, Jansen L, Bienert S, Roth W, Herpel E, Kloor M, et al. Associations of red and processed meat intake with major molecular pathological features of colorectal cancer. Eur J Epidemiol. mai 2017;32(5):409-18.
148. Jung S, Qian ZR, Yamauchi M, Bertrand KA, Fitzgerald KC, Inamura K, et al. Predicted 25(OH)D score and colorectal cancer risk according to vitamin D receptor expression. Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol. août 2014;23(8):1628-37.
149. Kamal MM, Youssef OZ, Lotfy AN, Elsaed ET, Fawzy MMT. Association of folate intake, dietary habits, smoking and COX-2 promotor -765G>C polymorphism with K-ras mutation in patients with colorectal cancer. J Egypt Natl Cancer Inst. sept 2012;24(3):115-22.

150. Razzak AA, Oxentenko AS, Vierkant RA, Tillmans LS, Wang AH, Weisenberger DJ, et al. Associations Between Intake of Folate and Related Micronutrients with Molecularly Defined Colorectal Cancer Risks in the Iowa Women's Health Study. Nutr Cancer. 2012;64(7):899-910.
151. Ottini L, Falchetti M, Marinozzi S, Angeletti LR, Fornaciari G. Gene-environment interactions in the pre-Industrial Era: the cancer of King Ferrante I of Aragon (1431-1494). Hum Pathol. mars 2011;42(3):332-9.
152. Slattery ML, Curtin K, Wolff RK, Herrick JS, Caan BJ, Samowitz W. Diet, physical activity, and body size associations with rectal tumor mutations and epigenetic changes. Cancer Causes Control CCC. août 2010;21(8):1237-45.
153. Schernhammer ES, Giovannuccci E, Fuchs CS, Ogino S. A Prospective Study of Dieatry Folate and Vitamin B and Colon Cancer According to MSI and KRAS Mutational Status. Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol. oct 2008;17(10):2895-8.
154. Bongaerts BWC, de Goeij AFPM, van den Brandt PA, Weijenberg MP. Alcohol and the risk of colon and rectal cancer with mutations in the K-ras gene. Alcohol Fayettev N. avr 2006;38(3):147-54.
155. Brink M, Weijenberg MP, de Goeij AFPM, Roemen GMJM, Lentjes MHFM, de Bruïne AP, et al. Meat consumption and K-ras mutations in sporadic colon and rectal cancer in The Netherlands Cohort Study. Br J Cancer. 11 avr 2005;92(7):1310-20.
156. Brink M, Weijenberg MP, de Goeij AFPM, Roemen GMJM, Lentjes MHFM, de Bruïne AP, et al. Dietary folate intake and k-ras mutations in sporadic colon and rectal cancer in The Netherlands Cohort Study. Int J Cancer. 1 mai 2005;114(5):824-30.
157. Howsam M, Grimalt JO, Guinó E, Navarro M, Martí-Ragué J, Peinado MA, et al. Organochlorine Exposure and Colorectal Cancer Risk. Environ Health Perspect. nov 2004;112(15):1460-6.
158. Laso N, Mas S, Jose Lafuente M, Casterad X, Trias M, Ballesta A, et al. Decrease in specific micronutrient intake in colorectal cancer patients with tumors presenting Ki-ras mutation. Anticancer Res. juin 2004;24(3b):2011-20.
159. Slattery ML, Curtin K, Ma K, Schaffer D, Potter J, Samowitz W. GSTM-1 and NAT2 and Genetic Alterations in Colon Tumors. Cancer Causes Control. 2002;13(6):527-34.
160. Slattery ML, Anderson K, Curtin K, Ma K, Schaffer D, Edwards S, et al. Lifestyle factors and Ki-ras mutations in colon cancer tumors. Mutat Res. 1 nov 2001;483(1-2):73-81.
161. Slattery ML, Curtin K, Anderson K, Ma KN, Edwards S, Leppert M, et al. Associations between dietary intake and Ki-ras mutations in colon tumors: a population-based study. Cancer Res. 15 déc 2000;60(24):6935-41.
162. Kampman E, Voskuil DW, van Kraats AA, Balder HF, van Muijen GNP, Goldbohm RA, et al. Animal products and K-ras codon 12 and 13 mutations in colon carcinomas. Carcinogenesis. 1 févr 2000;21(2):307-9.
163. O'Brien H, Matthew JA, Gee JM, Watson M, Rhodes M, Speakman CT, et al. K-ras mutations, rectal crypt cells proliferation, and meat consumption in patients with left-sided colorectal carcinoma. Eur J Cancer Prev Off J Eur Cancer Prev Organ ECP. févr 2000;9(1):41-7.
