TABLE DES MATIÈRES

Liste des abréviations
Liste des tableaux
Liste des figures

	I-Introduction générale	**1**
	II-Revue bibliographique	
II.1.	Anatomie générale	**3**
II.2.	Histologie du côlon et du rectum	**6**
II.3.	Physiologie du côlon	**12**
II.4.	Cancer colorectal	**15**
II.4.1.	Epidémiologie	**15**
II.4.2.	Facteurs de risque du cancer colorectal	**18**
II.4.2.a.	Facteurs environnementaux	**18**
II.4.2.b	Facteurs associés à une augmentation du risque de cancer colorectal	**18**
II.4.2.c.	Effet protecteur de l'activité physique	**19**
II.4.2.d.	Facteurs individuels	**21**
II.4.3.	Dépistage du cancer colorectal	**21**
II.4.4.	Histopathologie des adénocarcinomes colorectaux	**21**
II.4.5.	Classification des carcinomes colorectaux	**24**
II.4.6.	Lésions précancéreuses	**26**
II.4.6.1.	Polypose Adénomateuse familiale	**29**
II.4.6.2.	Cancer colique hériditraire non polypoïde (HNPCC)	**29**
II.4.7	Marqueurs tumoraux	**30**
II.4.7.1.	L'Antigène Carcino-Embryonnaire (ACE)	**30**
II.4.7.2.	L'antigène carbohydrate 19-9 (CA19-9)	**32**
II.4.7.3.	Cytokératines (CK)	**34**
II.4.8	Cancérogenèse colorectale	**36**
II.4.8.1.	Les Proto-oncogènes	**39**
II.4.8.2.	L'oncogène Raf	**39**
II.4.8.3.	Gène BRAF	**40**
II.4.8.4.	Inhibiteurs de BRAF	**42**
II.4.8.5.	La voie Raf/MEK/ERK	**42**
II.4.8.6.	Rôle de la voie REK/MEK/ERK dans l'oncogenèse	**44**
	III-Matériel et Méthodes	
III.1.	Objectifs du travail	**45**
III.2.	Etude rétrospective	**45**
III.2.1.	Population étudiée	**45**
III.3.	Etude histopathologique et immunohistochimique	**46**
III.3.1.	Etude histopathologique	**46**
III.3.2.	Etude immunohistochimique cytokératines 7/20	**50**
III.3.2.1	Principe de l'immunomarquage	**50**
III.3.2.2	Etapes de la technique	**51**
III.4.	Etude de la mutation V600E du gène BRAF	**53**
III.4.1.	Extraction d'ADN	**53**
III.4.2.	Quantification des ADN extraits	**55**
III.4.3.	Détection qualitative en PCR temps réel de la mutation V600	**59**
III.4.3.1	Réactifs et appareil utilisés	**59**

TABLE DES MATIÈRES

III.4.3.2	Préparation des échantillons et du master mix	**60**
III.4.3.3	Procédure de l'allélo- typage utilisant la technologie TaqMan	**60**
	IV-Résultats	
IV.1	Résultats de l'étude rétrospective	**63**
IV 1.1.	Répartition du cancer colorectal selon les tranches d'âge chez les deux sexes	**63**
IV.1.2.	Répartition du cancer colorectal en fonction du sexe	**65**
IV.1.3.	Antécédents familiaux	**66**
IV.1.4	Répartition du cancer colorectal selon la zone géographique des patients	**67**
IV.1.5.	Répartition des cancers selon le siège de la tumeur	**68**
IV.1.6.	Répartition topographique des cancers colorectaux chez les deux sexes	**69**
IV.1.7.	Evaluation des marqueurs tumoraux ACE et CA19-9	**70**
IV.2.	Résultats de l'étude histologique et immunohistochimique	**71**
IV.2.1.a	Résultats de l'étude histologique	**71**
IV.2.1.b	Répartition du cancer colorectal selon sites métastatiques	**74**
IV.2.2.	Résultat de l'immunomarquage cytokératines 7/20	**79**
IV.3.	Résultats de l'étude moléculaire	**83**
IV.3.1.	Résultats de la quantification d'ADN	**83**
IV.3.2.	Mutation V600E du gène BRAF	**84**
	V-Discussion	
V.1.	Discussion de l'étude rétrospective	**88**
V.2.	Discussion de l'étude histopathologique et immunohistochimique	**92**
V.3.	Discussion de l'étude moléculaire	**96**
	VI-Conclusion générale et perspectives	**99**
	VII- Recommandation	**101**
	Références bibliographiques	**102**
	Annexes	

ABRÉVIATIONS

AC : Anticorps.

ACE : Antigène carcino-embryonnaire.

ADK : Adénocarcinome.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AICR : American Institute for Cancer Research.

AJCC : American Joint Committee on Cancer.

AKT : AKR mouse thymoma kinase.

ANSES : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation.

APC : Adenomatous polyposis coli.

ATP : Adénosine-Triphosphate.

BRAF: V-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B.

CA19-9 : Antigène carbohydrate 19-9.

Cast-PCR : Competitive allele-specific TaqMan PCR.

CCR : Cancer colorectal.

CCRm : Cancer colorectal métastatique.

CHU : Centre hospitalier universitaire.

Ck : Cytokératine.

DAB : Diaminobenzedine.

EDTA : Ethylène Diamine Tétra Acétique.

EGFR : Epithelium Growth Factor Recpetor (facteur de croissance épidermique).

ELAM-1 : Endothelial Leukocyte Adhesion Molecule-1.

ERK : Extracellular signal-regulated kinase.

FFPE : *formalin-fixed paraffin-embedded*.

GIST : **G**astro **I**ntestinal **S**tromal **T**umour , Tumeurs Stromales Gastro Intestinales » ou « TSGI ».

HE : Hématoxyline- éosine.

HNPCC : Hereditary Non Polyposis Colorectal Cancer.

INC : Institut National du Cancer.

K : keratin.

KRAS : V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog.

LBDD: Laboratoire de biologie du Développement et de la Differentiation

M : microfold.

MLH1 **:** MutL homolog 1.

ABRÉVIATIONS

MSI : MicroSatellite Instability.

MUC2 : Mucine 2

MAPK : Mitogen-activated protein kinases.

NGS : Next Generation Sequencing.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

P53 : protein 53

PAF : Polypose adénomateuse familiale

PBS : P*hosphate buffered* saline.

PCR : Polymerase chain reaction.

PI3K : Phosphoinositide 3-kinase

PTEN : Phosphatase and tensin homolog.

RT-PCR : Real time-polymerase chain reaction.

***Smad4* :** Mothers against decapentaplegic homolog 4.

TGF-βRII : Transforming growth factor, beta receptor II.

TMA : ”Tissue MicroArrays.

TNM : Taille de la tumeur, Nombre de ganglions, Métastase.

UICC : Union Internationale contre le Cancer.

WCRF : World Cancer Research Fund.

Wnt : Wingless integration site.

LISTE DES TABLEAUX

II- Revue bibliographique

Tableau I	Incidence du cancer (en milliers) par site et par région……	**17**
Tableau II	Relations probables et convaincantes entre facteurs nutritionnels et risque de cancer…….	**20**
Tableau III	Classification de Dukes……	**24**
Tableau IV	Classification TNM……...	**25**
Tableau V	Pathologies bénignes potentiellement à l'origine d'une augmentation des taux d'ACE……..	**31**
Tableau VI	Variation de l'expression des cytokératines 7 et 20 dans divers cancers ……..	**36**

III- Matériel et méthodes

Tableau VII	Les données clinique et pathologique exploitées chez les patients étudiés.……	**46**
Tableau VIII	Protocol d'inclusion des prélèvements colorectaux…… ..	**48**
Tableau IX	Protocole de la coloration hématoxyline- éosine…….	**48**
Tableau X	Protocole de la coloration Trichrome à froid……...	**49**
Tableau XI	Information sur les essais Taqman utilisés en théranostique……	**59**

IV- Résultats

Tableau XII	Répartition selon l'âge moyen et le sexe…….	**63**
Tableau XIII	Répartition topographique des cancers colorectaux……..	**69**
Tableau XIV	Dosage des marqueurs tumoraux……..	**70**
Tableau XV	Répartition du cancer colorectal selon le type histologique……..	**71**
Tableau XVI	Répartition du cancer colorectal selon le stade TNM et Dukes……	**73**
Tableau XVII	Répartition du cancer colorectal selon sites métastatiques……..	**74**
Tableau XVIII	Distribution des scores d'IHC……...	**79**
Tableau XIX	Caractéristiques des patients inclus pour l'étude moléculaire……..	**83**
Tableau XX	Résultats de la quantification de l'ADN génomique…….	**84**
Tableau XXI	Tableau récaputilatif sur les informations des patients et les résultats de la RT-PCR……	**85**

LISTE DES TABLEAUX

V- Discussion

Tableau XXII Fréquence de mutation des gènes BRAF dans certains pays du monde …….. **98**

LISTE DES FIGURES

II-Revue bibliographique

Figure 1	cæcum et appendice	**4**
Figure 2	Iléum terminal et gros intestin	**4**
Figure 3	Histologie du gros intestin	**8**
Figure 4	Histophotographie d'une coupe longitudinale de la muqueuse	**10**
Figure 5	Histographie représentant un appendice vermiforme	**10**
Figure 6	Histophotographie de la jonction anorectale	**11**
Figure 7	Composantes de la digestion colique	**13**
Figure 8	Histophotographie d'un adénocarcinome du côlon	**23**
Figure 9	Histophotographie représentant le degré de différenciation tumorale du côlon	**23**
Figure 10	Anatomie des différents polypes coliques	**28**
Figure 11	Carcinogenèse colorectale par instabilité de l'ADN	**38**
Figure 12	Représentation des 3 domaines structuraux de BRAF	**41**
Figure 13	Activation de la voie MAP kinase Raf/MEK/ERK	**43**

III- Matériel et méthodes

Figure 14	Méthode d'immunomarquage indirect	**50**
Figure 15	Description de l'appareil Qubit 2.0	**57**
Figure 16	Préparation des échantillons pour quantification	**57**
Figure 17	Photographie du thermocycleur ABI utilisé	**62**
Figure 18	PCR en temps réel**,** Détail des cycles d'amplification utilisé.	**62**

IV-Résultats

Figure 19	Répartition du cancer colorectal selon les tranches d'âge **a-** chez les Hommes **b-** chez les Femmes.	**64**
Figure 20	Répartition du cancer colorectal selon les tranches d'âge chez les deux sexes	**64**
Figure 21	Répartition du cancer colorectal dans la région de l'Ouest Algérien selon le sexe	**65**
Figure 22	Antécédents familiaux chez les patients étudiés	**66**
Figure 23	Répartition du cancer colorectal selon la région de provenance	**67**

Rapport-Gratuit.com

LISTE DES FIGURES

Figure 24	Répartition des cancers selon la localisation **a-** chez les Hommes **b-** chez les Femmes.	**68**
Figure 25	Répartition des cancers colorectaux selon la localisation chez les deux sexes	**68**
Figure 26	Répartition du cancer colorectal selon le type histologique	**72**
Figure 27	Répartition selon le sous-type d'adénocarcinome Liberkühnien	**72**
Figure 28	Répartition du cancer colorectal selon le stade TNM	**73**
Figure 29	Coupe histologique d'une muqueuse colique saine colorée à l'hématoxyline-éosine, (x10).	**75**
Figure 30	Coupe histologique d'une muqueuse A distance de la tumeur colorée à l'hématoxyline-éosine, (x10).	**75**
Figure 31	a- Coupe histologique un adénocarcinome bien différencié, b- Composante mucineuse de l'adénocarcinome, colorées au trichrome à froid (x40)	**76**
Figure 32	Coupe histologique d'un adénocarcinombien à moyennement différenciée (x40).Colorée au trichrome à froid.	**76**
Figure 33	Adénocarcinome moyennement différencié, colorée à l'hématoxyline-éosine, a- (x10), b- (x40).	**77**
Figure 34	Adénocarcinome peu différencié, colorée à l'hématoxyline-éosine (x40).	**77**
Figure 35	Adénocarcinome moyennement différencié colorée à l'hématoxyline-éosine (x10), (métastase hépatique).	**78**
Figure 36	Adénocacinome colloïde muqueux colorée à l'hématoxyline-éosine (x10).	**78**
Figure 37	Adénocacinome à cellules en bague à chaton colorée à l'hématoxyline-éosine (x40).	**78**
Figure 38	immunomarquage CK20 d'une muqueuse colique saine, score 0 (x40)	**80**
Figure 39	immunomarquage CK7 /20, a- Adénocarcinome bien différencié, b- Adénocarcinome du sigmoïde, score 0 (x10).	**80**
Figure 40	immunomarquage CK7/20 d'un adénocarciome colloïde muqueux a- score 0, b- score 1 (x40).	**81**
Figure 41	immunomarquage cytoplasmique et membranaire CK7/ 20d'un adénocarciome colloïde muqueux a- score 2, b- score 3 (x40).	**81**

LISTE DES FIGURES

Figure 42	immunomarquage cytoplasmique CK20 d'un adénocarciome peu différencié score 3 (x40).	**82**
Figure 43	Courbe de fluorescence en temps réel (cast-PCR)	**87**

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

I-INTRODUCTION

Le cancer colorectal est une cause majeure de morbidité et de mortalité. Ce type de cancer est responsable d'au moins 600.000 décès par an. C'est le troisième cancer le plus fréquent dans le monde, avec près de 1,4 million de nouveaux cas diagnostiqués en 2012, ce qui représente plus de 9% de l'incidence mondiale du cancer **(*Ferlay et al.,* 2013)**.

En Algérie, Le cancer colorectal arrive en 2ème position par ordre de fréquence, après le cancer du sein chez la femme et le cancer du poumon chez l'homme (**Plan national cancer, 2014**).

Bien que l'étiologie ne soit pas connue, le CCR est considéré comme une maladie multifactorielle, un rôle important étant attribué à l'impact des facteurs environnementaux sur une prédisposition génétique. La prédisposition héréditaire est considérée comme un facteur important dans la carcinogenèse colorectale, bien que 80% des néoplasies colorectales surviennent en l'absence d'antécédents familiaux de CCR **(*Lynch* et *al.,* 2003)**.

Les cancers d'origine inconnue sont identifiés par l'expression intense de la CK 20 et l'absence du marquage pour la CK7. L'expression positive de la CK20 est détectée chez 70-100% des cancers du colon. L'immun-phénotype CK20+, CK7- a été observé chez 64% des cancers colorectaux et a une sensibilité de 97% de prédire les adénocarcinomes colorectaux **(*Barbareschi et al.,* 2003)**.

Les progrès scientifiques récents sur le traitement appliqué au CCR ont énormément amélioré les chances de survie. Une meilleure compréhension des gènes appelés KRAS et BRAF, en particulier, a amené les chercheurs à mettre au point une méthode qui permet de personnaliser le traitement de certaines personnes présentant un CCR métastatique.

Les biomarqueurs KRAS et BRAF sont des molécules trouvées dans le sang et d'autres liquides ou tissus organiques qui indiquent si un processus est normal ou anormal, ou signalent une pathologie. On peut faire l'analyse d'un biomarqueur particulier pour voir la réaction de l'organisme vis à vis au traitement d'une pathologie.

Le gène BRAF code pour une protéine appelée BRAF qui agit par l'envoi des signaux aux cellules et favorise leur croissance. Ce gène peut être muté dans de nombreux types de cancer, ce qui cause une modification de la protéine BRAF et peut favoriser la croissance et la propagation (métastase) des cellules cancéreuses.

Les personnes dont la tumeur présente une mutation BRAF peuvent également ne pas répondre à un traitement au cétuximab ou au panitumumab. On peut envisager une analyse BRAF, mais cela n'est pas encore recommandé comme un test standard chez toutes les personnes qui présentent un CCR **(*Tomoya*, 2012)**.

L'objectif de cette thèse est de décrire quelques caractéristiques biopathologiques et moléculaires des cancers colorectaux dans une population de l'ouest Algérien.

Une revue bibliographique sur le sujet est rapportée dans la première partie. Dans la seconde nous avons décrit la population étudiée et la méthodologie de travail.

Dans la troisième partie une étude rétrospective portant sur les dossiers des patients porteurs d'un adénocarcinome colorectal a été réalisée afin de dresser un constat sur la fréquence du cancer dans la région de l'Ouest Algérien et son évolution dans le temps d'une part. D'autre part, évaluer le profil des marqueurs circulants CA19-9 et ACE avant et après chirurgie.

Afin de déceler l'origine primitive des cancers colorectaux de notre population, une étude histopathologique et une analyse immunohistochimique des marqueurs épithéliaux cytokératines 7 et 20 ont été réalisées

Pour une meilleure compréhension de son rôle possible dans le pronostic et la prédiction de la réponse à anti-EGFR, nous avons recherché la mutation BRAF (V600E) chez un groupe de patients atteints de cancer colorectal métastatique.

II- REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

II.1 Anatomie générale

Reliant l'iléon à l'anus, le gros intestin entoure l'intestin grêle sur ses trois côtés. Son diamètre est très supérieur à celui de l'intestin grêle et il s'étend sur une longueur de 1,5m.

D'un point de vue structural, il est constitué de cinq segments nommés successivement le cæcum, l'appendice, le côlon (ascendant, transverse, descendant et sigmoïde), le rectum pelvien et le canal anal **(Figure 2) (*Manuelle*, 2008)**.

Il peut être distingué de l'intestin grêle par :

- les bandelettes ou ténias du côlon (***teniae coli***), trois bandelettes musculaires longitudinales,
- Les haustrations : dilatations sacculaires du côlon entre les bandelettes,
- Les appendices épiploïques : petites excroissances graisseuses du péritoine,
- Le calibre : le diamètre interne du côlon est beaucoup plus large que celui de l'intestin grêle. Sauf au niveau du rectum, les trois bandelettes du côlon rassemblent la majeure partie de la musculature longitudinale du gros intestin. Ces bandelettes étant plus courtes que l'intestin lui-même, le côlon est parcouru par une série de constrictions séparées par des dilatations sacculaires, les haustrations **(Figure 2)**.

Le rectum et le canal anal sont dépourvus de bandelettes et d'appendices épiploïques ; les bandelettes sont présentes à partir de la base de l'appendice et s'étendent tout le long du gros intestin jusqu'à la jonction recto-sigmoïdienne **(Figure 1, 2) (*Lean Moore,* 2001)**.

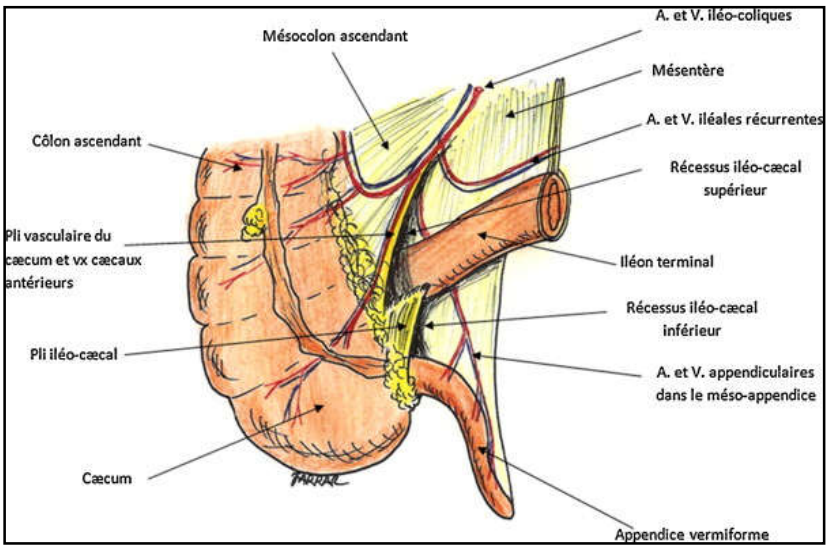

Figure 1 : cæcum et appendice **(*Mama,* 2014)**.

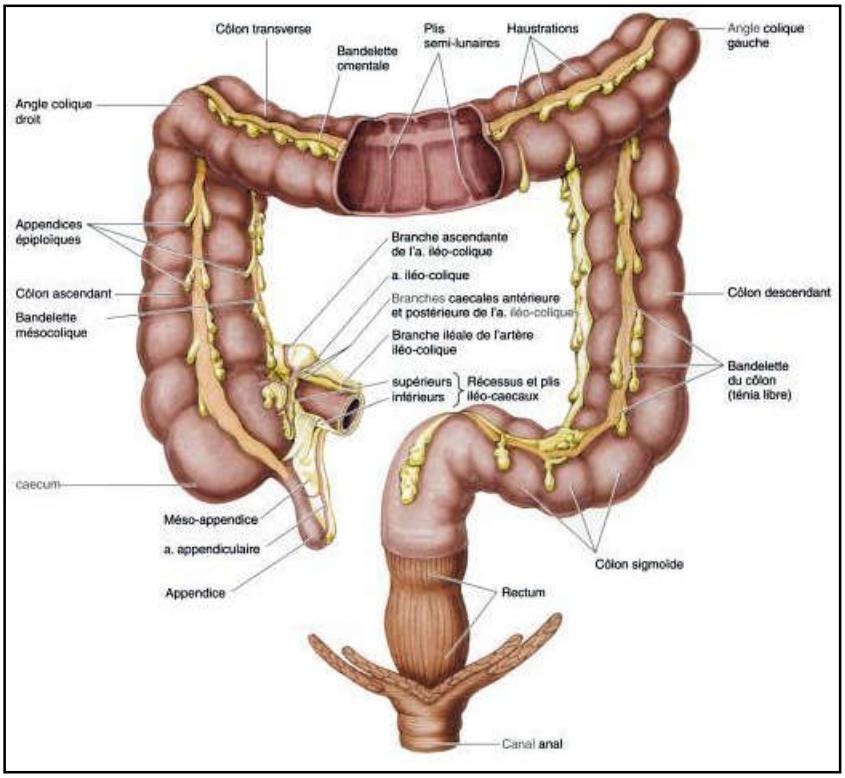

Figure 2 : Iléum terminal et gros intestin ***(Lean Moore,* 2001)**.