164. Martínez ME, Maltzman T, Marshall JR, Einspahr J, Reid ME, Sampliner R, et al. Risk factors for Ki-ras protooncogene mutation in sporadic colorectal adenomas. Cancer Res. 15 oct 1999;59(20):5181-5.
165. IARC. Occupational Exposures in Insecticide Application, and Some Pesticides [Internet]. [cité 26 oct 2021]. Disponible sur: https://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Iarc-Monographs-On-The-Identification-Of-Carcinogenic-Hazards-To-Humans/Occupational-Exposures-In-Insecticide-Application-And-Some-Pesticides-1991
166. Vieira AR, Abar L, Chan DSM, Vingeliene S, Polemiti E, Stevens C, et al. Foods and beverages and colorectal cancer risk: a systematic review and meta-analysis of cohort studies, an update of the evidence of the WCRF-AICR Continuous Update Project. Ann Oncol. août 2017;28(8):1788-802.

167. Brink M, Weijenberg MP, De Goeij AFPM, Schouten LJ, Koedijk FDH, Roemen GMJM, et al. Fat and K-ras mutations in sporadic colorectal cancer in The Netherlands Cohort Study. Carcinogenesis. sept 2004;25(9):1619-28.
168. Brink M, Weijenberg MP, de Goeij AFPM, Roemen GMJM, Lentjes MHFM, de Bruïne AP, et al. Meat consumption and K-ras mutations in sporadic colon and rectal cancer in The Netherlands Cohort Study. Br J Cancer. 11 avr 2005;92(7):1310-20.
169. Larsson SC, Akesson A, Bergkvist L, Wolk A. Dietary acrylamide intake and risk of colorectal cancer in a prospective cohort of men. Eur J Cancer Oxf Engl 1990. mars 2009;45(4):513-6.
170. Mucci LA, Adami H-O, Wolk A. Prospective study of dietary acrylamide and risk of colorectal cancer among women. Int J Cancer. 1 janv 2006;118(1):169-73.
171. Pelucchi C, Galeone C, Levi F, Negri E, Franceschi S, Talamini R, et al. Dietary acrylamide and human cancer. Int J Cancer. 15 janv 2006;118(2):467-71.
172. Besaratinia A, Pfeifer GP. Genotoxicity of Acrylamide and Glycidamide. JNCI J Natl Cancer Inst. 7 juill 2004;96(13):1023-9.
173. Clement FC, Dip R, Naegeli H. Expression profile of human cells in culture exposed to glycidamide, a reactive metabolite of the heat-induced food carcinogen acrylamide. Toxicology. 30 oct 2007;240(1-2):111-24.
174. Cho E, Smith-Warner SA, Ritz J, van den Brandt PA, Colditz GA, Folsom AR, et al. Alcohol intake and colorectal cancer: a pooled analysis of 8 cohort studies. Ann Intern Med. 20 avr 2004;140(8):603-13.
175. Wang Y, Duan H, Yang H, Lin J. A pooled analysis of alcohol intake and colorectal cancer. Int J Clin Exp Med. 15 mai 2015;8(5):6878-89.
176. Garaycoechea JI, Crossan GP, Langevin F, Mulderrig L, Louzada S, Yang F, et al. Alcohol and endogenous aldehydes damage chromosomes and mutate stem cells. Nature. 11 janv 2018;553(7687):171-7.
177. El kinany K, Deoula M, Hatime Z, Bennani B, El Rhazi K. Dairy products and colorectal cancer in middle eastern and north African countries: a systematic review. BMC Cancer. 1 mars 2018;18(1):233.
178. Ingraham BA, Bragdon B, Nohe A. Molecular basis of the potential of vitamin D to prevent cancer. Curr Med Res Opin. janv 2008;24(1):139-49.
179. Norat T, Riboli E. Dairy products and colorectal cancer. A review of possible mechanisms and epidemiological evidence. Eur J Clin Nutr. janv 2003;57(1):1-17.
180. Maruyama K, Oshima T, Ohyama K. Exposure to exogenous estrogen through intake of commercial milk produced from pregnant cows. Pediatr Int Off J Jpn Pediatr Soc. févr 2010;52(1):33-8.
181. McRae MP. The Benefits of Dietary Fiber Intake on Reducing the Risk of Cancer: An Umbrella Review of Meta-analyses. J Chiropr Med. juin 2018;17(2):90-6.
182. O'Keefe SJD, Li JV, Lahti L, Ou J, Carbonero F, Mohammed K, et al. Fat, fibre and cancer risk in African Americans and rural Africans. Nat Commun. 28 avr 2015;6:6342.
183. Lampe JW. Health effects of vegetables and fruit: assessing mechanisms of action in human experimental studies. Am J Clin Nutr. 1 sept 1999;70(3):475s-90s.
184. Steinmetz KA, Potter JD. Vegetables, fruit, and cancer. II. Mechanisms. Cancer Causes Control CCC. nov 1991;2(6):427-42.
185. Lee SYH, Munerol B, Pollard S, Youdim KA, Pannala AS, Kuhnle GGC, et al. The reaction of flavanols with nitrous acid protects against N-nitrosamine formation and leads to the formation of nitroso derivatives which inhibit cancer cell growth. Free Radic Biol Med. 15 janv 2006;40(2):323-34.
186. Saffhill R, Margison GP, O'Connor PJ. Mechanisms of carcinogenesis induced by alkylating agents. Biochim Biophys Acta. 17 déc 1985;823(2):111-45.
187. Cockbain AJ, Toogood GJ, Hull MA. Omega-3 polyunsaturated fatty acids for the treatment and prevention of colorectal cancer. Gut. janv 2012;61(1):135-49.

188. Pham NM, Mizoue T, Tanaka K, Tsuji I, Tamakoshi A, Matsuo K, et al. Meat consumption and colorectal cancer risk: an evaluation based on a systematic review of epidemiologic evidence among the Japanese population. Jpn J Clin Oncol. juill 2014;44(7):641-50.
189. Fabian CJ, Kimler BF, Hursting SD. Omega-3 fatty acids for breast cancer prevention and survivorship. Breast Cancer Res BCR. 2015;17(1):62.
190. Schwingshackl L, Schwedhelm C, Hoffmann G, Knüppel S, Laure Preterre A, Iqbal K, et al. Food groups and risk of colorectal cancer. Int J Cancer. 1 mai 2018;142(9):1748-58.
191. Aykan NF. Red Meat and Colorectal Cancer. Oncol Rev. 10 févr 2015;9(1):288.
192. Smolińska K, Paluszkiewicz P. Risk of colorectal cancer in relation to frequency and total amount of red meat consumption. Systematic review and meta-analysis. Arch Med Sci AMS. 30 août 2010;6(4):605-10.
193. Sugimura T, Sato S. Mutagens-carcinogens in foods. Cancer Res. mai 1983;43(5 Suppl):2415s-21s.
194. Corpet DE, Stamp D, Medline A, Minkin S, Archer MC, Bruce WR. Promotion of colonic microadenoma growth in mice and rats fed cooked sugar or cooked casein and fat. Cancer Res. 1 nov 1990;50(21):6955-8.
195. Tachino N, Hayashi R, Liew C, Bailey G, Dashwood R. Evidence for ras gene mutation in 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline-induced colonic aberrant crypts in the rat. Mol Carcinog. avr 1995;12(4):187-92.
196. Ziegel R, Shallop A, Jones R, Tretyakova N. K-ras gene sequence effects on the formation of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK)-DNA adducts. Chem Res Toxicol. avr 2003;16(4):541-50.
197. Lippi G, Mattiuzzi C, Cervellin G. Meat consumption and cancer risk: a critical review of published meta-analyses. Crit Rev Oncol Hematol. janv 2016;97:1-14.
198. Lai R, Bian Z, Lin H, Ren J, Zhou H, Guo H. The association between dietary protein intake and colorectal cancer risk: a meta-analysis. World J Surg Oncol. 8 sept 2017;15:169.
199. Newmark HL, Wargovich MJ, Bruce WR. Colon cancer and dietary fat, phosphate, and calcium: a hypothesis. J Natl Cancer Inst. juin 1984;72(6):1323-5.
200. Pence BC. Role of calcium in colon cancer prevention: experimental and clinical studies. Mutat Res. nov 1993;290(1):87-95.
201. Llor X, Jacoby RF, Teng BB, Davidson NO, Sitrin MD, Brasitus TA. K-ras mutations in 1,2-dimethylhydrazine-induced colonic tumors: effects of supplemental dietary calcium and vitamin D deficiency. Cancer Res. 15 août 1991;51(16):4305-9.
202. Meng Y, Sun J, Yu J, Wang C, Su J. Dietary Intakes of Calcium, Iron, Magnesium, and Potassium Elements and the Risk of Colorectal Cancer: a Meta-Analysis. Biol Trace Elem Res. juin 2019;189(2):325-35.
203. Bastide NM, Pierre FHF, Corpet DE. Heme iron from meat and risk of colorectal cancer: a meta-analysis and a review of the mechanisms involved. Cancer Prev Res Phila Pa. févr 2011;4(2):177-84.