On décrit au côlon quatre parties :

Le cæcum et appendice forment la première partie du gros intestin, prolongé par le côlon ascendant, le cæcum offre l'aspect d'une poche intestinale aveugle dont la longueur et la largeur atteignent environ 7,5 cm ; il est situé dans le quadrant inférieur droit et, plus précisément, repose dans la fosse iliaque en dessous de sa jonction avec l'iléum terminal. L'appendice est un diverticule intestinal borgne d'une longueur de 6 à 10 cm qui se détache de la face postéro-médiale du cæcum en dessous de la jonction iléo- cæcale **(Figure 1)**. Il possède un mésocôlon court et triangulaire, le méso-appendice, dérive de la face postérieure du mésentère de l'iléum terminal ; il se fixe sur le cæcum et sur la partie proximale de l'appendice. La position de l'appendice est variable, mais généralement elle est rétro- cæcale **(Figure 1) (*Lean Moore,* 2001)**.

Le côlon ascendant est deuxième partie du gros intestin, il monte dans la partie droite de la cavité abdominale, du cæcum jusqu'au lobe droit du foie **(Figure 2)** puis il se coude vers la gauche au niveau de l'angle colique droit (courbures en angle hépatique). Plus étroit que le cæcum, le côlon ascendant occupe une portion rétropéritonéale sur le côté droit de la paroi abdominale postérieure. Il est revêtu de péritoine sur ses faces antérieure, latérale et médiale ; toutefois, chez environ 25 % des individus, il possède un court méso. Le côlon ascendant est séparé de la paroi abdominale antéro-latérale par le grand épiploon **(*Lean Moore,* 2001)**.

Le côlon transverse est la partie la plus longue et la plus mobile du gros intestin ; sa longueur moyenne est de 45 cm **(Figure 2)**. Il s'étend de l'hypochondre droit ou il fait suite à l'angle colique droit jusqu'à l'hypochondre gauche ou il se continue par l'angle splénique. **(*Lean Moore,* 2001)**.

Le côlon descendant descend dans le plan rétro péritonéal depuis l'angle splénique jusqu'à la fosse iliaque gauche où il se prolonge par le côlon sigmoïde **(Figure 2)**.

Le péritoine revêt ses faces antérieures, médiale et latérale et fixe celui-ci sur la paroi abdominale postérieure ; il est longé du côté gauche par un sillon paracolique semblable à celui qui longe le côté droit du côlon ascendant.

Le côlon sigmoïde réunit le côlon descendant au rectum **(Figure 2)** ; caractérisé par sa courbure en forme de « S », il présente une longueur variable qui avoisine le plus souvent les 40 cm.

Le côlon sigmoïde s'étend de la fosse iliaque gauche jusqu'au niveau de la troisième vertèbre sacrale où s'unit au rectum. Située à 15 cm environ de l'anus, la jonction recto- sigmoïdienne correspond à la fin des bandelettes musculaires (ténias du côlon). **(*Lean Moore*, 2001)**.

Le rectum et canal anal ont 13 cm de long, dirigé vers l'arrière et vers le bas, il est situé devant le sacrum et entre en continuité avec le côlon sigmoïde au niveau de la vertèbre S3. Il se spécifie par sa région renflée appelée ampoule rectale **(Figure 2)**. Inférieurement, le rectum se prolonge par le canal anal de 3,8 cm **(Figure 1)**, de long qui s'ouvre vers le milieu extérieur par un orifice nommé anus **(*Lean Moore*, 2001, *Manuelle* , 2008)**.

II.2 Histologie du côlon et du rectum

La muqueuse et la submuqueuse du gros intestin forment de nombreux plis semi-lunaires. A la différence des plis circulaires de l'intestin grêle, ce ne sont cependant pas des reliefs permanents mais bien des formations qui apparaissent en fonction des contractions de la musculaire **(Figure 3.a)**. La structure de la muqueuse est homogène dans l'ensemble du gros intestin à l'exception du canal anal. Elle se distingue de celle de l'intestin grêle par l'absence de villosités. Sa surface est parsemée des nombreux orifices des cryptes qui sont plus profondes et plus serrées que le grêle, **(*Lüllmann-Rauch*, 2008)**. La muqueuse est constituée de deux types cellulaires : des cellules absorbantes et des cellules caliciformes mucosécrétantes **(Figure 3.b) (*Heath*, 2008)**. La lamine propria renferme de nombreuses cellules de défense ainsi que des nodules lymphoïdes solitaires.

La musculaire du côlon se compose d'une couche circulaire homogène bien développée mais sa couche longitudinale est condensée sous forme de trois bandelettes épaisses, ou tænia appelée tænia libre, tænia mésocolique et tænia omental **(Figure 3.a)**. La musculature longitudinale forme en revanche sur l'appendice vermiforme et le rectum une couche continue unique.

Selon la région, le gros intestin possède une adventice ou une séreuse. La couche subséreuse renferme des adipocytes formant des amas souvent visibles sous forme d'appendices épiploïques à hauteur des tæniae **(*Lüllmann-Rauch*, 2008)**.

Rapport-Gratuit.com

Le chorion du gros intestin est formé de collagène (coloré en rouge sur la photographie sur **(Figure 3 c,d)**, de réticuline et de fibroblastes encastrés dans une matrice de glycosaminoglycanes. On retrouve, immédiatement sous la membrane basale de l'épithélium de surface, une couche de collagène compacte. Les cellules du chorion sont des lymphocytes (surtout T) et de rares polynucléaires éosinophiles **(Figure 3.e)**. On retrouve aussi de petites follicules lymphoïdes, dont les plus gros traversent la musculaire muqueuse et pénètrent dans la sous-muqueuse. Des cellules renfermant des granules sont appelées muciphages sont fréquentes surtout au niveau du rectum **(*Lüllmann-Rauch*, 2008)**.

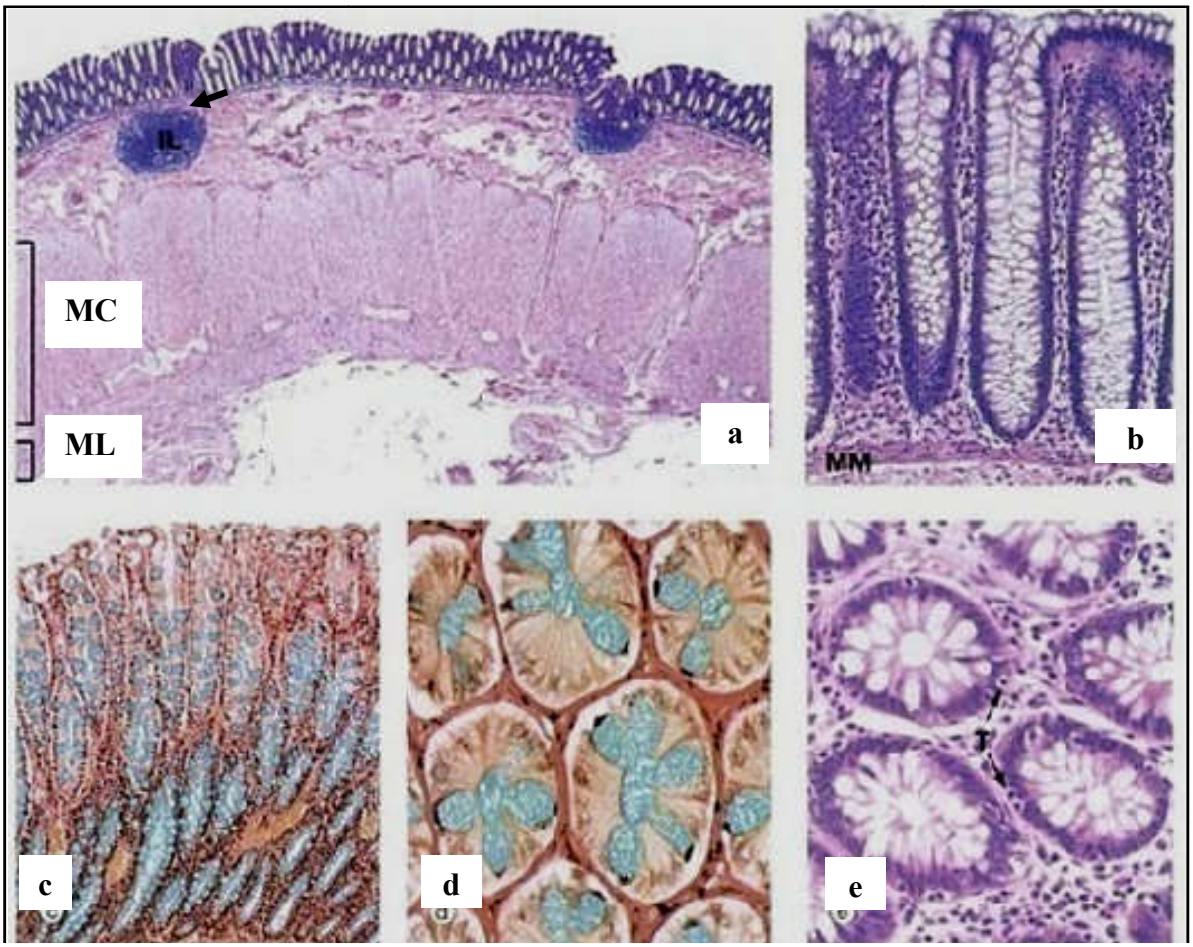

Figure 3 : Histologie du gros intestin, **(*Heath*,2008).**

IL : îlots lymphoïdes, **MC :** musculeuse circulaire, **ML :** musculeuse longitudinale, **MM :** musculeuse muqueuse. **T :** lymphocyte T intraépithéliaux.

a- Photographie des différentes couches du gros intestin. Coloration HE Gx4.

b- Photographie d'une coupe longitudinale de la muqueuse. Coloration HE Gx100.

c- Coupes longitudinale Cryptes coliques en coupe transversale. Coloration bleu Alcian/Van Gieson Gx80, le mucus des cellules caliciforme est coloré en bleu turquoise alors que les cellules absorbantes restent pâles.

d- Photographie d'une coupe transversale de la partie supérieure de glandes coliques. Coloration bleu Alcian/Van Gieson Gx320.

e- Photographie d'une coupe transversale de la partie supérieure de glandes coliques. Coloration HE Gx200.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

L'épithélium cylindrique simple se compose de cellules prismatiques élevées, les colonocytes, qui possèdent de courtes microvillosités (fonction de résorption de sels et de 1,5 l d'eau quotidiennement) **(Figure 4)**.

Les colonocytes des cryptes sont aussi capables de sécréter de l'eau. De plus, l'épithélium comprend des mucocytes caliciformes (produisant des mucines MUC2 pour le tapis de mucus épais de près de 700 µm). Les cellules entéro-endocrines présentes sont principalement des cellules à sérotonine **(Figure 4) (*Lüllmann Rauch* , 2008)**.

L'appendice est un organe lymphoïde. On trouve dans sa paroi de nombreux nodules lymphoïdes qui sont d'abord apparus dans sa lamina propria mais qui sont ensuite devenus tellement nombreux qu'ils ont atteints la submuqeuse. La muscularis mucosae n'est souvent plus visible **(Figure 5)**. L'épithélium surplombant les nodules est dépourvu de cryptes et contient des cellules M. La lumière de l'appendice contient souvent le reste du contenu intestinal ainsi que des épithéliocytes et des cellules de défense nécrotiques **(*Lüllmann-Rauch*, 2008)**.

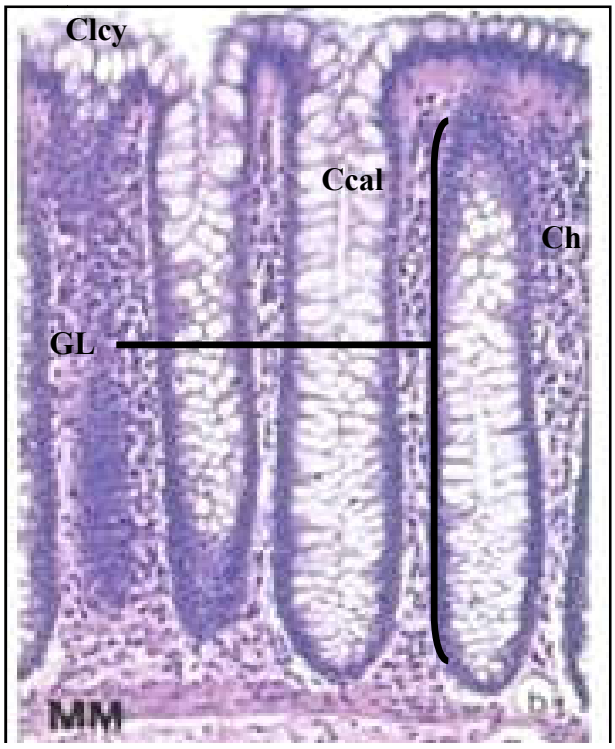

Figure 4 : Histophotographie d'une coupe longitudinale de la muqueuse. Coloration HE Gx100, **Ccal** : cellule caliciforme, **Ch**: chorion, **Clcy** : colonocytes, **GL** : glande de Lieberkühn, **MM :** musculeuse muqueuse. **(*Heath*,2008)**,

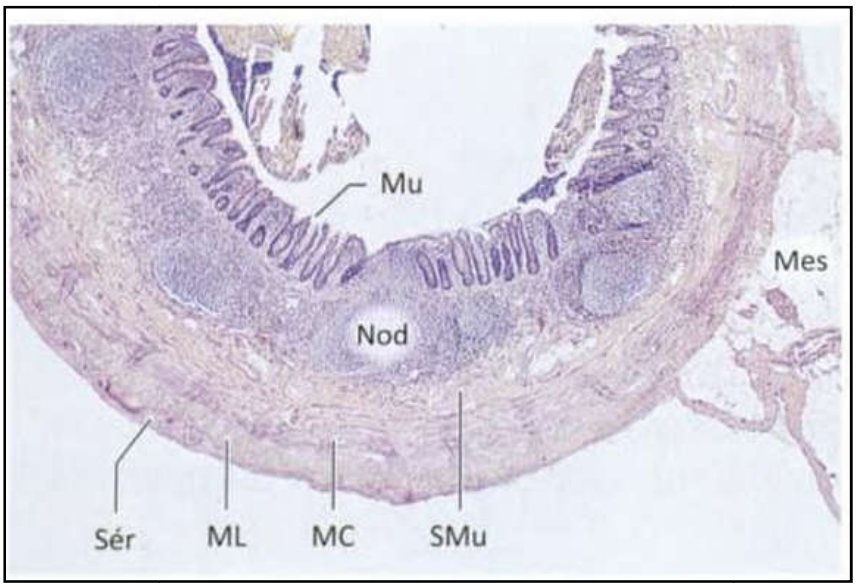

Figure 5: Histographie représentant un appendice vermiforme humain en coupe transversal. Coloration HE Gx14. **Mes** : mésappendice**, MC** : myocytes circulaires, **ML** : myocytes longitidinaux, **Mu** : muqueuse, **Nod** : nodule lymphoïde, **Sér** : séreuse, **SMu** : submuqueuse **(*Lüllmann-Rauch*, 2008)**.

La muqueuse rectale est analogue à celle du reste du côlon excepté qu'elle renferme encore plus de cellules caliciformes. A la jonction anorectale, il se produit une transition avec apparition d'un épithélium pavimenteux stratifié au niveau du canal anal **(Figure 6) (*Heath*, 2008)**.

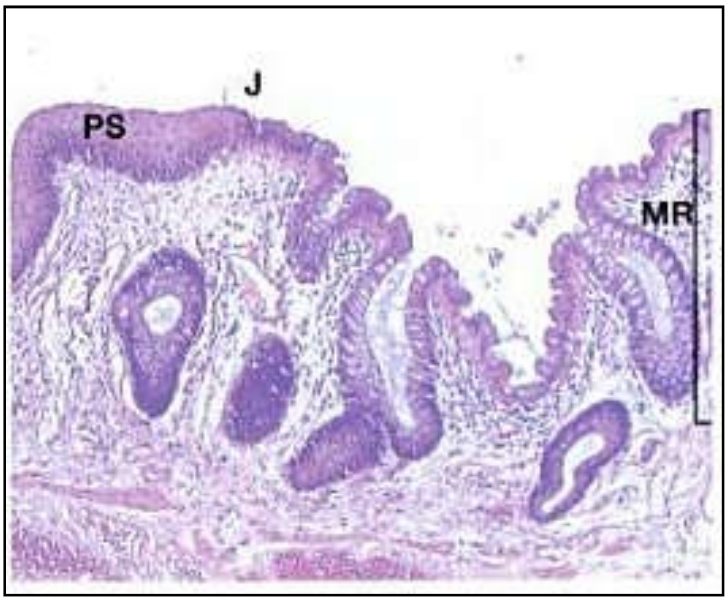

Figure 6 : Histophotographie de la jonction anorectale.

Coloration HE Gx60. **PS** : Epithélium pavimenteux stratifié, **MR** : muqueuse rectale, **J** : jonction anorectale **(*Heath*, 2008)**.

II.3. Physiologie du côlon

Le côlon contribue à trois fonctions importantes de l'organisme : 1) la concentration des matières fécales par absorption d'eau et d'électrolytes, 2) l'entreposage et l'évacuation maîtrisée des selles et 3) la digestion et l'absorption des aliments non encore digérés.

Le côlon droit (cæcum et côlon ascendant) joue un rôle majeur dans l'absorption de l'eau et des électrolytes, de même que dans la fermentation des sucres non digérés; le côlon gauche (côlon descendant, côlon sigmoïde et rectum) intervient surtout dans l'entreposage et l'évacuation des selles **(*Turnbull*, 2005)**.

Le côlon absorbe l'eau très efficacement. Dans des conditions physiologiques normales, environ 1,5 L de liquide pénètre chaque jour dans le côlon **(Figure 7)**.

La capacité maximale d'absorption du côlon est d'environ 4,5 L par jour, de sorte qu'une diarrhée (augmentation de la quantité de liquide dans les selles) ne surviendra que si le débit iléo-cæcal excède la capacité d'absorption ou que la muqueuse colique elle-même sécrète du liquide.

La caractéristique fondamentale du transport des électrolytes dans le côlon qui permet cette absorption efficace de l'eau est la capacité de la muqueuse colique de produire un important gradient osmotique entre la lumière intestinale et l'espace intercellulaire **(*Turnbull*, 2005)**.

Ce gradient osmotique est créé par le transport électrogénique du sodium qui est effectué par la pompe Na+/K+ ATPase dépendante d'énergie de la membrane basolatérale, laquelle pompe le sodium de l'intérieur de la cellule vers l'espace intercellulaire à l'encontre d'un important gradient de concentration. Le sodium présent dans la lumière du côlon passe à son tour à travers la membrane apicale de la cellule par des canaux sodiques, dans le sens du gradient de concentration créé par la pompe. Le résultat net est que le liquide hypertonique présent dans l'espace intercellulaire pompe l'eau de manière passive de la lumière vers la muqueuse **(*Turnbull*, 2005)**.

Les jonctions serrées sont très perméables au potassium, contrairement à ce qui en est pour le sodium, ce qui permet au potassium de passer du plasma vers la lumière. Le potassium pompé dans la cellule par la Na+/K+ ATPase peut aussi être sécrété dans la lumière **(Figure7)**.

D'autres mécanismes de transport semblables à ceux de l'intestin grêle sont aussi observés dans les entérocytes coliques où ils assurent la neutralité électrique, le pH intracellulaire et la sécrétion. Toutefois, il n'y a pas de co-transporteurs de nutriments dans le côlon.

La régulation du transport de l'eau et des électrolytes dans le côlon fait également intervenir des interactions complexes entre les voies de régulation humorale, paracrine et neurale **(*Turnbull*, 2005)**.

Sur le plan fonctionnel, les caractéristiques de contraction dans le côlon droit (cæcum et côlon ascendant) produisent un brassage important qui facilite l'absorption d'eau, alors que dans le côlon gauche (sigmoïde et rectum), elles ralentissent le mouvement des selles formées, ce qui constitue un réservoir jusqu'à ce que les réflexes stimulent les contractions pour faire avancer et évacuer les selles.

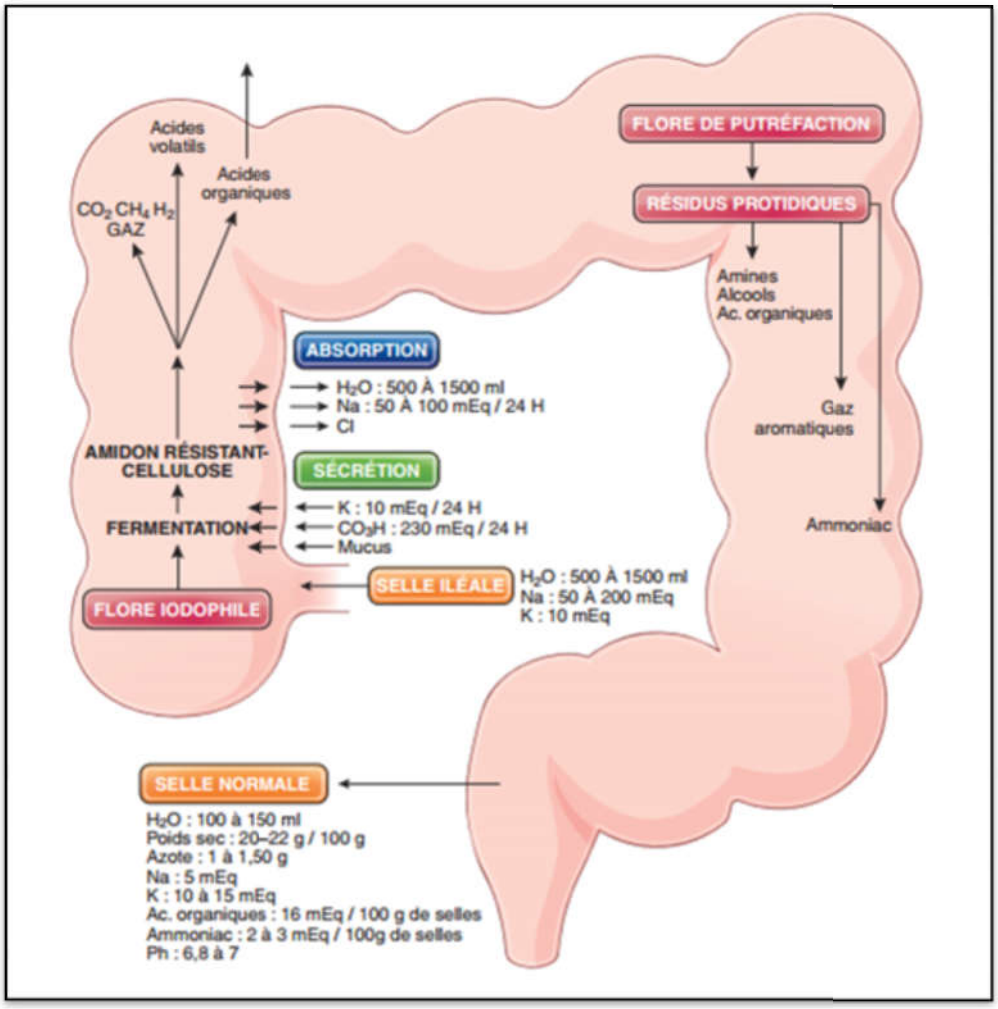

Figure 7 : Composantes de la digestion colique **(*Fumat*, 2014).**

Il existe plusieurs types fondamentaux de contraction dans le côlon. Les contractions annulaires sont dues à la contraction du muscle circulaire et peuvent être toniques ou rythmiques. Les contractions toniques sont maintenues pendant des heures et produisent les haustrations mises en évidence par radiographie au baryum; elles semblent jouer un rôle dans le brassage. Les contractions rythmiques peuvent être intermittentes ou régulières. Les contractions régulières sont non occlusives, durent quelques secondes et se déplacent en direction céphalique (côlon droit) et en direction caudale (côlon gauche). Vraisemblablement, elles jouent aussi un rôle dans le brassage.

Les contractions annulaires intermittentes se produisent à quelques heures d'intervalle, obstruent la lumière colique et se déplacent en direction caudale. Elles entraînent un mouvement de masse des selles, principalement dans le sigmoïde et le rectum.

Les contractions du muscle longitudinal semblent produire des saillies de la paroi colique entre les *tænia coli*. L'origine des contractions n'est pas totalement élucidée, mais dépend surtout de la fréquence des ondes lentes des muscles lisses. Les potentiels d'action se produisent aux maximums de ces oscillations membranaires et contrôlent ainsi la fréquence des contractions.

Les contractions sont aussi modulées par les voies paracrines et humorales et par d'autres voies neurales. Les figures 2 et 3 montrent l'aspect normal du côlon à la coloscopie **(*Turnbull*, 2005)**.

Au sein de ce dernier segment du tube digestif résident de très nombreux agents bactériens (dont *Escherichia coli*) qui constituent la flore intestinale **(*Manuelle*, 2008)**.

Ces bactéries digèrent un certain nombre de produits alimentaires non digérés qui se trouvent normalement dans les effluents déversés dans le côlon, tels les sucres complexes contenus dans les fibres alimentaires.

Les sucres complexes sont dégradés par fermentation bactérienne en acides gras à chaîne courte, en butyrate, en propionate et en acétate **(Figure 7)**. Ces acides gras à chaîne courte constituent des sources nutritives essentielles pour l'épithélium colique et, de plus, peuvent satisfaire jusqu'à 500 calories/jour des besoins alimentaires globaux. Ils sont acheminés par transport passif et actif à l'intérieur des cellules où ils constituent une importante source d'énergie pour la cellule par l'intermédiaire de la voie de ß-oxydation.

La fermentation des sucres par les bactéries du côlon est aussi une source importante de gaz coliques tels l'hydrogène, le méthane et le dioxyde de carbone **(Figure 7)**. Ces gaz, particulièrement le méthane, expliquent en grande partie la tendance de certaines selles à flotter dans la cuvette. L'azote, qui diffuse dans le côlon à partir du plasma, est le principal gaz. Toutefois, l'ingestion de grandes quantités de sucres complexes non digérés, tels que ceux qui se trouvent dans les fèves, ou la mauvaise digestion de sucres simples, tels que le lactose, peuvent occasionner une augmentation importante de la production de gaz coliques. Cela peut amener les patients à se plaindre de gonflements abdominaux et de flatulence accrue **(*Turnbull*, 2005)**.

II.4. Cancer colorectal

II.4.1. Epidémiologie

Après les maladies cardiovasculaires et les maladies infectieuses, la cause la plus fréquente de mortalité est le cancer. Environ 7,6 millions de décès sont survenus en 2008 dans le monde, dont 60% dans les pays pauvres.

On admet cependant que le cancer est à l'origine de plus du quart des décès dans les pays les plus développés et de moins de 10% dans les pays émergents.

Cette faible incidence ne s'explique cependant pas par un risque plus faible, mais par une espérance de vie plus courte, en grande partie due aux décès secondaires aux maladies infectieuses et au syndrome d'immunodéficience acquise (Sida) **(*Gentilini*, 2012)**.

Le cancer colorectal est au 3ème rang mondial des cancers et est responsable de 10% de la mortalité par cancer. Il représente un million de nouveaux cas par an au niveau mondial **(Tableau I)**, plus de 200 000 aux Etats-Unis et en Europe. Le risque cumulé moyen de développer un cancer colorectal dans les populations occidentales est de 5% **(*Cadi*, 2010)**.

En France, en 2011, le CCR arrivait en 3ème position en termes de fréquence avec 40500 cas **(d'après l'INC, Janvier 2012)**. Les nouveaux cas surviennent en majorité chez des personnes de plus de 50 ans. L'âge moyen au moment du diagnostic est élevé, 70 ans chez l'homme et 73 ans chez la femme.

Au Maroc, l'incidence du cancer est de 6,5 pour 100.000 habitants, Le Maroc enregistre chaque année 40.000 nouveaux cas de cancer, dont seulement 12.000 sont pris en charge, il représente la 3e cause de mortalité par cancer après le cancer du poumon et du sein avec une incidence de 3,8 et 2,6 pour 100 000 respectivement chez les hommes et les femmes, selon le registre de Rabat (2006-2008) **(*Sadouni*, 2008)**.

En Tunisie dans les 2 sexes, au fil des ans, l'incidence de ce cancer n'a pas cessé d'augmenter. Au cours des années 2004-2006, on a enregistré une moyenne annuelle de 311 cas, les tumeurs rectales (Jonction recto-sigmoïdienne, rectum, canal anal et anus) représentent 39,3% de l'ensemble des cancers colorectaux **(Registre du cancer Nord-Tunisie, 2004-2006).**

En Algérie, l'incidence du CCR (3 380 cas/an soit 8,9%) et classée en deuxième localisation après le cancer du sein (8 177 cas /an soit 21,6%). Il est le deuxième cancer chez les hommes (1 690 cas soit 10,3%) après le cancer du poumon, et le deuxième chez les femmes (1 690 cas soit 7,9%) après le cancer du sein **(*Bounedjar*, 2012)**.

Au sein du laboratoire de Biologie du Développement et de la Différenciation une étude épidémiologique rétrospective faite entre Janvier 2000 et Décembre 2007 dans la région d'Oran a reporté 313 malades atteints de cancer coliques **(*Ghalek*, 2011)**.

Le registre du cancer d'Oran en 2011 a enregistré ($11/10^5$ h) chez l'homme et ($8/10^5$ h) chez la femme, il occupe le 3ème rang chez les deux sexes **(XVI^{ème} journées Registre du cancer d'Oran, 2014)**.

Rapport-Gratuit.com

Tableau I : Incidence du cancer (en millier) par site et par région **(OMS, 2004)**.

	Afrique	**Amérique**	**EST MEDITERRANEEN**	**EUROPE**	**ASIE SUD-EST**	**PACIFIQUE OUEST**
Cancer du poumon	27	264	34	401	164	558
Cancer de l'estomac	38	89	25	182	78	521
Cancers du côlon et du rectum	32	2017	23	409	106	293
Cancer du foie	65	38	13	67	64	386
Cancer du col de l'utérus	95	95	15	81	180	73
Cancer du sein	72	310	54	326	154	184
Cancer de la prostate	77	236	13	180	45	54
Lymphome et myélome multiple	56	102	39	113	91	79
Leucémie	20	68	28	86	72	101
Autres cancers	716	2294	470	3058	1726	919

II.4.2. Facteurs de risque du cancer colorectal

II.4.2.a. Facteurs environnementaux

Trois facteurs nutritionnels sont impliqués dans la survenue de cancer colorectal **(ANSES, 2011) :**

- la consommation d'alcool,
- le surpoids et l'obésité,
- la consommation de viandes et de charcuteries.

En revanche, l'activité physique et la consommation de fruits et légumes sembleraient jouer un rôle protecteur.

II.4.2.b. Facteurs associés à une augmentation du risque de cancer colorectal

La relation entre consommation de boissons alcoolisées et augmentation du risque de cancer colorectal est jugée convaincante chez l'homme et probable chez la femme **(WCRF)/ (AICR), 2007)**. L'effet dépend de la quantité totale d'alcool ingérée et non du type de boisson.

Les produits de dégradation du tabac constituent aussi un facteur de risque dans la survenue du cancer du côlon. Le lien entre tabagisme et cancer colorectal est décrit dans la littérature comme important **(*Botteri*, 2008)**.

En 2005, une étude montre que l'apparition de cancers du côlon est plus élevée parmi les professionnels exposés à l'amiante **(*Aliyu et Cullen*, 2005)**. Selon cette étude, ces ouvriers exposés avaient 35% de risque en plus de développer un cancer colorectal par rapport au groupe témoin constitué de fumeurs non exposés à l'amiante. En 2011, une autre étude cas/ témoins confirme le lien entre exposition à l'amiante et augmentation du risque de cancer colorectal en milieu professionnel **(*Fang*, 2011)**.

La relation entre surpoids, obésité et augmentation de risque de cancer est jugée probante pour le cancer colorectal **(AICR, 2011)**.

Les données épidémiologiques sur le rôle de l'obésité comme facteur de risque du cancer colorectal sont concordantes.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

D'après une méta-analyse et des études de cohortes, le pourcentage d'augmentation de risque de cancer colorectal est estimé à 41% pour les individus présentant un Indice de Masse Corporel (IMC) >30 kg/m², par rapport aux individus ayant un IMC < 23 kg/m². Cette association est également liée à la localisation du cancer. Elle est plus importante pour le cancer du côlon que pour le cancer du rectum. **(*Harriss*, 2009, *Ning*, 2010)**. Un style de vie sédentaire constitue aussi un facteur de risque du cancer du côlon mais pas du cancer du rectum (Centre international de recherche sur le *cancer* **(CIRC, 2002)**.

En France, un quart de la population consomme au moins 500 grammes de viande rouge par semaine, et plus d'un quart de la population au moins 50 grammes de charcuterie par jour. La consommation excessive de viande rouge et de charcuterie augmente le risque de cancer colorectal.

Une étude réalisée entre 1992 et 1998 dans 10 pays européens sur une population d'hommes et de femmes âgés de 50 ans confirme que le risque de développer un cancer colorectal dans les 10 ans passe de 1,28% chez les faibles consommateurs de viande rouge et charcuterie (moins de 30g/j pour un homme et de 13g/j pour une femme) à 1,71% chez les gros consommateurs (plus de 129g/j pour un homme et plus de 85g/j pour une femme). En revanche, la consommation de poisson semble avoir un effet protecteur **(*Norat*, 2005)**.

Le risque de cancer du côlon dans cette étude passe de 1,86% chez les faibles consommateurs de poisson (moins de 14g/j) à 1,28% chez les gros consommateurs (plus de 50g/j) **(*Norat*, 2005)**.

II.4.2. c. Effet protecteur de l'activité physique

Concernant l'activité physique, des preuves convaincantes existent dans le sens d'une diminution du risque de cancer colorectal avec la pratique d'une activité physique. Des études montrent un effet protecteur de l'activité physique, avec une réduction du risque de 40 à50 % avec un effet dose réponse **(*Simons*, 2013 ; *Boyle*, 2012)**. Cet effet bénéfique semble être lié à l'accélération du transit intestinal réduisant l'exposition de la muqueuse digestive aux cancérogènes d'origine alimentaire **(Tableau II)**.

De plus, l'activité physique contribue de manière probable à diminuer le risque de prise de surpoids et d'obésité, eux mêmes facteurs de risque de cancer colorectal.

Tableau II : Relations probables entre facteurs nutritionnels et risque de cancer, extraites du rapport du **(WCRF/ AICR, 2007)**.

AUGMENTATION DU RISQUE	
Facteur nutritionnel	**Localisation du cancer**
Boissons alcoolisées	Bouche, pharynx, larynx, oesophage, côlon-rectum chez l'homme Sein chez la femme (pré- et post-ménopause).
Surpoids et obésité	Œsophage, pancréas, côlon-rectum, sein (post ménopause), endomètre, rein
Excès d'adiposité abdominale	Côlon-rectum
	Pancréas, sein (post-ménopause), endomètre
Taille à l'âge adulte	Côlon-rectum, sein (post-ménopause)
Viande rouge	Côlon-rectum
Charcuterie	Côlon-rectum

DIMINUTION DU RISQUE	
Facteur nutritionnel	**Localisation du cancer**
Activité physique	Côlon-rectum
	Sein (post-ménopause), endomètre
	Sein (pré- et post-ménopause)
Ail	Côlon-rectum
Aliments contenant des fibres	Côlon-rectum
Lait	Côlon-rectum
Supplémentation en calcium	Côlon-rectum

II.4.2. d. Facteurs individuels

Comme pour la plupart des cancers, l'âge est un facteur de risque important de cancer colorectal. Avant 40 ans, les cancers colorectaux sont rares. Le risque augmente à partir de 50 ans et s'accroît jusqu'à 80 ans. 94 % des cancers colorectaux se manifestent chez les personnes de plus de 50 ans. Le risque est également augmenté chez les personnes souffrant de maladies inflammatoires comme la maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique en particulier si elles évoluent depuis plus de 10 ans **(*Suissa*, 2011)**.

II.4.3 Dépistage du cancer colorectal

Après 50 ans, il est souhaitable de faire pratiquer, par un médecin généraliste, un toucher rectal, lors d'un examen médical, ainsi qu'un test de dépistage.

Le test de dépistage du cancer colorectal est basé sur la découverte de sang microscopique dans les selles. En effet, très souvent les gros polypes et les cancers de l'intestin saignent sur un mode non visible. Ce saignement microscopique pourra être repérer grâce à un test de laboratoire utilisé actuellement : le test Hémoccult II^{R}. Si le test est négatif, le patient sera invité à le renouveler tous les deux ans. Si des troubles tels que constipation ou diarrhée, fatigue anormale, douleurs au ventre, apparaissent dans l'intervalle de ces deux ans il faut consulter un médecin.

Par contre, si le test est positif, il est indispensable d'effectuer un examen approfondi de l'intestin par une coloscopie qui permettra de visualiser les lésions et de les prélever pour l'examen histologique. De cette examen dépendra la suite du traitement si la lésion est cancéreuse **(*Bates*, 2014)**.

II.4.4. Histopathologie des adénocarcinomes colorectaux

Les tumeurs malignes prenant naissance dans un épithélium glandulaire sont appelées adénocarcinomes **(*Wheater et al.*, 2015)**. Dans l'adénocarcinome, les cellules épithéliales malignes forment des glandes anormales désorganisées envahissant les tissus environnants. La profondeur de l'infiltration et l'existence d'une extension aux ganglions lymphatiques péritonéaux de drainage permettent d'établir le stade d'extension de la tumeur. Plus la tumeur est étendue, plus son pronostic est mauvais ; un adénocarcinome superficiel de petite taille limité au côlon a de grandes chances d'être guéri après traitement chirurgical alors qu'une tumeur d'extension massive et à distance (ayant métastasé) sera de plus mauvais pronostic. Sur la **(Figure 8)**, les glandes tumorales **G** infiltrant la musculeuse.

On observe de petits faisceaux de muscle lisse Mu et des zones de nécrose N (cellules mortes) **(*Wheater et al*., 2015)**.

La série de coupe (Figure 10) illustre les différents degrés de différenciation que l'on peut observer dans les tumeurs dérivant d'un même type cellulaire, en l'occurrence l'épithélium cylindrique muco-sécrétant du côlon. Il existe tout un spectre de modifications allant de l'épithélium normal aux tumeurs malignes peu différenciées, en passant par les tumeurs bénignes.

Les cellules de la tumeur maligne bien différenciée **(Figure 9 a)** sont hautes et cylindriques, mais leurs noyaux sont de forme et de dispositions plus irrégulières ; il n'y a pas de mucosécrétion et la plupart des cellules sont presque entièrement occupées par leur noyau. Les noyaux sont serrés les uns contre les autres et leur position est stratifié. Les nucléoles sont également volumineux et irréguliers de taille et de forme. Au contraire, dans la tumeur colique peu différencié **(Figure 9 b)**, les cellules ressemblent peu au tissus d'origine et s disposent de façon désordonné au lieu de rangées régulières bordant les lumières glandulaires. Les cellules montrent une grande hétérogénéité de taille et de forme de leurs noyaux : on observe quelques figures de mitoses M et une mucosécrétion peu marquée.

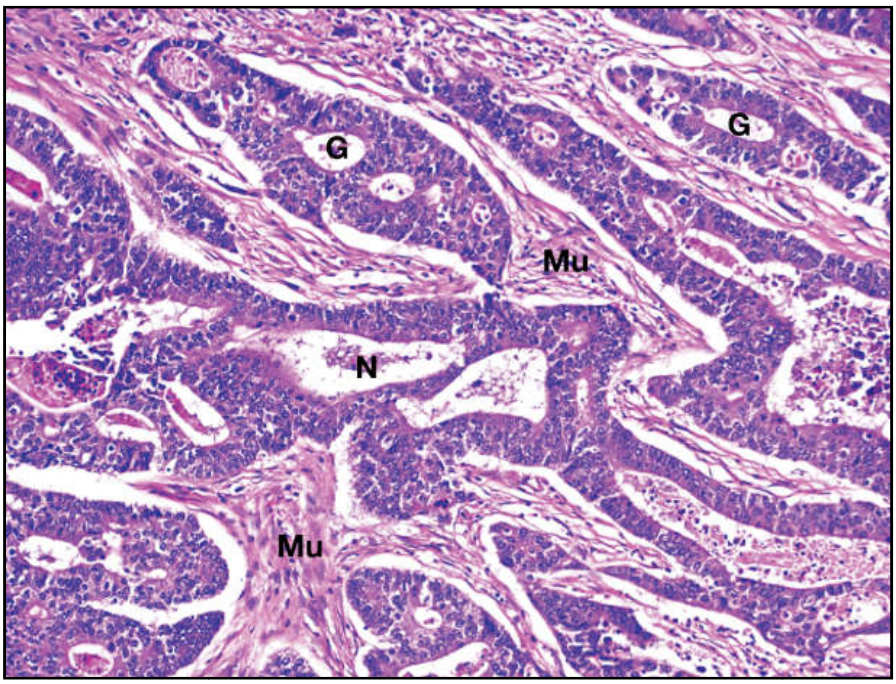

Figure 8 : Histophotographie d'un adénocarcinome du côlon colorée à l'hématoxyline-éosine x 20, **G** : glande, **Mu** : muscle lisse, **N** : nécrose **(*Wheater et al*., 2015)**.

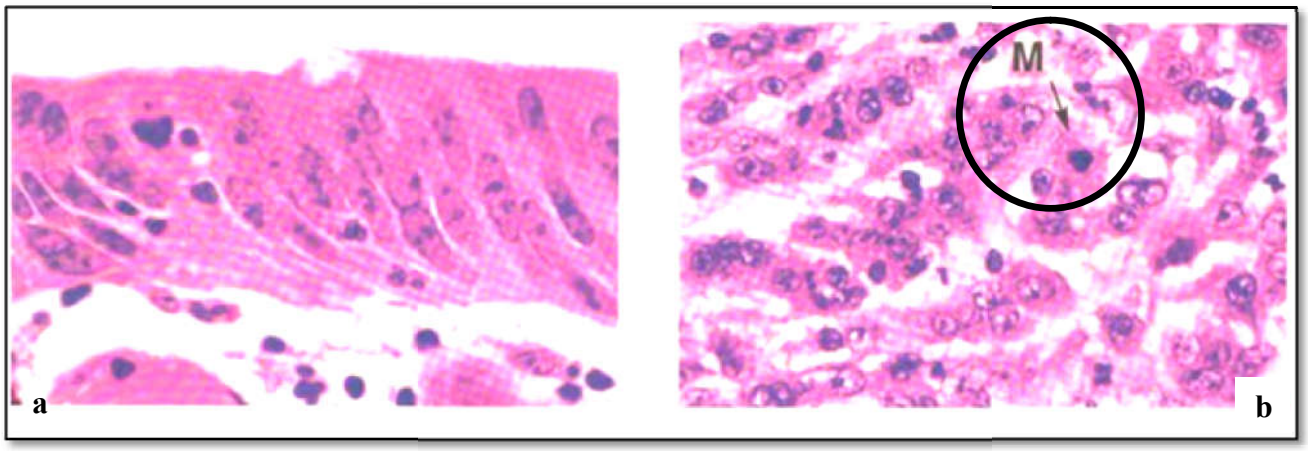

Figure 9 : Histophotographie représentant le degré de différenciation tumorale du côlon colorée à l'hématoxyline-éosine x 100, **E** : cellule épithéliale, **Mu** : mucus, **M** : mitose **(*Wheater et al*., 2015)**.

a- Histophotographie d'une tumeur bien différencié,

b- Histophotographie d'une tumeur peu différencié

II.4.5 Classification des carcinomes colorectaux

La Classification de Dukes a été proposée par Dukes C, en 1940. Cette classification tient compte de deux dispositifs histopathologiques: profondeur de pénétration dans la paroi et la présence ou l'absence de métastase ganglionnaire ou viscérale.