204. Cross AJ, Pollock JRA, Bingham SA. Haem, not protein or inorganic iron, is responsible for endogenous intestinal N-nitrosation arising from red meat. Cancer Res. 15 mai 2003;63(10):2358-60.
205. Hebels DGAJ, Briedé JJ, Khampang R, Kleinjans JCS, de Kok TMCM. Radical mechanisms in nitrosamine- and nitrosamide-induced whole-genome gene expression modulations in Caco-2 cells. Toxicol Sci Off J Soc Toxicol. juill 2010;116(1):194-205.
206. Jacoby RF, Alexander RJ, Raicht RF, Brasitus TA. K-ras oncogene mutations in rat colon tumors induced by N-methyl-N-nitrosourea. Carcinogenesis. janv 1992;13(1):45-9.
207. Alexander DD, Cushing CA, Lowe KA, Sceurman B, Roberts MA. Meta-analysis of animal fat or animal protein intake and colorectal cancer. Am J Clin Nutr. mai 2009;89(5):1402-9.
208. Van der Meer R, Kleibeuker JH, Lapré JA. Calcium phosphate, bile acids and colorectal cancer. Eur J Cancer Prev Off J Eur Cancer Prev Organ ECP. oct 1991;1 Suppl 2:55-62.

209. Harnack L, Jacobs DR, Nicodemus K, Lazovich D, Anderson K, Folsom AR. Relationship of folate, vitamin B-6, vitamin B-12, and methionine intake to incidence of colorectal cancers. Nutr Cancer. 2002;43(2):152-8.
210. Burr NE, Hull MA, Subramanian V. Folic Acid Supplementation May Reduce Colorectal Cancer Risk in Patients With Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. J Clin Gastroenterol. mars 2017;51(3):247-53.
211. Kennedy DA, Stern SJ, Moretti M, Matok I, Sarkar M, Nickel C, et al. Folate intake and the risk of colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. Cancer Epidemiol. févr 2011;35(1):2-10.
212. Krishnan AV, Feldman D. Mechanisms of the anti-cancer and anti-inflammatory actions of vitamin D. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2011;51:311-36.
213. Garland CF, Gorham ED. Dose-response of serum 25-hydroxyvitamin D in association with risk of colorectal cancer: A meta-analysis. J Steroid Biochem Mol Biol. avr 2017;168:1-8.
214. Mint Sidi Ould Deoula M, Huybrechts I, El Kinany K, Boudouaya H, Hatime Z, El Asri A, et al. Behavioral, Nutritional, and Genetic Risk Factors of Colorectal Cancers in Morocco: Protocol for a Multicenter Case-Control Study. JMIR Res Protoc. 13 janv 2020;9(1):e13998.
215. Satten GA, Kupper LL. Sample size determination for pair-matched case-control studies where the goal is interval estimation of the odds ratio. J Clin Epidemiol. 1990;43(1):55-9.
216. Marmot M, Atinmo T, Byers T, Chen J, Hirohata T, Jackson A, et al. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective [Internet]. (WCRF/AICR Expert Report ). World Cancer Research Fund / American Institute for Cancer Research: Washington DC, US. Washington DC, US: World Cancer Research Fund / American Institute for Cancer Research; 2007 nov [cité 17 oct 2021]. Disponible sur: http://www.dietandcancerreport.org/policy_report/index.php
217. Billo N, Castro JL, Jones S, Rusen ID, Chiang C-Y, Fussell M, et al. The International Union Against Tuberculosis and Lung Disease: past, present and future. Int Health. 1 déc 2009;1(2):117-23.
218. GPAQ_Analysis_Guide_FR.pdf [Internet]. [cité 17 oct 2021]. Disponible sur: https://www.who.int/ncds/surveillance/steps/GPAQ_Analysis_Guide_FR.pdf
219. Global recommendations on physical activity for health [Internet]. [cité 28 oct 2021]. Disponible sur: https://www.who.int/publications-detail-redirect/9789241599979
220. El Kinany K, Garcia-Larsen V, Khalis M, Deoula MMS, Benslimane A, Ibrahim A, et al. Adaptation and validation of a food frequency questionnaire (FFQ) to assess dietary intake in Moroccan adults. Nutr J. 12 juin 2018;17(1):61.
221. Garcia-Larsen V, Luczynska M, Kowalski ML, Voutilainen H, Ahlström M, Haahtela T, et al. Use of a common food frequency questionnaire (FFQ) to assess dietary patterns and their relation to allergy and asthma in Europe: pilot study of the GA2LEN FFQ. Eur J Clin Nutr. juin 2011;65(6):750-6.