Tableau III : Classification de ***Dukes***.

Stade A	Atteinte de la muqueuse ou de la sous-muqueuse ou de la musculeuse. Sans atteinte de la sous-séreuse
Stade B	Atteinte transpariétale au-delà de la séreuse
Stade C	Envahissement ganglionnaire

La classification TNM, (tumors, nodes, metastasis), constitue actuellement la référence pour l'évaluation du pronostic qui est directement lié au stade anatomo-clinique de la tumeur.

La classification anatomopathologique pTNM est précise et conduit à des regroupements en stades pronostiques. Elle sépare l'envahissement tumoral à travers la paroi (T1 à T4), et l'envahissement ganglionnaire (N1, N2), et les métastases (M) **(Tableau IV) (*Rougier*, 2004).**

Tableau IV : Classification TNM (**UICC, AJCC 2010. 7ème édition**).

T- Tumeur primitive	
TX	Tumeur primitive non évaluable
T0	Pas de signe de tumeur primitive
T1 T1a T2a	Tumeur envahissant la muqueuse ou la sous muqueuse taille < 1 cm taille de 1-2cm
T2	Tumeur envahissant la musculeuse ou taille > 2 cm
T3	Tumeur envahissant la sous séreuse/graisse péricolique/périrectale
T4	Tumeur envahissant directement d'autres organes/structures et /ou perforant le péritoine viscéral
N- Ganglions lymphatiques régionaux	
NX Ganglions lymphatiques régionaux non évaluables	
N0 Pas de métastases ganglionnaires lymphatiques régionales	
N1 Métastases ganglionnaires lymphatiques régionales	
M- Métastases à distance	
MX Métastases à distance non évaluables	
M0 Pas de métastases à distance	
M1 Métastases à distance	
Stades de la maladie	
Stade IIA T1a N0 M0	
Stade IB T1b N0 M0	
Stade IIB T3 N0 M0	
Stade IIIA T4 N0 M0	
Stade IIIB Tout T N1 M0	
Stade IV Tout T Tout N M1	

II.4.6. Lésions précancéreuses

Les adénomes sont des lésions néoplasiques qui peuvent évoluer vers un carcinome. Ils peuvent être classés selon deux critères : l'histologie et le degré de dysplasie **(*Neuville*, 2010)**.

Les polypes du tube digestif et plus particulièrement du côlon représentent un ensemble d'entité diverses. Le terme polype a une signification macroscopique. Il correspond à une excroissance tissulaire faisant protrubérance dans la lumière intestinale.

Il faut donc lui adjoindre un terme histologique pour déterminer la nature du polype : épithélial et non épithélial.

Les Polypes épithéliaux sont classiquement divisés en polypes adénomateux et non adénomateux. Le plus fréquent des polypes non adénomateux est le polype hyperplasique : prolifération épithéliale bénigne de petite taille (moins de 1cm), il siège le plus souvent au niveau du côlon sigmoïde et du rectum.

Les glandes sont allongées, bordées de cellules mucipares et non mucipars, avec une architecture dentelée dans la moitié supérieure des glandes. Certains polypes hyperplasiques sont de plus grande taille (plus de 1cm) siégeant au niveau du côlon droit **(*Neuville*, 2010)**.

Le polype juvénile siège principalement au niveau du rectum, chez le sujet jeune. Ce polype hamartomateux est constitué de glandes tortueuses ou revêtement hyperplasique associées à un chorion inflammatoire. Le plus souvent sporadique il n'a alors pas de potentiel de transformation cancéreuse.

Le polype juénile-like caractérise le syndrome de Cronkhite Canada. Ce polype hamartomateux de type juvénile siège au niveau colique, intestin grêle et gastrique sans potentiel de dégénérescence maligne et sans prédisposition familiale.

Le polype Peutz-Jeghers se trouve au niveau gastro-intestinale, il est sessile ou pédiculé, il a une architecture caractéristique en arbre, avec un revêtement mucipare de type hyperplasique et un chorion parfois occupé par des fibres musculaires lisses perpendiculaires à la lumière intestinale. Le revêtement est parfois mixte hyperplasique et adénomateux avec un risque de transformation cancéreuse.

Rapport-Gratuit.com

Le polype hamartomateux du syndrome de Cowden est constitué de glandes désorganisées au sein d'un chorion fibreux parfois parcouru de fibres musculaires lisses **(*Neuville*, 2010)**.

Les adénomes coliques sont des proliférations intra-épithéliales de cellules néoplasiques, ce qui signifie que tout adénome comporte de la dysplasie. La taille d'un adénome varie d'un millimètre à plusieurs centimètres.

Ces adénomes se présentent dans plus de 90% des cas sous forme de polypes **(*Park*, *Kim et al*, 2008)**.

On parle de polype pédiculé lorsque la base d'implantation du polype est inférieure à celle du polype et de polype sessile lorsque la taille de la base d'implantation est supérieure à celle du polype. Lorsqu'ils ne sont pas polypeux, on parle d'adénomes plans **(Figure 10) (*Neuville*, 2010)**.

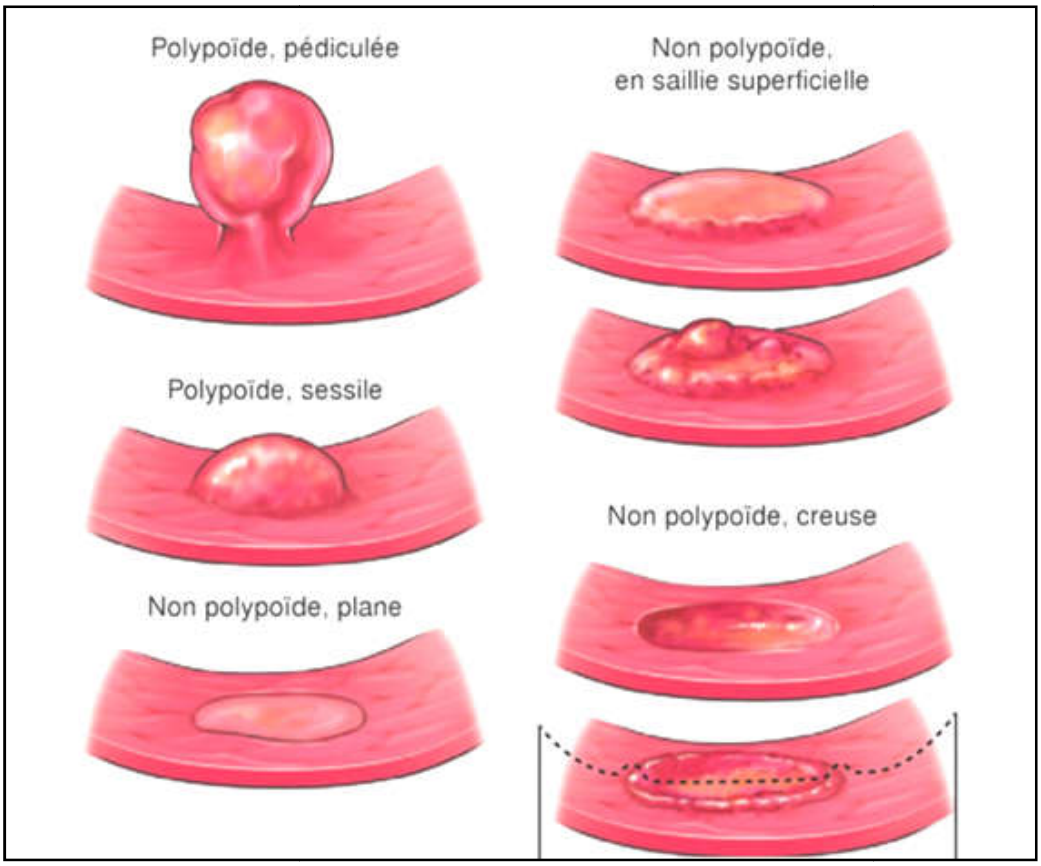

Figure 10: Anatomie des différents polypes coliques **(*Suissa*, 2011)**.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

Le polype adénomateux est une lésion à risque de cancer colorectal, Sur le plan histologique on distingue les architectures tubuleuses (75%), villeuses (20%) et tubulovilleuses (5%) **(*Suissa*, 2011)**.

A ces trois aspects classiques d'adénomes, s'ajoute un quatrième type histolgique : l'adénome festonné. Décrit en 1990 par Longacre et Fenoglio **(*Longacre et Fenoglio-Preiser*, 1990)** ce type d'adénome n'a vraiment été reconnu qu'à partir du XXIe siècle **(*Sawyer*, *Cerar et al.*, 2002)** Cette entité, découverte, est caractérisée par des voies de carcinogenèse différentes et comprend trois sous type histologiques : le polype hyperplasique, l'adénome festonné sessile et l'adénome festonné traditionnel. Ces trois lésions ont en commun l'architecture festonnée du revêtement des glandes mais diffère par les contours des glandes et par leur revêtement plus ou moins adénomateux et prolifératif.

II.4.6.1 Polypose Adénomateuse familiale (PAF)

Le faible risque des adénomes tubuleux est illustré par la polypose adénomateuse familiale. Dans cette pathologie des centaines voire des milliers de polypes adénomateux se développent sur la muqueuse colique. De la puberté à l'âge adulte, les polypes croissent avec un risque élevé de cancer à environ 35ans **(*Suissa*, 2011)**.

II.4.6.2 Cancer colique hériditraire non polypoïde (HNPCC)

Egalement appelé syndrome de Lynch, cette maladie rare dans sa forme autosomique dominante est responsable de cancers colorectaux à des âges précoces **(*Vilgrain*, 2010)**, ce syndrome est lié à la présence d'une mutation sur un seul exemplaire des deux gènes d'une même paire de chromosomes. La personne prédisposée à ce syndrome hérite d'un gène muté de l'un de ses deux parents (= allèle muté inactif) et d'un gène normal de l'autre parent (= allèle sauvage fonctionnel) : le sujet est dit hétérozygote. La mutation étant portée par un chromosome non sexuel, elle est donc indépendante du sexe.

Le syndrome HNPCC se transmet donc sur un mode autosomique dominant. La mutation est également qualifiée de constitutionnelle car elle est présente dans toutes les cellules de l'individu, y compris les cellules reproductrices, ce qui explique que cette mutation puisse être transmise à la descendance **(*Braems*, 2012)**.

II.4.7. Marqueurs tumoraux

II.4.7.1. L'Antigène Carcino-Embryonnaire (ACE)

L'ACE est un marqueur tumoral de référence dans le cancer du côlon. Il a été décrit pour la première fois par Gold et Freedman en 1965, comme un antigène présent au pôle apical des cellules épithéliales de certaines parties du tractus digestif (langue, œsophage distal, estomac, intestin grêle, côlon et rectum). Si dans un premier temps il a été considéré comme un antigène oncofœtal, uniquement exprimé au cours de la vie fœtale puis réexprimé au cours de certains cancers. On sait maintenant que ce n'est pas totalement le cas **(*Durand* et *Beaudeux*, 2011).**

L'ACE est une glycoprotéine d'une moléculaire d'environ 200 kDa, d'une demi-vie de 3 à 11 jours et plusieurs molécules ont depuis été apparentées à l'ACE. 29 gènes et pseudo-gènes, principalement localisées sur le chromosome 19 en q 13,2, ont été identifiés par analogie de structure et classés en 3 sous-groupe, Cette famille est rattachée à la superfamille des immunoglobulines dont certaines, notamment le sous-groupe de l'ACE, sont des glycoprotéines de surface ancrées à la membrane.

L'ACE est un marqueur fortement exprimé dans de nombreux adénocarcinomes, principalement colorectaux, mammaires et pulmonaires mais également dans d'autres localisations : digestives (pancréas, estomac, foie), gynécologique (ovaires) et thyroïde entre autres.

Les dosages d'ACE sont classiquement réalisés sur sérum, par une technique de type immunométrique automatisée chez l'adulte, la concentration normale est <5µg/L **(*Durand* et *Beaudeux*, 2011).**

L'ACE est en moyenne plus élevé chez l'homme, chez les personnes âgées et chez le fumeur (BERNARDEAU-MOZER.M, 2013). Des variations physiologiques sont observées entre les individus et peuvent résulter de l'influence du sexe, de l'âge ou des conditions environnementales (tabagisme). La grossesse entraîne également une augmentation des concentrations d'ACE. Les différents facteurs influençant les taux d'ACE. Ils doivent bien évidemment être pris en compte pour l'interprétation des résultats des dosages d'ACE en pratique clinique **(*Desbene*, 2013)**.

Diverses pathologies bénignes peuvent entraîner une augmentation des taux d'ACE, mais les concentrations observées dépassent rarement 30 µg/L. Ainsi, les taux d'ACE sont modérément élevés chez 20 à 50% des patients présentant des affections bénignes de l'intestin, du pancréas, du foie et du poumon **(Tableau V)**.

Tableau V : Pathologies bénignes potentiellement à l'origine d'une augmentation des taux d'ACE **(*Desbene*, 2013)**.

Pathologies respiratoires	Infections pulmonaires Emphysème Pleurésie Tabagisme
Pathologies digestives	Pancréatites Tumeurs bénignes du côlon (polypes bénins : 20 %) Colite ulcéreuse Maladie de Crohn
Pathologies hépatiques	Hépatites aiguës et chroniques Cirrhose du foie Éthylisme chronique
Autres pathologies	Lésions inflammatoires aiguës, chroniques Insuffisance rénale Endométrioses

Doser l'ACE lors du bilan initial à un intérêt si le résultat peut conduire à réévaluer le stade de la maladie et/ou à modifier l'attitude thérapeutique. Si une valeur négative ne permet pas d'exclure l'existence de métastases, également une concentration en ACE située dans le domaine de référence n'exclue également pas la présence d'une affection maligne, et une valeur élevée en l'absence d'anomalies à l'échographie hépatique et à la radiographie pulmonaire incite à effectuer des examens complémentaires **(*Desbene*, 2013)**.

II.4.7.2. L'antigène carbohydrate 19-9 (CA19-9)

L'antigène carbohydrate 19-9 (CA 19-9) est un marqueur utilisé par certaines équipes dans le cancer colorectal, en association avec l'antigène carcinoembryonnaire. L'intérêt porté au CA 19-9 est justifié par sa nature biochimique différente de celle de l'ACE, ce qui en fait un marqueur potentiellement complémentaire.

L'antigène carbohydrate CA 19-9 est défini par sa reconnaissance par l'anticorps monoclonal 1 116 NS 19.9 obtenu à partir de cellules d'une lignée d'adénocarcinome colique humain.

Le CA 19-9 est un antigène polysaccharidique présent sur des mucines de haut poids moléculaire (200 à 800kDa), l'épitope répétitif reconnu par l'anticorps étant un dérivé sialylé d'un pentasaccharide de structure proche à celle du groupe sanguin Lewis A **(*Bellet*, 1997)**.

Le CA 19-9 est codé par les gènes MUC 1 et MUC 7. Parmi ses fonctions cellulaires, il est un ligand pour la molécule endothéliale d'adhésion leucocytaire (ELAM-1, E-sélectine molécule présente sur les cellules endothéliales activées par les cytokines). Le CA 19-9 permet également l'adhésion des cellules malignes à l'endothélium vasculaire et la dissémination hématogène des cancers exprimant cet antigène. Il a été montré une corrélation entre l'intensité de son expression en immunohistochimie et la gravité du pronostic des cancers colorectaux **(*Eche*, 2001)**.

Il existe de nombreuses trousses faisant appel à des techniques radio-immunométrique. Le dosage du CA19-9 est difficile et la variabilité des résultats obtenus par différentes trousses a été évaluée autour de 25%. Ceci est dû, en grande partie, à des variations de l'accessibilité des épitopes aux anticorps monoclonaux utilisés pour les dosages (spécificité, effets des matrices, formes moléculaires reconnues à des degrés variables, etc.). Dans une population normale, 95% des individus ont une concentration de CA 19-9 déterminée par méthode immunométrique automatisée qui est inférieure à 37U/ml (unités arbitraires).Cette valeur se considère comme une limite supérieure de la normale **(*Gaillard*, 2001)**.

Les maladies bénignes pulmonaires et digestives (mucoviscidose, lithiase biliaire, pancréatite aiguë et chronique, cirrhoses) peuvent augmenter le CA 19-9 mais avec des concentrations sériques rarement supérieures à trois fois la normale sauf en cas d'ictère où elles peuvent atteindre plusieurs centaines d'U/ml.

Plus que l'ictère, ce sont plutôt les situations d'infection biliaire qui sont habituellement responsables des augmentations importantes, mais cette nuance est rarement rapportée dans les travaux publiés.

D'autres maladies bénignes peuvent être responsables d'une élévation isolée et modérée du CA 19-9: l'hémochromatose, et le diabète décompensé. Les polypes rectaux et les maladies inflammatoires de l'intestin augmentent exceptionnellement le CA 19-9 **(*Gauchez*, 2005)**.

En cancérologie, on peut retrouver une augmentation du CA 19.9 dans les adénocarcinomes. C'est le marqueur privilégié des cancers digestifs : cancers du pancréas avec une sensibilité de 70 à 90% et des voies biliaires en l'absence de cholestase ou d'angiocholite. Il est utilisé dans le cancer de l'estomac avec une sensibilité de 30 à 60%.

Au cours des cancers colorectaux, gastrique et hépatique, le fréquence de positivité est plus faible qu'au cours des cancers pancréatiques et la fréquence de positivité augmente avec le stade de l'évolution et la présence de métastases.

En dehors des cancers digestifs, le CA 19.9 est rarement augmenté à des concentrations supérieures à 3 fois la normale, à l'exception des tumeurs mucineuses de l'ovaire et des adénocarcinomes du poumon **(*Gauchez*, 2005)**.

Le CA 19-9 est un marqueur potentiellement utile dans les cancers colorectaux. néanmoins, sa sensibilité est inférieure à celle de l'ACE aux différents stades de la maladie. En pratique, il peut avoir un intérêt chez les patients ayant un taux d'ACE normal ou peu élevé, en particulier dans le suivi d'une chimiothérapie palliative.

Le CA19-9 pourrait être un marqueur d'efficacité des traitements antitumoraux. Son utilisation doit être réservée aux tumeurs sans cible radiologiquement mesurable **(*Phelip*, 2013)**.

*

II.4.7.3. Cytokératines (CK)

Les cytokératines sont les principaux filaments intermédiaires du cytosquelette des tissus épithéliaux normaux et des tumeurs (d'une largeur d'environ 10 nm) **(*Tamura* 2007; *Yeh*, 2006 ; *Kodera*, 2005)**. Ce sont des marqueurs protéiques structuraux spécifiques des cellules épithéliales et des études récentes indiquent leur implication dans la progression du cancer **(*Makino*, 2009)**.

Les profils d'expression des cytokératines permettent de déterminer l'origine d'une tumeur maligne **(*Lugli*, 2008)**. Plusieurs isoformes existent et sont distribué différemment selon l'origine tissulaire.

Les cytokératines peuvent être classées en deux groupes : les cytokératines de type I, qui sont acides, et les cytokératines de type II, qui sont basiques ou neutres et plus longues que celles de type I.

Généralement, les cytokératines s'assemblent en fonction de leur type et on trouve des couples type I - type II, par exemple, le couple K5/K14 dans la couche basale de l'épiderme **(*Peters*, 1995)**.

Le type de cytokératine présent dépend du tissu d'origine et du stade de différenciation. Dans les cellules épithéliales coliques normales, les cytokératines sont exprimées dans la partie médiane et supérieure de la crypte et ne sont pas exprimées dans les compartiments prolifératifs de la partie inférieure de la crypte **(*Jasik*, 2012)**.

L'expression des cytokératines est habituellement conservée dans les cellules néoplasiques, l'utilisation des anticorps spécifiques est importante pour déterminer l'origine des cancers métastatiques grâce à des techniques immunohistochimiques. La cytokératine constitue un marqueur histochimique de la différenciation des cellules épithéliales. Le profil d'expression des divers types de cytokératine (CK) de tumeurs de différentes localisations peuvent être essentiels pour déterminer l'origine d'une tumeur maligne **(*Lugli*, 2008)**.

Tout dimère de cytokératine est constitué d'une cytokératine acide (type I) allant de CK9 à CK20 et d'une cytokératine neutre ou basique (type II) allant de CK1 à CK8. Leur poids moléculaire diffère de 8 kDa. Exemples de paires: CK(1)-CK (10), CK (3)-CK (12), ect.

La formation des filaments intermédiaires de cytokératine est la même que celle expliquée ci-dessus pour les filaments intermédiaires en général. Les segments répétitifs sont constitués par 7 acides aminés dont le premier et quatrième sont hydrophobes, le cinquième et le septième sont hydrophiles.

Ces 7 acides aminés correspondent à deux tours d'hélice a. Une hélice alpha résulte de la succession d'angles <p de -57° et d'angles 1IJ de -47°. Cette hélice est droitière.

L'hélice alpha s'élève de 0,15 nm par résidu et de 0,54nm à chaque tour. Elle compte 3,6 résidus par tour. Elle est stabilisée dans sa forme hélicoïdale par des ponts hydrogènes établis entre l'hydrogène d'un groupement aminé -NH et l'oxygène d'un groupement carboxylique -C=O situé quatre résidus plus loin.

De ce fait les premiers et quatrièmes acides aminés se disposent suivant une génératrice susceptible d'interagir avec d'autres génératrices polypeptidiques afin de former des structures superhélicoïdales très résistantes **(*Peters*, 1995)**.

La cytokératine 7 (CK7) est une protéine des filaments intermédiaires de 54kDa, elle se retrouve dans de nombreux épithéliums canalaires et glandulaires, notamment dans le poumon, le sein, les ovaires et l'endomètre.

La cytokératine 20 (CK20) est le principal élément des filaments intermédiaires d'une taille moyenne de 46kDa, c'est la cytokératine la moins acide connue.

Elle est exprimée presque exclusivement au niveau gastro-intestinal et elle est largement utilisée comme marqueur immunohistochimique pour les diagnostics de routine **(Tableau VI)**.

Plusieurs études ont rapporté que l'antigène CK20 et l'antigène carcino-embryonnaire (ACE) sont des gènes cibles fiables pour la détection de cellules disséminées du cancer colorectal **(*Wang JY* 2006 ; *XU* 2006; *Chen* CC 2006; *Shen* C 2008)**.

Cependant, CK20 n'est pas considérée comme un marqueur pour la classification des tumeurs car certaines études ont rapporté que le gène CK20 a une faible sensibilité et spécificité **(*Gradilone*, 2003)**. Récemment, les profils combinés d'expression de CK7 et CK20 ont été largement étudiés dans les différents carcinomes primaires et métastatiques.

Il a également été montré que CK8, CK18 et CK19 sont exprimés dans certains cancers gastro-intestinaux **(*Lee*, 2003)**.

Tableau VI : Variation de l'expression des cytokératines 7 et 20 dans divers cancers **(*Tubiana-Hulin et al.*, 2008)**.

Cytokératine7(CK7)	**Cytokératine 20 (CK20)**	
	CK20+	CK20-
CK7+	Tumeurs urothéliales Carcinome ovarien mucineux adénocarcinome pancréatique Cholangiocarcinome	Adénocarcinome pulmonaire Carcinome mammaire Carcinome thyroïdien Carcinome de l'endomètre Carcinome du col utérin Carcinome des glandes salivaires Carcinome pancréatique
CK7-	Carcinome colorectal Tumeur de Merkel	Hépatocarcinome Carcinome rénal Carcinome prostatique Carcinome épidermoïde Carcinome à petites cellules

II.4.8. Cancérogenèse colorectale

Les cellules de la muqueuse digestive, et en particulier les cellules de la muqueuse colorectale, ont un taux de prolifération élevé aboutissant au renouvellement de l'épithélium en 3 à 6 jours.

Rapport-Gratuit.com

Plusieurs milliards de cellules sont ainsi renouvelées, ce qui représente autant de divisions cellulaires, de réplication de l'ADN, et donc d'erreurs de réplications réparées, ou non, par des systèmes multiples (plus de 10 systèmes de « réparation de l'ADN ») en général très efficaces.

Ces anomalies de réplication sont en général sans conséquences. Cependant, lorsqu'elles touchent des gènes importants dans le contrôle du fonctionnement cellulaire, elles peuvent être le point de départ d'un processus de carcinogenèse.

La carcinogenèse colorectale résulte de l'acquisition par les cellules de l'épithélium colorectal d'anomalies génétiques aboutissant à une dérégulation de la prolifération et de la mobilité des cellules. Ces anomalies génétiques sont acquises de façon progressive, ce qui a permis de définir des séquences d'apparition de mutations.

De façon très schématique, il existe deux modes majeurs de carcinogenèse colorectale, l'instabilité de l'ADN, qui correspond à une séquence de mutations. La mutation initiale de cette voie de carcinogénèse porte sur le gène APC (chromosome 5). Ce gène est un régulateur négatif de prolifération cellulaire par l'une des voies les plus classiques et les mieux étudiées du contrôle de la prolifération, la voie Wnt (ou Wingless). Les mutations spontanées de ce gène sont relativement fréquentes. La mutation inactive le gène APC, ce qui conduit à une situation de prolifération cellulaire, au développement d'un adénome (lésion précancéreuse clonale à capacité de prolifération augmentée) **(Figure 11)**.

L'accumulation progressive de mutations génétiques sur cette lésion clonale en expansion régulière par hyperprolifération aboutit de façon peu fréquente au développement d'un cancer colorectal **(*Fearon* et *Vogelstein*, 1990)**.

On estime que 75 adénomes sur 1 000 aboutissent au développement d'un cancer. La séquence classique d'apparition des mutations est un modèle classique de carcinogenèse appelée « séquence de Vogelstein ».

L'instabilité des microsatellites, l'anomalie responsable, initiatrice de cette carcinogenèse est le blocage d'un gène de réparation des mésappariements, le gène hMLH1. Le blocage survient du fait du vieillissement cellulaire, par méthylation du promoteur de ce gène.

Cette inactivation d'un gène important pour le contrôle de l'intégrité de l'ADN favorise ensuite l'apparition de mutations au sein de séquences codantes de gènes contrôlant diverses fonctions cellulaires, comme la prolifération (gène TGF-βRII). De mutation en mutation apparaît une cellule cancéreuse autonome **(Figure 11) (*Fearon* et *Vogelstein*, 1990)**.

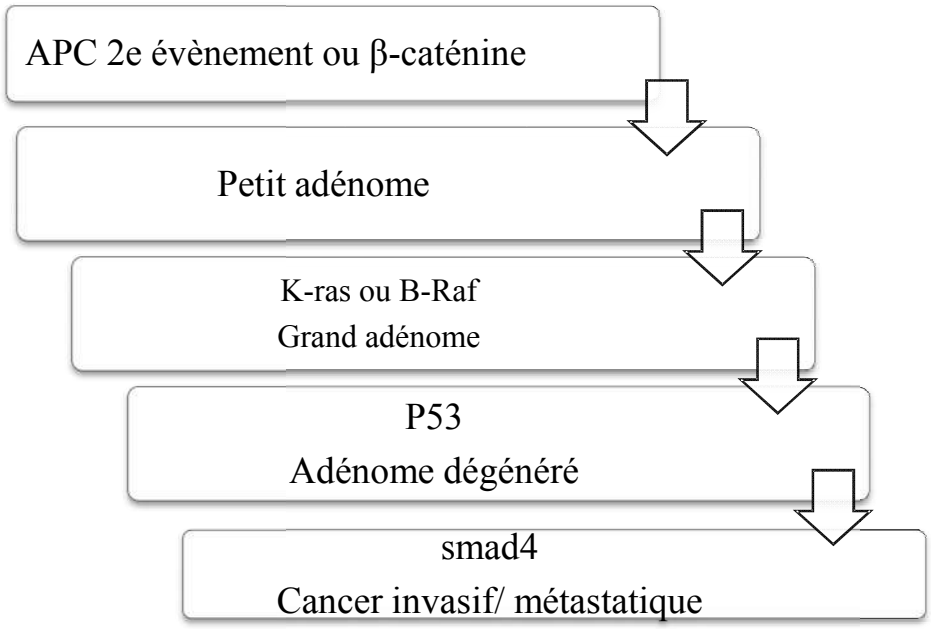

Figure 11 : Carcinogenèse colorectale par instabilité de l'ADN (séquence de Vogelstein) **(*Fearon* et *Vogelstein*, 1990)**.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

II.4.8.1. Les Proto-oncogènes

Ce sont des gènes codant pour des protéines participant à la régulation de la prolifération cellulaire. Une fois mutés par gain de fonction, ils entraînent une prolifération exagérée et incontrôlée des cellules. La mutation d'un seul des deux allèles du gène est suffisante pour activer un oncogène.

Les mutations somatiques sur ces gènes codant certains partenaires des voies de signalisation sont fréquentes, surtout pour le gène codant la sous-unité catalytique de la PI3K (phosphatidyl-inositol 3 kinase) (muté dans 32 % des cas) et les gènes codant la protéine BRAF et la protéine KRAS, mutés respectivement dans 15 et 40 % des CCR. Les mutations du gène *KRAS* ont été fortement associées avec la résistance au traitement par l'anticorps monoclonal anti-EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor). De plus, *BRAF*, membre de la famille de gènes *RAF* (*BRAF*, *ARAF1*, *RAF1*), code pour une sérine-thréonine kinase activée en aval de la protéine KRAS **(*Leroy*, 2014)**.

II.4.8.2. L'oncogène Raf

Les trois isoformes décrites de Raf : A-raf, B-raf et C-Raf partagent une similarité de séquence significative et montrent la même capacité à faciliter l'activation oncogénique par Ras de la cascade Mek et Erk.

B-raf est pourtant la seule des trois isoformes à présenter des mutations dans différents cancers. Dans la grande majorité des cas, il s'agit d'une substitution V600E augmentant l'activité kinase de la protéine **(*Emma*, 2011)**. Cette mutation est retrouvée dans environ 10 % des CCR sporadiques. De plus, le fait que les mutations RAS et Braf sont exclusives, contribue à penser qu'elles partagent un rôle équivalent dans la tumorigenèse **(*Rajagopalan*, 2002)**.

La mutation B-Raf est fréquemment associée aux CCR MSI **(*Rajagopalan*, 2002)**. En effet, la mutation B-Raf est significativement associée avec l'hyperméthylation des ilots CpG, lui même associé aux CCR MSI sporadique **(*Weisenberger et al.*, 2006)**. La mise en évidence d'une mutation BRAF V600E avec perte d'expression de MLH1 est quasi-spécifique d'une origine sporadique et élimine donc un syndrome de Lynch.

La valeur pronostique de la mutation B-Raf V600E est bien établie notamment dans les formes métastatiques, elle confère à la tumeur un mauvais pronostic et ce quels que soient les traitements reçus **(*Li et al*., 2006)**.

II.4.8.3. Gène BRAF

Le gène BRAF situé sur le bras long du chromosome 7 en position 34 (7q34), fait partie de la famille des gènes RAF, qui codent des protéines sérine/thréonine kinases, activées par RAS **(Figure 12)**.

Le gène BRAF est composé de 18 exons, la mutation la plus commune est située sur l'exon 15 sur la position nucléotidique 1799. **(*Samowitz*, 2005)**.

Les mutations de BRAF sont présentes chez environ 7% des patients ayant un cancer, principalement dans les mélanomes (40à 50%) et dans les cancers de thyroïde (40%). Les cancers colorectaux sont, quand à eux, porteurs d'une mutation BRAF dans environ 5 à 10% des cas. Les données récentes montrent que les mutations de BRAF sont proportionnellement plus fréquentes chez les patients dont la tumeur est porteuse d'une instabilité microsatellitaires (MSI-High) (environ 35%), alors que les mutations de KRAS sont plus fréquentes (<95%) est la mutation V600E qui correspond à la substitution d'un acide aminé valine par l'acide glutamique en position 600. Les mutations de BRAF induisent une activation de la voie des MAPK **(*Leroy*, 2014)**.

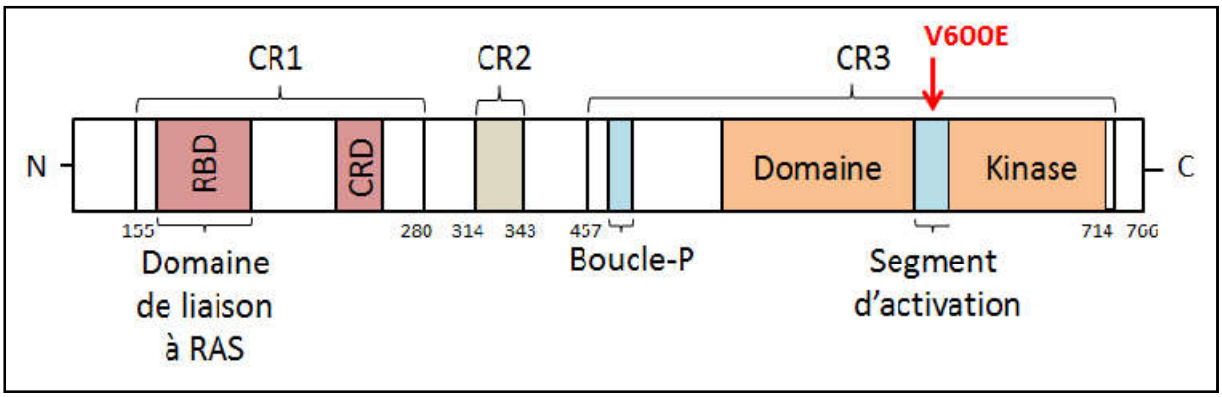

Figure 12: Représentation des 3 domaines structuraux de BRAF. La position de la mutation oncogène V600E est indiquée par une flèche rouge. CR : Région conservée, RBD : Domaine de liaison RAS, CRD : Cystein rich domain **(*Huang et al.*, 2013)**.

II.4.8.4. Inhibiteurs de BRAF

L'inhibiteur d'une proportion de patients atteints d'un cancer colorectal porteur d'une mutation BRAF a fait porter un intérêt sur les médicaments susceptibles de cibler BRAF.

Un inhibiteur sélectif de la mutation V600E (PLX4032 ou vémurafénib), qui a montré son efficacité dans les mélanomes métastatiques, a été testé chez des patients porteurs de la mutation BRAF V600E. Les résultats de phase II ont été décevants. L'une des hypothèses qui pourraient expliquer cette résistance serait la présence d'un rétrocontrôle activateur de l'EGFR lorsque la protéine BRAF mutée est inhibée dans les cellules tumorales colorectales. L'association d'un inhibiteur d'EGFR et d'un inhibiteur de BRAF pourrait être une voie prometteuse.

Des données in vitro ont révélé que les tumeurs ayant une mutation de PIK3CA ou une perte de PTEN ont une sensibilité aux inhibiteurs de BRAF de façon comparable aux lignées de mélanome. Par ailleurs, l'association d'un inhibiteur de PI3K/AKT et d'un inhibiteur de BRAF aurait action synergique sur des lignées colorectales présentant la mutation V600E de BRAF. L'association d'un inhibiteur BRAF et d'un inhibiteur PI3K/AKT mérite, la encore d'être testée en situation clinique **(*Leroy*, 2014)**.

II.4.8.5. La voie Raf/MEK/ERK

La voie Raf/MEK/ERK est le relais intracellulaire des facteurs de croissance mitogènes de l'interaction des intégrines avec la matrice extracellulaire **(Figure 13)**. La liaison de l'un ou l'autre des membres de la famille des Ser/Thr Kinases Raf (A-Raf, B-Raf et Raf-1) à la protéine RAS libère le domaine catalytique de l'enzyme occupé par l'extrémité N-terminale et permet la phosphorylation de résidus Thr et Ser (Thr599 et Ser602 pour B-Raf) situés dans la boucle d'activation. Ces événements semblent suffisants pour activer B-raf. Des phosphorylations additionnelles, hors du domaine catalytique, sont nécessaires pour une activation maximale de A-Raf et Raf-1 **(*Viens*, 2011)**.

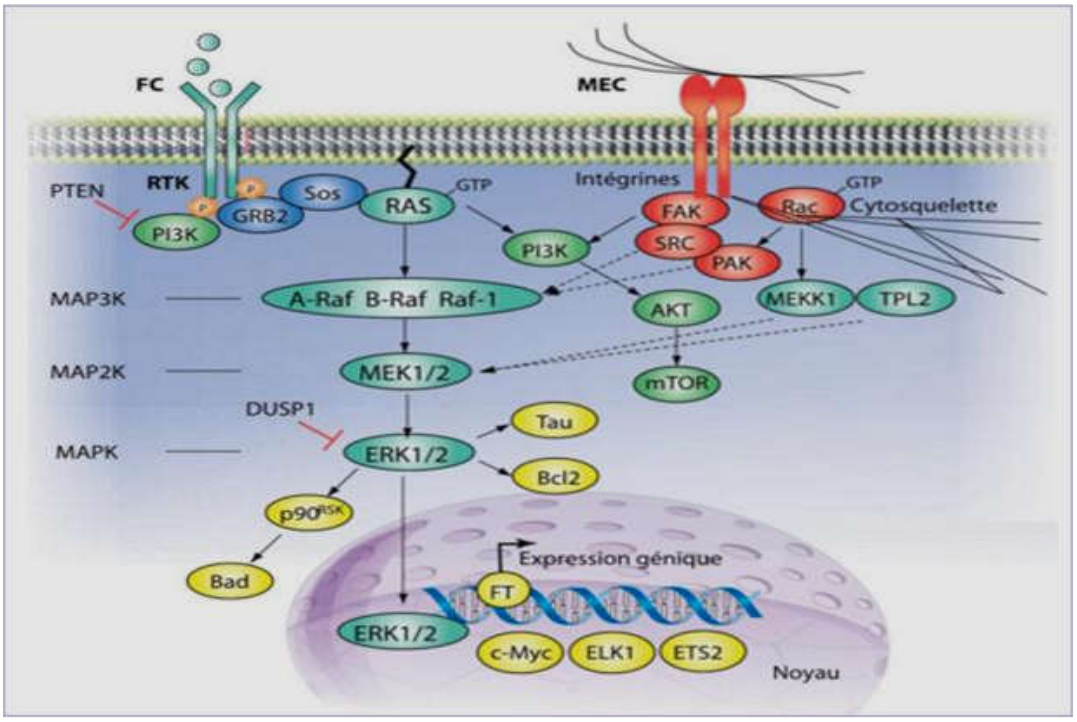

Figure 13: Activation de la voie MAP kinase Raf/MEK/ERK **(*Viens*, 2011)**.

II.4.8.6. Rôle de la voie Raf/MEK/ERK dans l'oncogenèse

La voie ERK est altérée dans 30% des cancers humains. Les lésions majeures se situent dans les premières étapes de cette transmission du signal : surexpression et/ou mutations activatrices des récepteurs à activité tyrosine kinase de facteurs de croissance et mutations activatrices des gènes RAS et BRAF.

Les mutations B-Raf surviennent dans environ 8% des cancers mais sont observées dans près de 70% des mélanomes, 45% des cancers papillaires de la thyroïde, 35% des tumeurs ovariennes de bas grade et 12% des cancers colorectaux. 90% des mutations B-Raf consistent en une transversion T1799A sur l'exon 15 de BRAF qui se traduit par une substitution Val600Glu(V600E) dans la boucle activatrice de l'enzyme conduisant à son activation constitutive **(Figure 13) (*Viens*, 2011)**.

III- MATERIEL ET METHODES

III.1. Objectifs du travail

Le cancer colorectal survient avec un maximum de fréquence au cours de la dernière décennie, il a fait l'objet de nombreuses recherches pour trouver des tests essentiellement moléculaire qui ont changé les méthodes de dépistage, de diagnostic précoce, ainsi que sa prise en charge particulièrement par l'évaluation de nouvelles thérapies ciblées.

Dans ce contexte, nous avons voulu dans ce travail analyser 164 cas de cancer colorectaux, dont l'objectif principal est de décrire quelques caractéristiques biopathologique et moléculaire des cancers colorectaux dans une population de l'ouest Algérien durant 3 ans (2013-2016).

Les Objectifs secondaires de notre étude sont :

- Effectuer une étude rétrospective descriptive durant une période entre janvier 2013 et février 2016 afin d'estimer le taux des cancers colorectaux dans l'ouest Algérien.
- Evaluer le taux de deux marqueurs biologiques (ACE, CA19-9) après et avant chimiothérapie pour évaluer l'efficacité de ces facteurs dans le pronostic.
- Réaliser une étude sur l'expression des marqueurs tissulaires cytokératines 7 et 20 pour distingues les différents carcinomes colorectaux et leur origine primitive.
- Réaliser une analyse moléculaire de la mutation V600E du gène BRAF, l'étude de cette altération génétique a un intérêt pronostic dans les cancers colorectaux, et thérapeutique car il est possible d'utiliser des traitements ciblés sur cette altération génétique.

III.2. Etude rétrospective

III.2.1 Population étudiée

La première partie de notre travail a porté sur une étude rétrospective portant sur 164 patients porteurs de cancer colorectal tous stades et tous âges, hospitalisés au sein du service d'oncologie médicale CHU d'Oran.

La compilation des données sur dossiers nous a permis d'établir les critères d'inclusion et d'exclusion :

- **Critère d'inclusion :** Tous les cancers colorectaux qui y ont été diagnostiqués durant les trois ans d'étude ont été inclus.
- **Critère d'exclusion :** Sont exclus de cette étude, les dossiers des patients qui ont refusés de participer à l'étude.

Rapport-Gratuit.com

Toutes les tumeurs malignes colorectales, dont le diagnostic ne s'est pas fondé sur une preuve histologique et les patients qui présentent un cancer du canal anal.

Après obtention du consentement éclairé **(Annexe 1)**, nous avons effectué le recueil des données à partir des fiches de renseignements cliniques.

III.3. Etude histopathologique et immunohistochimique

III.3.1. Etude histopathologique

La deuxième partie de notre étude concerne l'analyse histologique et immunohistochimique, l'étude a porté sur 40 patients atteints d'adénocarcinomes colorectaux. Les blocs histologiques ont été fournis par des laboratoires d'Anatomie et Cytologie Pathologiques privés des docteurs: D^{r} BOUROUIS M et D^{r} KORSO A. Les données concernant les patients sont résumées dans le **tableau VII**.

Tableau VII : Les données clinique et pathologique exploitées chez les patients étudiés.

Age	L'âge estimé en année
Organe côlon ou rectum	Localisation exacte
Type histologique	Degrés de différenciation
Classification	TNM, Dukes
Localisations secondaires	Siège de la métastase

Le fixateur le plus utilisé en microscopie optique (MO) est le formaldéhyde à 10%, La fixation par le liquide de Bouin est à proscrire car elle ne permet pas d'effectuer des études d'analyse moléculaire sur I'ADN tissulaire.