222. Khalis M, Garcia-Larsen V, Charaka H, Deoula MMS, Kinany KE, Benslimane A, et al. Update of the Moroccan food composition tables: Towards a more reliable tool for nutrition research. J Food Compos Anal. avr 2020;87:103397.
223. fatty acid | Definition, Structure, Functions, Properties, & Examples | Britannica [Internet]. [cité 13 nov 2021]. Disponible sur: https://www.britannica.com/science/fatty-acid
224. Aranceta J, Pérez-Rodrigo C. Recommended dietary reference intakes, nutritional goals and dietary guidelines for fat and fatty acids: a systematic review. Br J Nutr. juin 2012;107(S2):S8-22.
225. Sadough A, Afshari M, Rostami F, Barzegari S, Janbabaee G, Tabrizi R, et al. A systematic review and meta-analysis on the prevalence of KRAS gene mutation in samples of colorectal cancer. World Cancer Res J [Internet]. mars 2020 [cité 9 nov 2021];7(March 2020). Disponible sur: https://doi.org/10.32113/wcrj_20203_1522
226. Garawin T, Lowe K, Kafatos G, Murray S. The prevalence RAS and BRAF mutations among patients in the Middle East and Northern Africa with metastatic colorectal cancer. J Clin Oncol. 1 févr 2016;34(4_suppl):598-598.

227. Oukkal M, Bouzid K, Bounedjar A, Alnajar A, Taleb FA, Alsharm A, et al. 656P - Middle East & North Africa registry to characterize RAS mutation status and tumour specifications in recently diagnosed patients with metastatic colorectal cancer (MORE-RAS Study). Ann Oncol. 1 oct 2019;30:v246.
228. Prior IA, Lewis PD, Mattos C. A Comprehensive Survey of Ras Mutations in Cancer. Cancer Res. 15 mai 2012;72(10):2457-67.
229. Zhang J, Zheng J, Yang Y, Lu J, Gao J, Lu T, et al. Molecular spectrum of KRAS, NRAS, BRAF and PIK3CA mutations in Chinese colorectal cancer patients: analysis of 1,110 cases. Sci Rep. 22 déc 2015;5:18678.
230. Beyaz S, Mana MD, Roper J, Kedrin D, Saadatpour A, Hong S-J, et al. High-fat diet enhances stemness and tumorigenicity of intestinal progenitors. Nature. 3 mars 2016;531(7592):53-8.
231. Fu T, Coulter S, Yoshihara E, Oh TG, Fang S, Cayabyab F, et al. FXR Regulates Intestinal Cancer Stem Cell Proliferation. Cell. 21 févr 2019;176(5):1098-1112.e18.
232. Zhu Q-C, Gao R-Y, Wu W, Guo B-M, Peng J-Y, Qin H-L. Effect of a high-fat diet in development of colonic adenoma in an animal model. World J Gastroenterol. 7 juill 2014;20(25):8119-29.
233. Mika A, Kobiela J, Pakiet A, Czumaj A, Sokołowska E, Makarewicz W, et al. Preferential uptake of polyunsaturated fatty acids by colorectal cancer cells. Sci Rep. 6 févr 2020;10(1):1954.
234. Moradi Sarabi M, Mohammadrezaei Khorramabadi R, Zare Z, Eftekhar E. Polyunsaturated fatty acids and DNA methylation in colorectal cancer. World J Clin Cases. 26 déc 2019;7(24):4172-85.
235. Marnett LJ. Oxy radicals, lipid peroxidation and DNA damage. Toxicology. 27 déc 2002;181-182:219-22.
236. Niedernhofer LJ, Daniels JS, Rouzer CA, Greene RE, Marnett LJ. Malondialdehyde, a product of lipid peroxidation, is mutagenic in human cells. J Biol Chem. 15 août 2003;278(33):31426-33.
237. Fink SP, Reddy GR, Marnett LJ. Mutagenicity in Escherichia coli of the major DNA adduct derived from the endogenous mutagen malondialdehyde. Proc Natl Acad Sci. 5 août 1997;94(16):8652-7.
238. Marnett LJ. Oxyradicals and DNA damage. Carcinogenesis. mars 2000;21(3):361-70.
239. Wang M, Dhingra K, Hittelman WN, Liehr JG, de Andrade M, Li D. Lipid peroxidation-induced putative malondialdehyde-DNA adducts in human breast tissues. Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol. sept 1996;5(9):705-10.

# Annexes

## Première page des articles publiés dans le cadre de cette thèse