Le prélèvement parvient au laboratoire, il est enregistré et reçoit un numéro d'identification unique. Celui-ci est retranscrit sur les blocs et les lames, qui sont examinées au microscope après le traitement technique du prélèvement.

Chaque prélèvement est accompagné d'une fiche de renseignements remplie par le médecin prescripteur qui mentionne.

1. L'identité du patient : nom, prénom(s), date de naissance, sexe ;

2. le siège, la date (jour et heure) et la nature du prélèvement (biopsie ou exérèse) ;

3. les circonstances cliniques et para cliniques qui ont motivé le prélèvement et éventuellement les hypothèses diagnostiques ;

4. l'aspect macroscopique ou endoscopique des lésions (un compte-rendu opératoire peut être utilement joint), éventuellement l'aspect d'imagerie.

5. les antécédents pathologiques du patient, en particulier, dans la mesure du possible, les antécédents d'examens anatomopathologiques effectués dans un autre laboratoire et la nature des traitements éventuellement administrés au malade.

Les prélèvements fixés sont déposés dans des cassettes en plastique, directement s'il s'agit de biopsies ou, s'il s'agit de pièces opératoires, après l'étape d'examen macroscopique au cours de laquelle sont prélevés des fragments de petite taille (en moyenne 2 x 0,3 cm).

Puis les tissus contenus dans les cassettes sont déshydratés par passage dans des alcools d'ordre croissant puis l'alcool est éliminé par des solvants (xylène), puis la paraffine liquide à 56 °C imprègne les tissus qui sont refroidis. **(Tableau VIII)**.

L'étape finale de l'inclusion est manuelle et consiste à réorienter convenablement le fragment tissulaire dans le sens de la coupe dans un moule de paraffine. Après confection des coupes de 4 µm d'épaisseur à l'aide d'un microtome, les coupes histologiques sont montées sur des lames.

Après dissolution de la paraffine, puis réhydratation, le tissu est coloré. La coloration usuelle la plus utilisée est la coloration Hématoxyline éosine safran HES. Elle renseigne sur la répartition, l'architecture et la structure des cellules.

La coloration hématoxyline éosine a été réalisée au niveau du laboratoire de Biologie du Développement et de la différenciation **(Tableau IX)**. L'éosine teinte en rose non seulement les cytoplasmes mais aussi le collagène en rose pâle et les fibres élastique en rouge vif. Le milieu de montage (Eukitt) est déposé sur la préparation et recouvert d'une lamelle de verre. Elle est alors prête à être analysée au microscope.

L'observation des coupes colorées est effectuée à l'aide d'un microscope optique. Cet appareil permet d'obtenir une image agrandie (20 à 100 fois) par une combinaison optique de la coupe éclairée par une lumière qui la traverse.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

Tableau *VIII* : Protocole d'inclusion des prélèvements colorectaux.

	Solutions	**Durée**
Déshydratation	Acétone 1	30 minutes
	Acétone 2	30 minutes
	Acétone 3	30 minutes
	Acétone 4	30 minutes
Eclaircissement	Toluène	1 heure
	Toluène	1 heure
Paraffinage	Paraffine à 56°C	2 heures
	Paraffine à 56°C	2 heures
Inclusion proprement dite dans les moules métalliques		

Tableau I*X* : Protocole de coloration hématoxyline-éosine.

	Réactifs	**Durée**
Déparaffinage et réhydratation	Toluène 1	5 minutes
	Toluène 2	5 minutes
	Ethanol 100°	2 minutes
	Ethanol 95°	2 minutes
	Ethanol 70°	2 minutes
	Eau courante	5 minutes
Coloration hématoxyline-éosine	Hématoxyline	2 minutes
	Eau courante	5 minutes
	Eosine alcoolique 1%	10 secondes
Déshydratation	Ethanol 70°	2 minutes
	Ethanol 95°	2 minutes
	Ethanol 100°	2 minutes
	Toluène 1	5 minutes
	Toluène 1	5 minutes
Monter la préparation avec Eukitt (Liquide de Montage).		

Tableau *X* : Protocole de coloration Trichrome à froid.

NB : Les étapes de déparaffinage et réhydratation sont mentionnées dans le **tableau IX**.

	Réactifs	Durée
Coloration	Hémalun	10 minutes
	Eau courante	5 minutes
	Ethanol-HCL	2 minutes
	Eau courante	20 minutes
	Phloxine	1 minute
	Eau acétifiée 1 à 1%	1 minute
	Eau acétifiée 2	1 minute
	Eau acétifiée 3	1 minute
	Acide phosphotungstique	1 minute 5 minutes
	Eau courante	30 secondes
	Vert lumière	1 minute
	Eau acétifiée 4	1 minute
	Eau acétifiée 5	1 minute
	Eau acétifiée 6	1 minute
Déshydratation	Isopropanol 1	2 minutes
	Isopropanol 2	2 minutes
	Isopropanol 3	2 minutes
	Toluène 3	5 minutes
	Toluène 4	5 minutes
	Toluène 5	5 minutes
Monter la préparation avec Eukitt (Liquide de Montage).		

III.3.2. Etude immunohistochimique cytokératines 7/20

L'immunohistochimie est une technique largement utilisée pour le diagnostic et/ou le suivi de cancer par détection de cellules anormales telles que celles trouvées dans les tumeurs cancéreuses.

III.3.2.1 Principe de l'immunomarquage

Le but de l'immunohistochimie est de mettre en évidence certaines protéines cellulaires, qu'elles soient cytoplasmiques, membranaires ou nucléaires, spécifiques pour un type ou une fonction cellulaire, à l'aide d'une réaction antigène – anticorps, le complexe formé étant rendu visible, donc localisable, par un marqueur coloré. Le réactif principal est un anticorps spécifiquement dirigé contre ce motif.

Après la lecture des coupes histologiques colorées à l'hématoxyline-éosine, on a recherché, l'expression des marqueurs épithéliaux cytokératines 7/20 afin de connaître l'origine des cancers colorectaux métastatiques.

La méthode que nous utilisons dans le Laboratoire de Biologie du Développement et de la Différenciation pour les anticorps monoclonaux est la technique d'immunomarquage indirect, elle consiste en l'utilisation d'un **anticorps secondaire** réagissant avec l'anticorps primaire et/ou le démasquage de sites antigéniques grâce à une digestion par une enzyme protéolytique et/ou le chauffage des lames au four à micro-ondes.

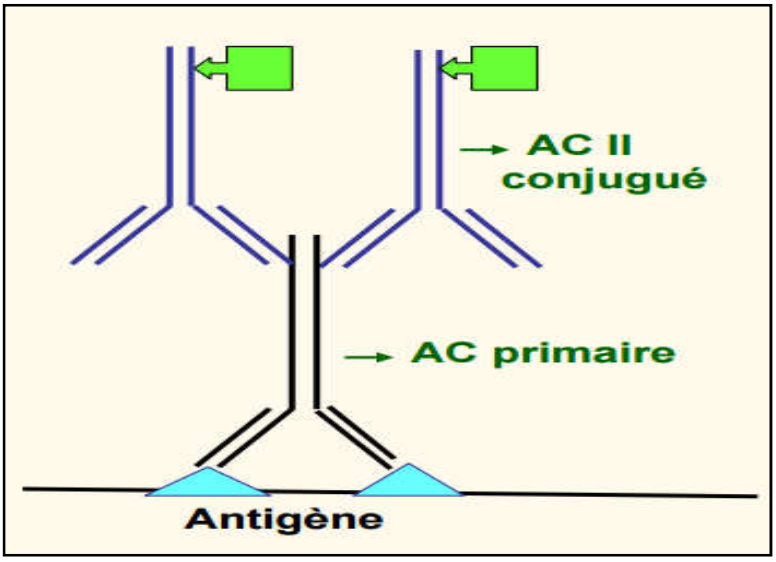

Figure 14 : Méthode d'immunomarquage indirect (AUDOUIN, 2009).

III.3.2.2 Etapes de la technique

Les anticorps sont utilisés pour le marquage des coupes de tissus inclus en paraffine et fixés au formol. L'épaisseur des coupes d'échantillons de tissu est d'environ 4 µm, il est recommandé d'utiliser des lames « Superfrost Ultra Plus Microscope Slides » pour étaler les coupes, nous utilisons ce lames pour les critères suivants :

- Sont spécialement traitées pour des coupes de tissus d'épaisseur de coupes de 2 à 5 µm
- Chargées positivement, l'attraction électrostatique lie les coupes de tissu enrobé dans de la paraffine.
- Bords rodés à 90°, extrémités dépolies et colorées pour l'identification
- Pour une forte attraction électrostatique des sections de tissus à la lame empêche toute perte pendant la coloration.

1- Déparaffinage et réhydratation

Préalablement, il faut déparaffiner les coupes et les réhydrater.

- Déparaffiner les coupes avec deux bains successifs de xylène, 5 minutes chacun ;
- Réhydrater avec plusieurs bains d'alcool (éthanol) de concentration décroissante (100%, 95% et 80%), 3 minutes pour chaque bain
- Rincer les coupes à l'eau distillée.

2- Démasquage par la chaleur

La restauration antigénique au moyen de procédure chimique et thermique permet de gommer les imperfections de certains fixateurs et d'annuler les effets d'une éventuelle suffixation.

Elle est rendue possible grâce à deux phénomènes qui agissent en synergie, la dénaturation par la chaleur (effet calorique) et la dénaturation chimique (acide ou base), pour cela :

- Immerger les coupes dans du tampon citrate à pH 6 dans un four micro-onde (Whirlpool Vip 20) à 100°c (750 W) pendant 10 minutes (plus la température du prétraitement est importante la durée de celui-ci est courte).
- Laisser refroidir les coupes pendant 20 minutes à température ambiante ;
- Rincer les lames au PBS tween 20 (tampon phosphate à pH 7,4), 2 fois 2 minutes.

- Pour bloquer l'activité de la peroxydase endogène il est nécessaire de mettre les préparations dans l' H2O2 10 volumes pendant 10 minutes.

3- Immunomarquage

Nous avons utilisé deux anticorps monoclonaux de souris (ck20 clone : Ks 20.8 et ck7 clone : OV-TL 12/30, Dako) prêts à l'emploi fourni sous forme liquide dans un tampon contenant une protéine stabilisante et 0,015 mol/L d'azide de sodium.

- Incuber les préparations avec l'anticorps primaire (Ck7 ou Ck 20) pendant 1 heure à température ambiante ou 24heures à 4°C.
- Rincer les préparations au PBS tween 20 (2x 2 minutes).
- Incuber les préparations dans l'anticorps secondaire pendant 15 min à température ambiante.
- Rincer les préparations au PBS tween 20 (2x 2 minutes).
- Pour la révélation nous avons utilisé un kit (Immpact DAB peroxidase substrate, cat.No.SK-4105, Vector), pendant 5 min. Il faut préalablement préparer cette solution comme suit :
- Rincer les coupes au PBS tween 20 (2x 2 minutes) **.**

Ajouter 30 µl du chromogène DAB à 1 ml de diluant DAB et bien vortexer ce mélange avant l'utilisation.

4- Contre-coloration et montage

Une contre coloration rend possible le repérage topographique du marquage des antigènes recherchés, pour cela :

- Immerger les coupes dans une solution aqueuse d'hématoxyline de Mayer.
- Rincer à l'eau courante.
- protéger par une lamelle de verre collée (faramount aqueous mounting medium, Ref : s3025, Dako). Les coupes sont prêtes à l'observation au microscope optique.

5- Contrôle de l'immunoréaction :

Chaque technique réalisée nécessite la présence d'un témoin positif assurant l'exactitude de la réaction. De ce fait, le control positif de la réaction obtenu à l'aide d'AC anti-CK7 est représenté par une coupe tissulaire issue d'une patiente atteinte d'un cancer mammaire, d'AC anti-CK20 quant à lui est représenté par une coupe tissulaire issue d'un patient atteint d'adénocarcinome du côlon.

6- Evaluation de l'immunomarquage

L'immunomarquage par cytokératine a été évalué et scoré:

- score 0: absence de marquage au niveau de toutes les cellules ou positivité dans moins de 10% de l'ensemble de la prolifération.
- score1+: marquage cytoplasmique faible dans moins de 10% des cellules.
- score 2+: marquage cytoplasmique modérée dans plus de 10% des cellules.
-score 3+: marquage membranaire fort dans plus de 10% des cellules.

III.4. Etude de la mutation V600E du gène BRAF

La recherche de mutation BRAF est réalisée sur des coupes tissulaires **FFPE**: l'ADN génomique tumoral a été extrait avec le coffret QIAamp DNA FFPE tissue (Qiagen).

III.4.1. Extraction d'ADN

Pour l'étude moléculaire nous avons sélectionnés 30 cas atteints de cancer colorectal métastatique.

A partir de 30 copeaux de 10µm d'épaisseur prélevés au microtome sur les blocs de tissu fixés au formol et inclus en paraffine (FFPE), l'ADN tumoral a été extrait à l'aide du kit QIAamp DNA FFPE (Qiagen®). Le dosage et la qualité de l'ADN extrait ont été vérifiés sur Qubit2.0.

Les carottes de tissus sont soumis à un traitement xylène, qui dissout la paraffine du tissu, puis réhydratée en utilisant une série de lavages éthanol.

1- Déparaffinage des échantillons :

Les blocs FFPE ont été coupés en 10 sections avec 10 µm d'épaisseur par microtome et recueillies dans 1,5 mL. L'échantillon ainsi mis en tube doit subir des étapes de déparaffinage détaillées comme suit :

1. Ajouter 300 µl de xylène, puis agiter doucement à température ambiante (15 à 25°C) durant 5min ;

2. Centrifuger à une vitesse allant de 13000 à 16000G afin d'obtenir un culot au fond du micro-tube ;

3. Jeter doucement le surnageant ;

4. Répéter les étapes de 1-3 durant deux cycles successifs ;

5. Ajouter 300 µl d'éthanol (96 à100%), puis remuer le mélange à température ambiante (15 à 25°C) durant 5min ;

6. Centrifuger à une vitesse allant de 13000 à 16000G dans le but d'obtenir un culot au fond du micro-tube ;

7. Jeter doucement le surnageant ;

8. Répéter les étapes de 5-7.

- **Remarques préliminaires importantes**

Les tampons ATL et AL* peuvent former des précipités au cours de leur conservation.

Si nécessaire, dissoudre les précipités en incubant le tampon à 55°C.

Les tampons AW1 et AW2 sont fournis sous forme concentrée. Avant la première utilisation, ajouter le volume approprié d'éthanol (96 à 100%), comme indiqué sur le flacon.

2- Etapes de la digestion enzymatique

1. ajouter 180 µl de tampon ATL aux échantillons déparaffinés placé dans un tube de 1,5 ml.

Protéines et des enzymes nuisibles tels que les nucléases sont ensuite digérées par la protéinase K.

2. Ajouter 20 µl de Protéinase K, mélanger en vortexant et incuber à 55°C jusqu'à la lyse complète du tissu. Vortexer de temps à autre au cours de l'incubation pour homogénéiser l'échantillon ou le placer dans un bain-marie à agitation. La durée de la lyse est généralement complète après 1 à 3 h. Il est possible de la prolonger toute une nuit sans que la préparation en soit affectée.

3. Vortexer 15 sec. Ajouter 200 µl de tampon AL à l'échantillon, mélanger vigoureusement en vortexant et incuber 10 min à 70°C.

Il est essentiel de bien mélanger immédiatement l'échantillon et le tampon AL en vortexant ou pipetant afin d'obtenir une solution homogène. Un précipité blanc peut se former après addition du tampon AL. Il se dissout la plupart du temps pendant l'incubation à 70°C. Ce précipité n'affecte pas la procédure DNeasy.

3- Précipitation de l'ADN génomique

1. Ajouter 200 µl d'éthanol (96 à 100%) à l'échantillon et mélanger en vortexant.

Il est important de mélanger vigoureusement l'échantillon, le tampon AL et l'éthanol afin d'obtenir une solution homogène. Un précipité blanc peut se former après addition de l'éthanol. Il est essentiel de le déposer entièrement dans la colonne DNeasy.

2. Déposer le mélange de l'étape 4 dans la colonne DNeasy placée dans un tube collecteur de 2 ml (fourni). Centrifuger 1 min à ≥ 6000 x *g* (8000 rpm). Jeter l'effluent et le tube collecteur.

3. Placer la colonne DNeasy dans un nouveau tube collecteur de 2 ml (fourni), ajouter 500 µl de tampon AW1 et centrifuger 1 min à ≥ 6000 x *g* (8000 rpm). Jeter l'effluent et le tube collecteur.

4. Placer la colonne DNeasy dans un tube collecteur de 2 ml (fourni), ajouter 500 µl de tampon AW2 et centrifuger 3 min à vitesse maximale afin de sécher la membrane DNeasy. Jeter l'effluent et le tube collecteur.

Cette centrifugation permet d'éviter de contaminer l'éluat par des résidus d'éthanol. Jeter l'effluent et le tube collecteur. Après centrifugation, sortir avec précaution la colonne DNeasy du tube collecteur afin que la colonne ne touche pas l'effluent. Ceci permet d'éviter une contamination par de l'éthanol (en cas de contamination, vider le tube collecteur et le réutiliser pour centrifuger à nouveau la colonne DNeasy 1 min à vitesse maximale).

5. Placer la colonne DNeasy dans un tube propre de 1,5 ml ou de 2 ml (non fourni) et l'éluer en déposant 200 µl de tampon AE directement sur la membrane DNeasy.

Incuber 1 min à température ambiante et centrifuger 1 min à ≥ 6000 x *g* (8000 rpm).

NB : L'élution avec un volume de 100 µl (au lieu de 200 µl) augmente la concentration finale en ADN dans l'éluat, mais réduit également le rendement total (voir en figure 3 au DNeasy Tissue Kit Handbook).

6. Répéter l'élution comme décrit à l'étape 5.

Il est possible d'utiliser un nouveau tube pour la deuxième étape d'élution afin d'éviter une dilution du premier éluat. Comme alternative, afin de mélanger les deux éluats, réutiliser le tube de l'étape 8 pour la deuxième étape d'élution.

NB: Ne pas éluer avec plus de 200 µl par tube de 1,5 ml car la colonne DNeasy peut entrer en contact avec l'éluat.

III.4.2. Quantification des ADN extraits

Le Qubit® 2.0 est un appareil de mesure de concentrations qui utilise des molécules intercalantes fluorescentes ; celles-ci émettent un signal uniquement lorsqu'elles se lient à leur molécule cible d'ADN. Nous avons utilisé un kit de mesure pour ADN double brin (Quant-iT dsDNA HS Assay kit, mesure de 0,2 à 100 ng) **(Figure 15)**.

Rapport-Gratuit.com

Nous avons utilisé pour chaque cas 2µl d'ADN et compléter (qsp 200µl) avec une solution préparée avec 1µl de réactif fluorescent et 199 µl de tampon fourni. Après deux minutes d'incubation, le tube est placé dans la cavité de l'appareil et la mesure est instantanée.

NB : Il est important de bien préparer l'échantillon avant de procéder à une lecture. Pour obtenir des instructions sur la préparation des échantillons, consultez les instructions qui accompagnent l'essai utilisé.

Figure 15 : Description de l'appareil Qubit 2.0 (LBDD).

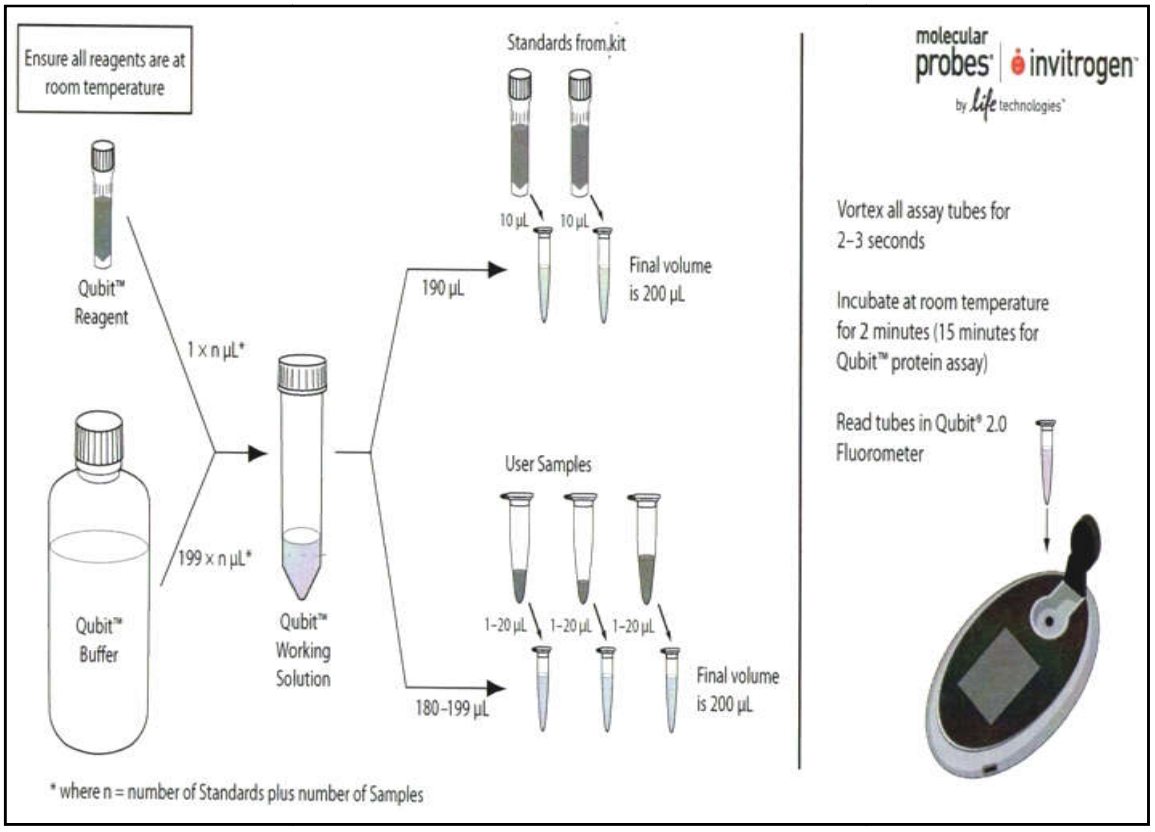

Figure 16 : Préparation des échantillons pour quantification d'ADN (life technologie)

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

- Mettre le kit à température ambiante (25°c)
- Mettre en place le nombre nécessaire de tubes de 0,5 ml pour les échantillons.
- Étiquetez les tubes.
- Préparer la solution de travail Qubit® en diluant le réactif Qubit® dsDNA HS 1: 200 dans le tampon Qubit® dsDNA HS. Utiliser un tube en plastique propre chaque fois que vous préparez la solution de travail Qubit®. Ne pas mélanger la solution de travail dans un récipient en verre **(Figure 16)**.
- NB : Le volume final dans chaque tube doit être de 200 µL. Chaque tube standard nécessite 190 µL de solution de travail Qubit® et chaque tube d'échantillon nécessite de 180 à 199 µL.
- Ajouter 190 µL de solution de travail Qubit® à chacun des tubes utilisés pour les étalons.
- Ajouter 10 µL de chaque étalon Qubit® au tube approprié, puis mélanger en vortex 2-3 secondes. Veillez à ne pas créer de bulles.
- Ajouter la solution de travail Qubit® à des tubes de dosage individuels de sorte que le volume final dans chaque tube après addition de l'échantillon soit de 200 µl.
- Ajouter chaque échantillon aux tubes d'essai contenant le volume correct de solution de travail Qubit®, puis mélanger en vortex 2-3 secondes. Le volume final dans chaque tube doit être de 200 µl.
- Laisser tous les tubes incuber à température ambiante pendant 2 minutes.

- Sur l'écran d'accueil du Qubit 2.0 Fluorometer, appuyez sur ADN, puis sélectionnez dsDNA.
- Insérez l'eppendorf contenant le standard n ° 1 dans le porte-tube, fermez le couvercle, puis appuyez sur lire le standard. Lorsque la lecture est terminée (~ 3 secondes), retirez le Standard # 1.
- Insérez l'eppendorf contenant le standard n ° 2 dans le porte-tube, fermez le couvercle, puis appuyez sur lire le standard. Lorsque la lecture est terminée, retirez le Standard 2. L'instrument affiche les résultats sur l'écran Lecture standard.
- Appuyez sur lecture des échantillons.
- Sur l'écran de l'appareil, sélectionnez le volume d'échantillon et les unités:
- Appuyez sur les boutons + ou - pour sélectionner le volume d'échantillon ajouté à l'essai tube (de 1 à 20 µl).

- Insérez un tube d'échantillon dans le porte tube, fermez le couvercle, puis appuyez sur le bouton de lecture (read). Lorsque la lecture est terminée (~ 3 secondes), retirez le tube d'échantillon.

III.4.3. Détection qualitative en PCR temps réel de la mutation *V600E*

III.4.3.1 Réactifs et appareil utilisés

Les réactions ont été réalisées en plaque de 96 puits dans un volume final de 20µl, incluant :

1- TaqMan Genotyping Master Mix (Cat #: 4374655) , Applied Biosystems , 400 reactions, 1X, 10 ml

2- Eau distillé pour PCR

3- TaqMan mutation detection Assays, 150µl (mutant allele and wild type allele assays) (Unlebled PCR primers, A TaqMan MGB probe, FAM dye-labeled, An MGB oligonucléotide blocker).

Pour l'allélo-typage compétitif de séquence spécifique nous utilisons dans le Laboratoire de Biologie du Développement et de la Différenciation le système PCR ABI 7500 en temps réel est un système totalement intégré pour la détection de PCR en temps réel. Le système comprend un cycleur thermique intégré, un laser pour induire la fluorescence, un détecteur DCC (dispositif à couplage de charge), un logiciel de détection de séquences en temps réel avec le système de données Apple **(Figure 17)**.

Tableau XI : Informations sur les essais TaqMan utilisés en théranostique.

Information sur le gène	Nom du mutant type assays	Nom du wild type assays	Mutation nucléotidique	Changement de l'acide aminé
Symbole du gène : BRAF	BRAF _476_mu	BRAF_ 476_wt	c.1799T >A	V600E

III.4.3.2 Préparation des échantillons et du mix

1- Pour chaque échantillon, calculer le nombre total de réactions nécessaires,

2- Calculer le volume total pour chaque mélange réactionnel :

Volume pour chaque échantillon × le nombre total d'échantillons + 10%

NB : Ajoutez 10% de volume supplémentaire pour compenser les erreurs de pipetage.

Le mixe de PCR est préparé dans un eppendorf de 2ml. La composition pour un échantillon est : 10 µl du TaqMan master mix ,1 µl TaqMan assays, 7 µl d'eau distillée (nuclease free water).

Le principe de la Cast-PCR est un allélo-typage compétitif de séquence spécifique (Competitive Allele-Specific TaqMan® PCR).

Chaque cycle de PCR suit les 3 étapes classiques : dénaturation des double-brin d'ADN, hybridation avec les amorces spécifiques TaqMan (à une température conseillée par le fabriquant en général 5°C en dessous de la Tm : « T° fusion ») puis élongation permise grâce à l'incorporation de dNTP fournis (température optimale d'activité pour la Taqpolymérase). La durée et température de chaque cycle sont ainsi enregistrées lors de l'étude.

III.4.3.3 Procédure de l'allélo-typage utilisant la technologie TaqMan .

1- D'après le protocole TaqMan (Applied Biosystems), 2 µl de chaque échantillon d'ADN (20ng/ µl) sont déposés dans une plaque à 96 puits qui va servir pour plusieurs PCR.

2- On distribue ensuite pour chaque échantillon d'ADN (2 µL) le mixe de PCR (18 µL) dans la plaque 96 puits à l'aide d'une micropipette.

3- Les plaques sont ensuite fermées par une feuille thermocollante avant d'être placées dans le thermocycleur.

4- Les sondes d'hydrolyse ou sondes Taqman TM sont des fragments oligonucléotidiques marqués par deux groupements fluorophores en ses extrémités 5' et 3'. L'extrémité 5' porte le fluorophore donneur qui est un dérivé de la fluorescéine (FAM). À l'extrémité 3', se trouve le fluorophore quencher qui est NFQ-MGB (non fluorescent quencher- Minor Groove Binder).

Remarque : Le TaqMan Genotyping Master Mix que nous utilisons contient le fluorophore de référence passif ROX, nous avons donc sélectionné ROX comme colorant de référence passif dans notre expérience.

5- Programme de PCR utilisé

- ✓ 95°C, 10 min
- ✓ 92°C, 15 sec
- ✓ 58°C, 1 min (5cycles)
- ✓ 92°C, 15 sec
- ✓ 60°C, 1 min (40 cycles) (Figure 18).

6- Lecture des résultats

À la fin de l'expérience, les valeurs ΔCt et Ct du gène muté sont déterminées par le logiciel d'analyse du système de PCR en temps réel, ABI prism 7500 (Applied Biosystem) (Figure17).

Figure 17 : *Photographie du thermocycleur ABI 7500 utilisé (LBDD).*

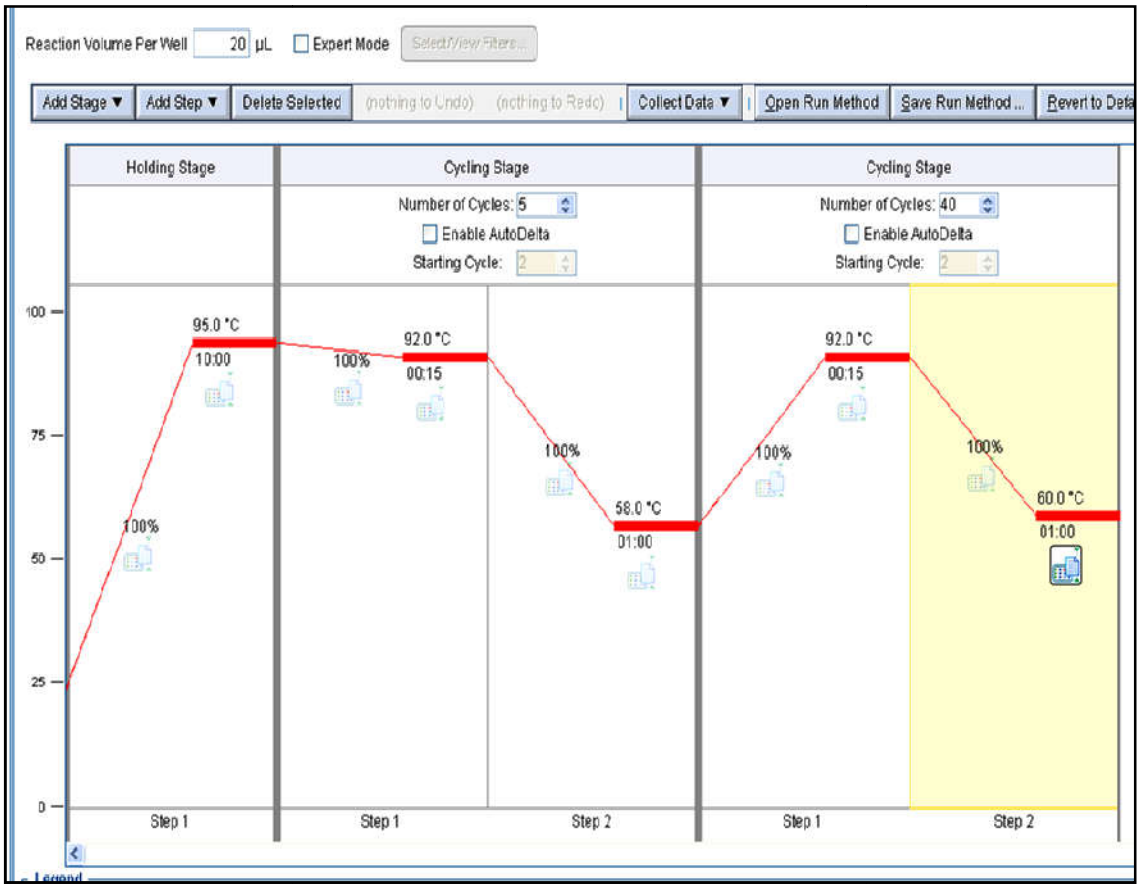

Figure 18 : PCR en temps réel**,** Détail des cycles d'amplification utilisé (LBDD).

IV- RESULTATS

IV. 1. Résultats de l'étude rétrospective

IV.1.1 Répartition du cancer colorectal selon les tranches d'âge chez les deux sexes

Notre travail consiste en premier lieu en une étude rétrospective chez de 164 patients, se répartissant en 97 hommes et 67 femmes, recrutés au niveau du service d'oncologie médicale d'Oran au cours de la période allant de janvier 2013 à février 2016.

La moyenne d'âge des patients atteints de cancer colorectal de 56,63± 2 **(Tableau XII)**. Avec une nette élévation de fréquence chez les sujets dont l'âge est compris entre 50 et 60 ans qui atteint les 52,67 %, et des âges extrêmes allant de 23 à 87 ans **(Figures : 19, 20)**.

Tableau XII : Répartition selon l'âge moyen et le sexe.

Sexe	Nombre	Pourcentage	Age moyen (ans) IC* à 95%
Hommes	97	59,15%	59,01±2,6
Femmes	67	40,85%	53,13±3,05
Global	164	100%	56,63±2

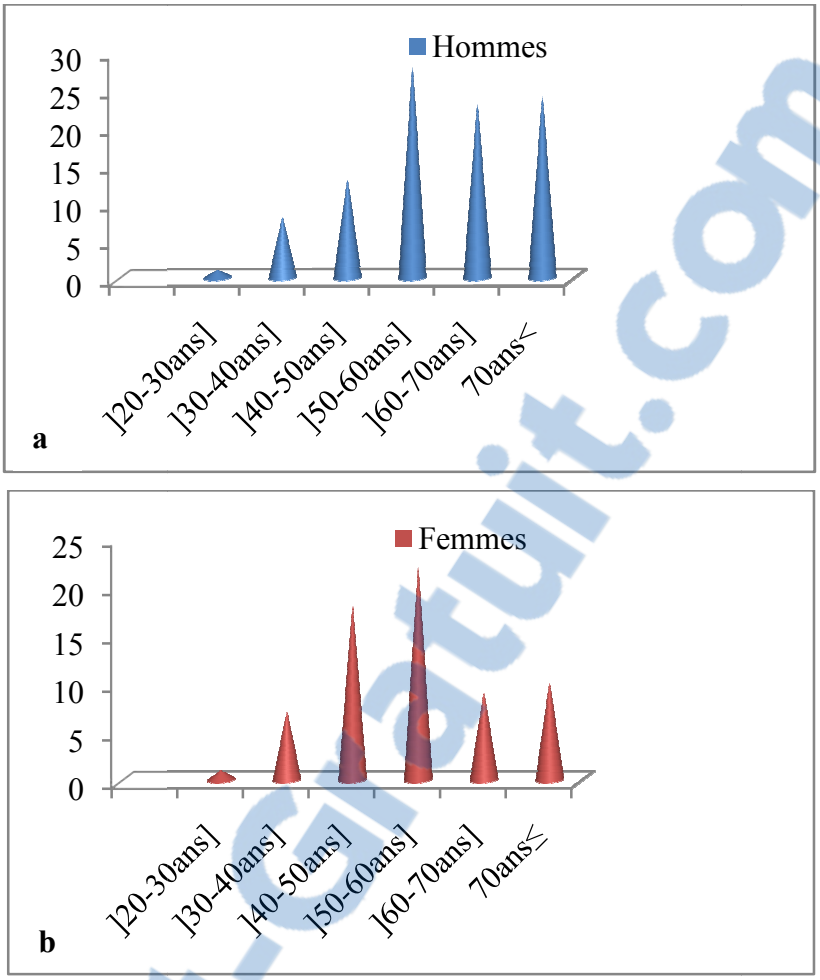

Figure 19 : Répartition du cancer colorectal selon les tranches d'âge

a- Chez les hommes**, b-** Chez les femmes

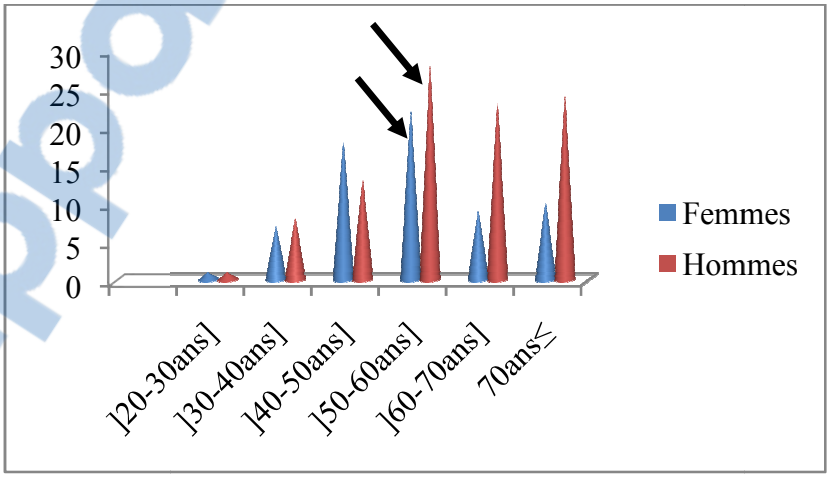

Figure 20 : Répartition du cancer colorectal selon les tranches d'âge chez les deux sexes.

Rapport-Gratuit.com

IV.1.2 Répartition du cancer colorectal en fonction du sexe

L'étude approfondie sur dossiers des patients, admis pour cancer colorectal au service d'oncologie médicale CHU d'Oran a montré une prédominance masculine. Sur 164 malades, nous dénombrons 97 hommes (59,15%) et 67 femmes (40,85%), soit un sex-ratio de 1,42 **(Figure 21)**.

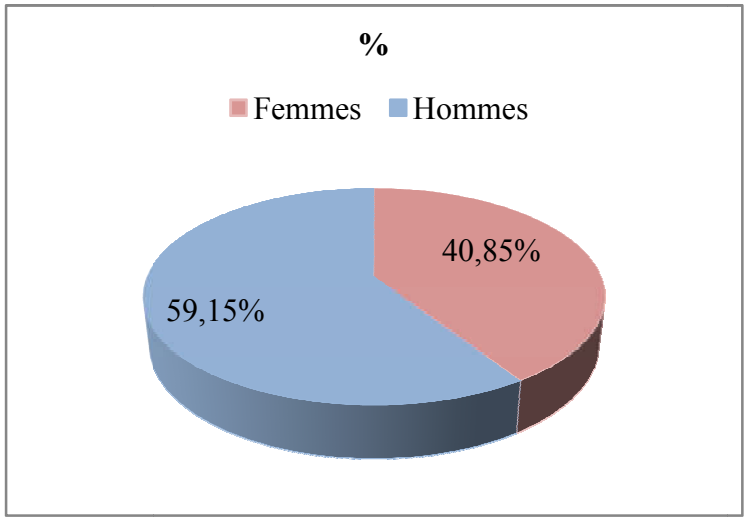

Figure 21 : Répartition du cancer colorectal dans la région de l'Ouest Algérien selon le sexe.

IV.1.3 Antécédents familiaux

Dans notre population d'étude, nous avons noté 36 cas (22%) d'antécédents familiaux de cancer, par contre 78% des patients représentent un cancer colorectal sporadique.

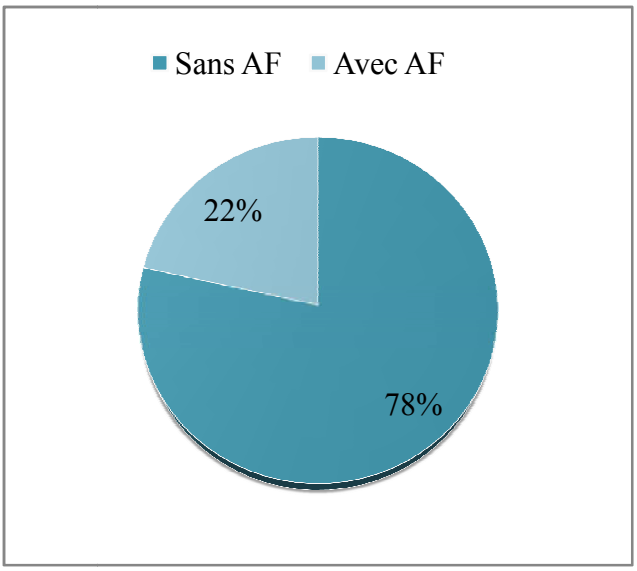

Figure 22: Antécédents familiaux chez les patients étudiés.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

IV.1.4 Répartition du cancer colorectal selon la zone géographique des patients

La répartition des patients inclus dans notre étude selon la région de provenance a montré que 52,28% sont des habitants d'Oran, suivi de : Tiaret (13, 87%), Relizane (12,40%), Mascara (7,30%), et 9, 48% pour les autres wilayas le détail de la répartition est regroupé dans le graphique ci-dessous.

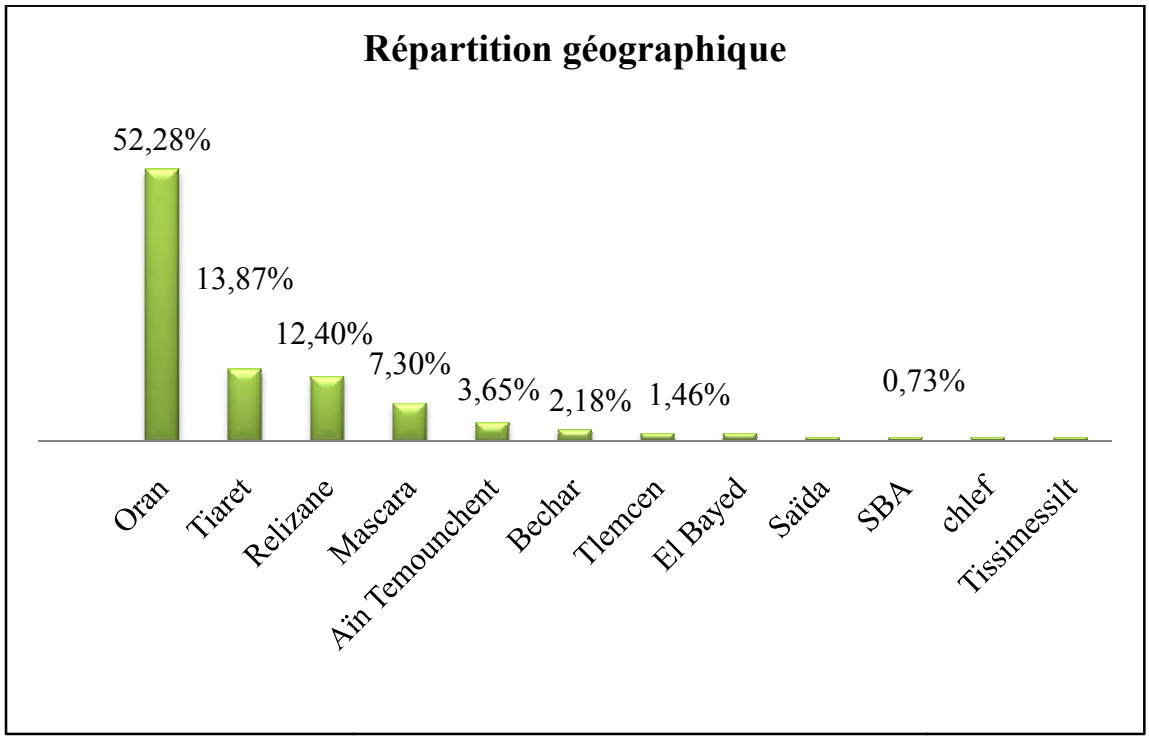

Figure 23: Répartition du cancer colorectal selon la région de provenance.

IV.1. 5 Répartition des cancers selon le siège de la tumeur

L'analyse des données a montré une prédominance des cancers de localisation colique, qui représentent 65% de l'ensemble des cancers colorectaux.

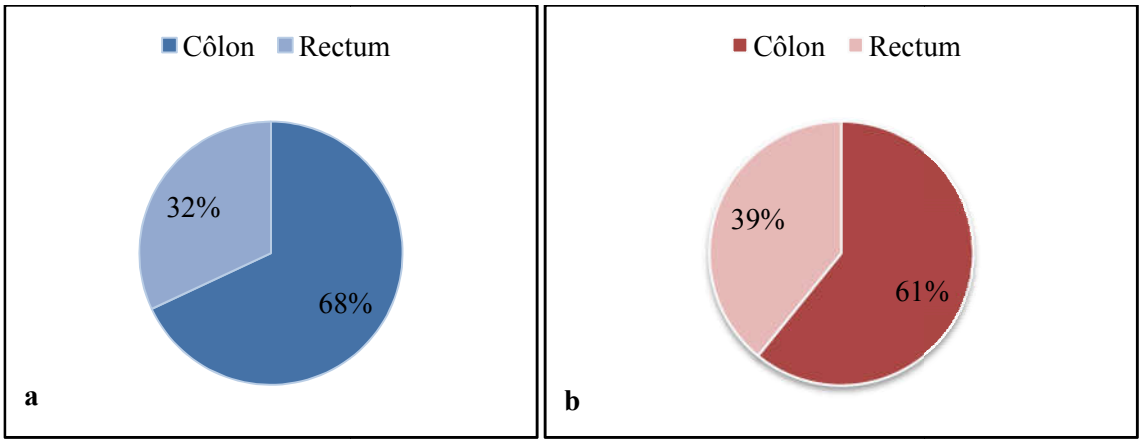

Figure 24: Répartition des cancers selon la localisation
a- chez les Hommes **b-** chez les Femmes.

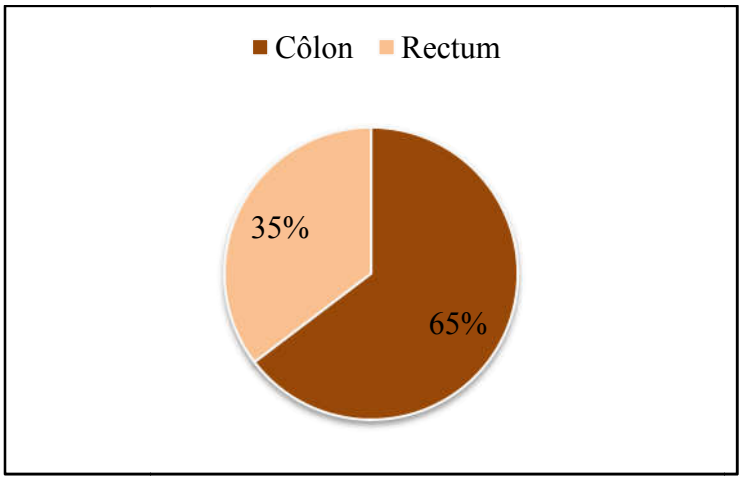

Figure 25: Répartition des cancers colorectaux selon la localisation chez les deux sexes.

IV.1.6 Répartition topographique des cancers colorectaux chez les deux sexes

Cette analyse a permis de constater chez les deux sexes que le côlon gauche et le sigmoïde sont les localisations les plus fréquentes avec respectivement 38 cas (23,17%) et 36 cas (21,95%) suivi du bas rectum 29 cas (17,68%) **(Tableau XIII)**.

Tableau XIII : Répartition topographique des cancers colorectaux.

Cancers	Hommes	Pourcentage (%)	Femmes	Pourcentage (%)
Côlon gauche	20	12,20	18	10,97
Sigmoïde	23	14,02	13	7,93
Côlon droit	20	12,19	5	3,05
Transverse	3	1,83	4	2,44
Bas rectum	16	9,75	13	7,93
Haut rectum	9	5,49	10	6,10
Moyen rectum	6	3,66	4	2,44

IV.1.7 Evaluation des marqueurs tumoraux ACE et CA19-9

Les dosages d'ACE sont classiquement réalisés sur sérum, par une technique de type immunométrique automatisée chez l'adulte, la concentration normale est <5µg/L.

Dans une population normale, 95% des individus ont une concentration de CA 19-9 inférieure à 37U/ml (unités arbitraires).

120 Patients inclus dans notre étude, ont eu au moment du diagnostic, un dosage sanguin de marqueurs tumoraux (ACE et CA19-9).

L'ACE était élevé chez 52 patients soit 43,33%, et le CA19-9 était élevé chez 44 patients soit 36,67% **(Tableau XIV)**.

Après chimiothérapie, les résultats constatés sont les suivants :

- 10 % des patients ont eu une normalisation d'ACE
- Environ 13 % des patients ont eu une normalisation CA19-9.

Tableau XIV: Dosage des marqueurs tumoraux.

Marqueurs sériques		**n**	**%**	**n**	**%**
ACE	élevés	52	43,33%	40	33,33%
	normaux	68	56,67%	80	66,67%
CA19-9	élevés	44	36,67%	28	23,33%
	normaux	76	63,33%	92	76,67%

Les marqueurs tumoraux (ACE et CA19.9), examens facultatifs dans le bilan d'extension ont été peu demandés dans notre série de cancer colorectal.

IV.2. Résultats de l'étude histologique et immunohistochimique

IV.2.1.a. Résultats de l'étude histologique

Parmi les cas enregistrés dans notre série, 100% sont des adénocarcinomes, dont 13,41% seulement sont de type colloïde. Les autres types histologiques sont beaucoup moins fréquents, l'adénocarcinome à cellules en bague à chaton ne représente que 0,61% des cas (**Tableau XV**).

Tableau XV: Répartition du cancer colorectal selon le type histologique.

Histologie	Nombre de patients	Pourcentage (%)
Adénocacinome bien différencié	98	59,76
Adénocacinome moyennement différencié	33	20,12
Adénocacinome peu différencié	10	6,1
Adénocacinome mucineux	22	13,41
Adénocacinome à cellules en bague à chaton	1	0,61
Total	164	100

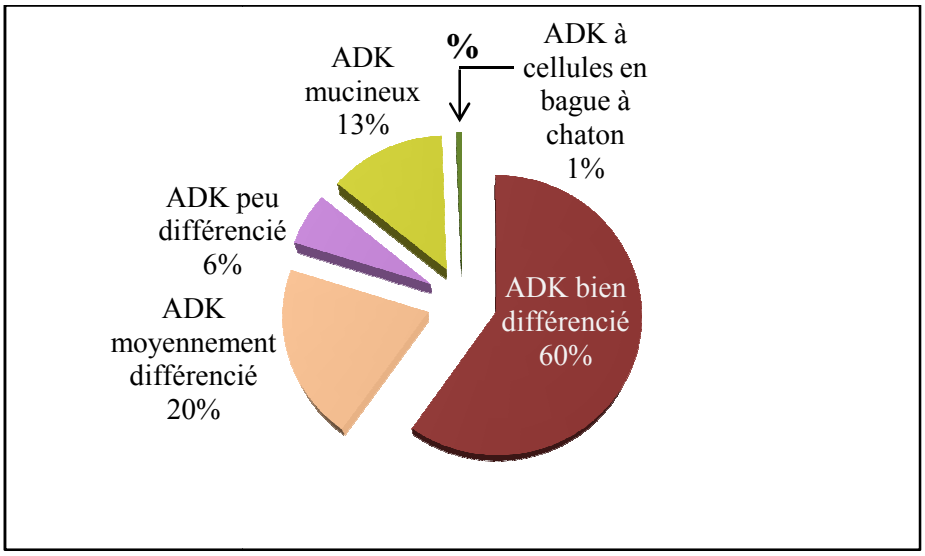

Figure 26 : Répartition du cancer colorectal selon le type histologique, (ADK : adénocarcinome).

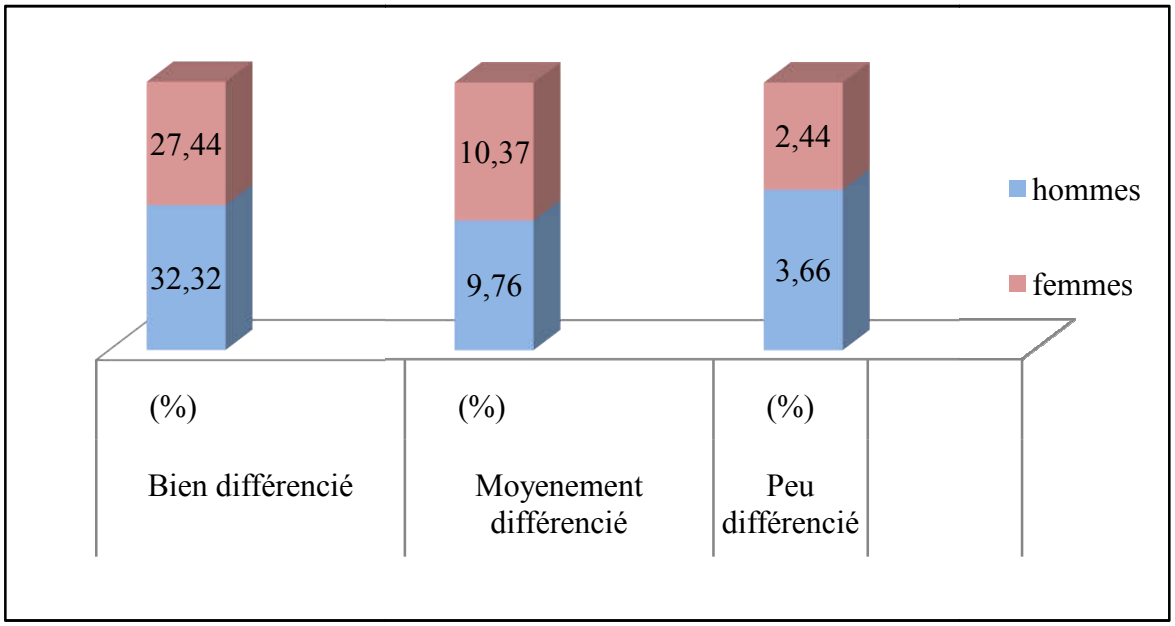

Figure 27 : Répartition selon le sous –type d'adénocarcinome Liberkühnien.

La classification histo-pronosctic TNM est étudiée chez tous les cas, sur 164 patients, 27,43% 30,49% et 23,78 % sont diagnostiqués à un stade avancé stade II, stade III et IV respectivement et 18,29% au stade I **(Figure 28)**.

Tableau XVI : Répartition du cancer colorectal selon le stade TNM et Dukes.

Stade TNM	Stade TNM	Nombre	%
I **Stade A de Dukes**	T2N0M0	30	18,29
II **Stade B de Dukes**	T3N0M0	45	27,43
	T4N0M0		
III **Stade C de Dukes**	T2N1/2M0	39	23,78
	T3N1/2M0		
	T4N1/2M0		
IV **Stade D de Dukes**	T2N1/2M1	50	30,49
	T3N1/2M1		
	T4N1/2M1		

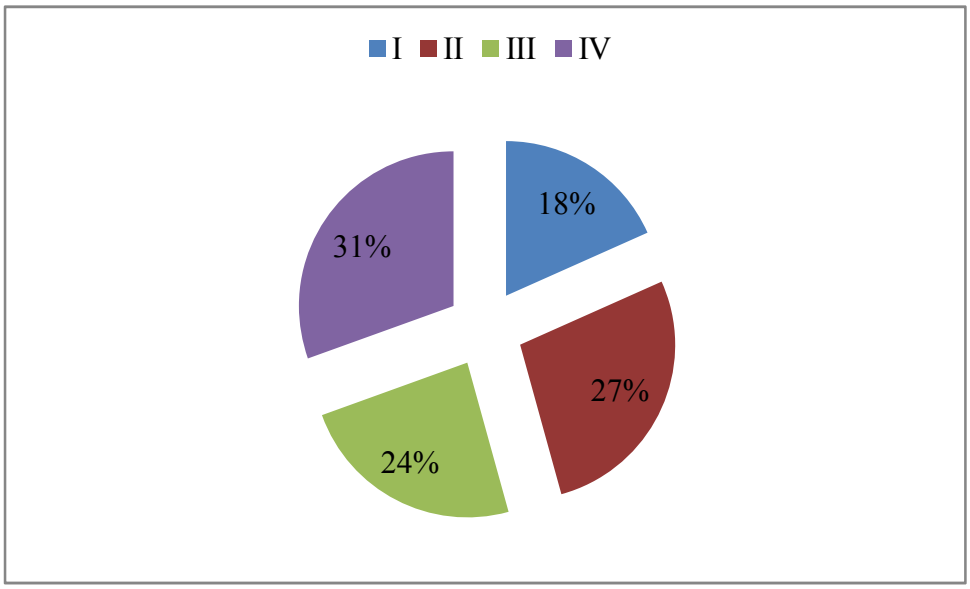

Figure 28 : Répartition du cancer colorectal selon le stade TNM.

IV.2.1.b. Répartition du cancer colorectal selon les sites métastatiques

On peut remarquer que parmi tous ces cancers, les sites préférentiels de métastases qui reviennent fréquemment sont le foie 44,94% suivi des ganglions 43,82%, des poumons 7,87%, les os 2,25 %, et le cerveau 1,12%, comme le montre le **tableau XVII**.

Tableau XVII: Répartition du cancer colorectal selon les sites métastatiques.

Métastases	Nombre	%
hépatique	40	44,94
pulmonaire	7	7,87
ganglionnaire	39	43,82
osseuse	2	2,25
cérébrale	1	1,12

La muqueuse colique **(Figure 29)** est composée d'une couche épithéliale unique de cellules cylindriques hautes bordant la lumière et s'invaginant pour former les cryptes, dans un chorion ou lamina propria.

La plus fréquente des formes histologiques du cancer colorectal est l'adénocarcinome lieberkühnien plus ou moins différenciés. Il est identifié dans 85,98% dans notre étude. Le niveau de différenciation est variable. Les cellules de l'adénocarcinome bien différencié peuvent se disposer en acinus ou en tube glandulaires d'aspects très proches de ceux d'une glande normale. Dans les tumeurs modérément différenciées les cellules sont groupées en lobules creusées de multiples cavités. Dans les carcinomes peu différenciés les cellules sont isolées **(Figure 31, 32, 33 et 34)**.

En dehors de cette différenciation morphologique, il existe une différenciation fonctionnelle, l'exemple le plus démonstratif est celui de sécrétion du mucus, cette différenciation mucineuse représente (13,41%). Pour être définie comme un carcinome colloïde, la tumeur doit être mucineuse à 50% au minimum; une tumeur qui est mucineuse à 25-50% est dite « avec composante mucineuse », ils se caractérisent par de larges plages de mucus parsemées de cellules tumorales **(Figure 35)**.

L'adénocarcinome en bague à chaton représente 0,61% (1cas), il infiltre toute la paroi sous forme de cellules en bague à chaton ou de cellules indifférenciées. Il est de mauvais pronostic. Les formes primitives sont souvent difficiles à distinguer des métastases de cancers en bague à chaton d'autres origines (estomac, sein, etc…) **(Figure 36)**.

Rapport-Gratuit.com

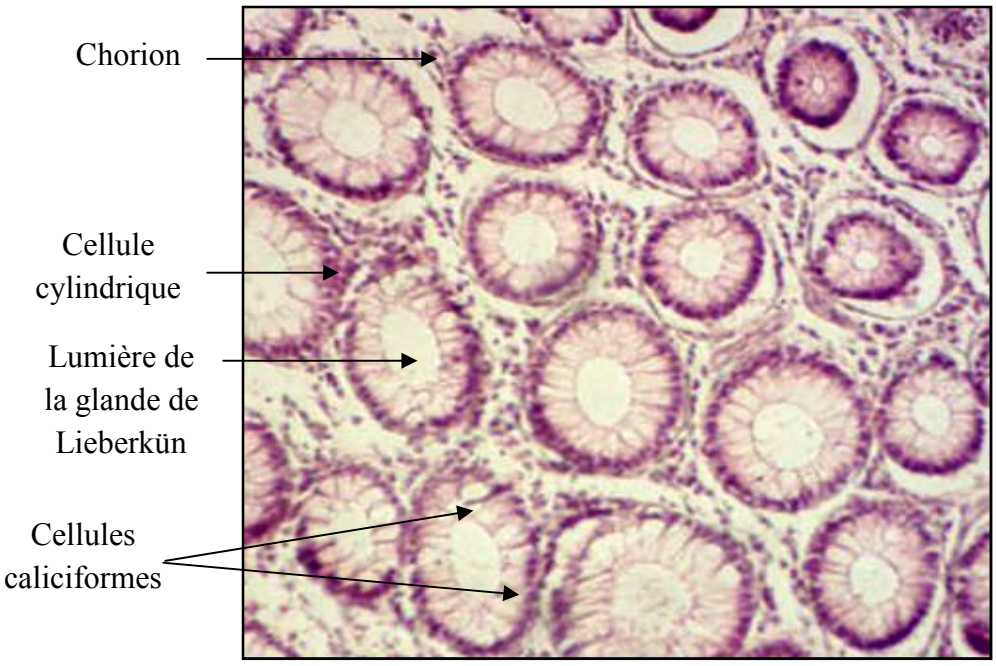

Figure 29 : Coupe histologique d'une muqueuse colique saine colorée à l'hématoxyline-éosine, (x10).

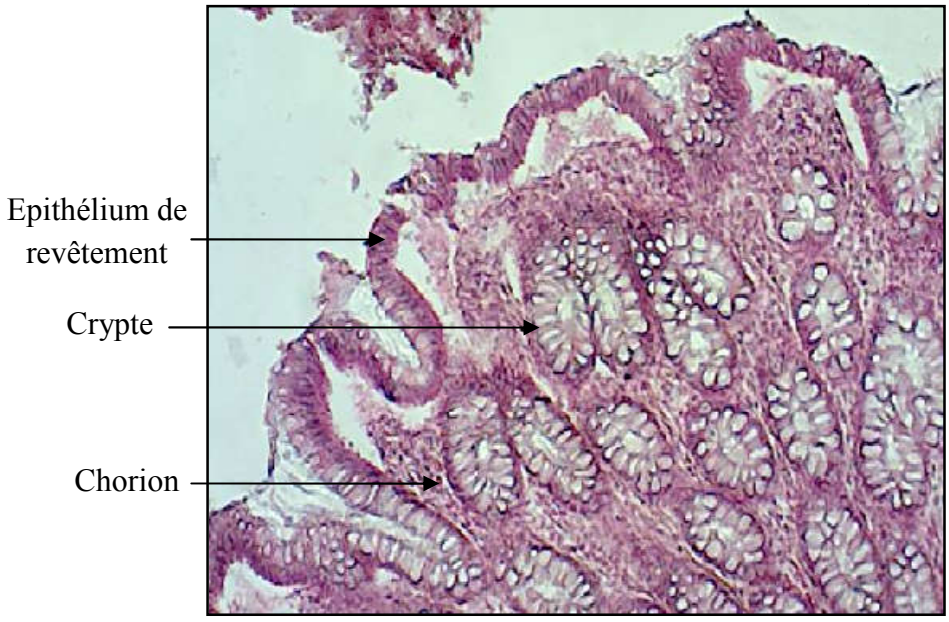

Figure 30 : Coupe histologique d'une muqueuse à distance de la tumeur colorée à l'hématoxyline-éosine, (x10).

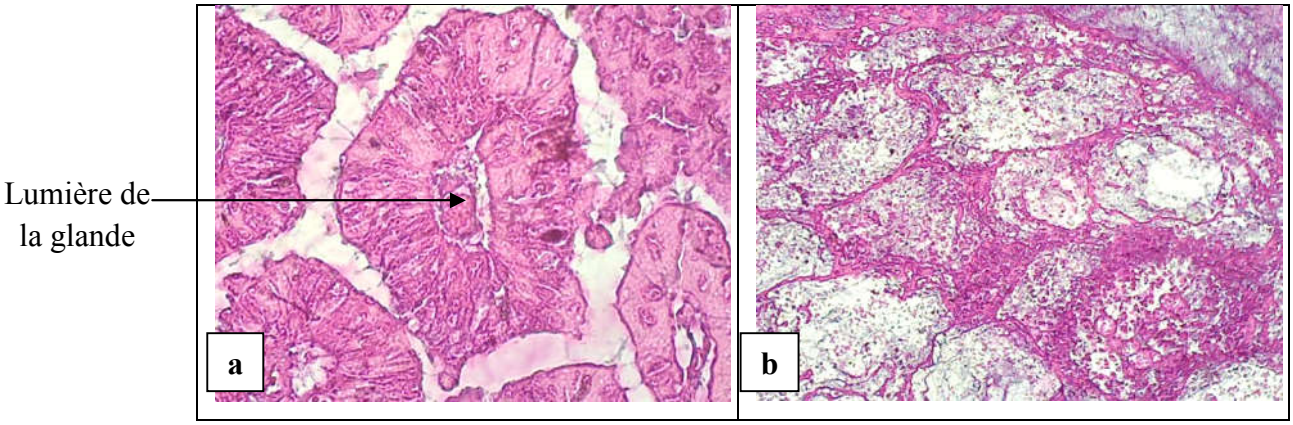

Figure 31: a- Coupe histologique un adénocarcinome bien différencié, b- Composante mucineuse de l'adénocarcinome, colorées au trichrome à froid (x40).

Figure 32: Coupe histologique d'un adénocarcinome bien à moyennement différencié (x40).Colorée au trichrome à froid.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

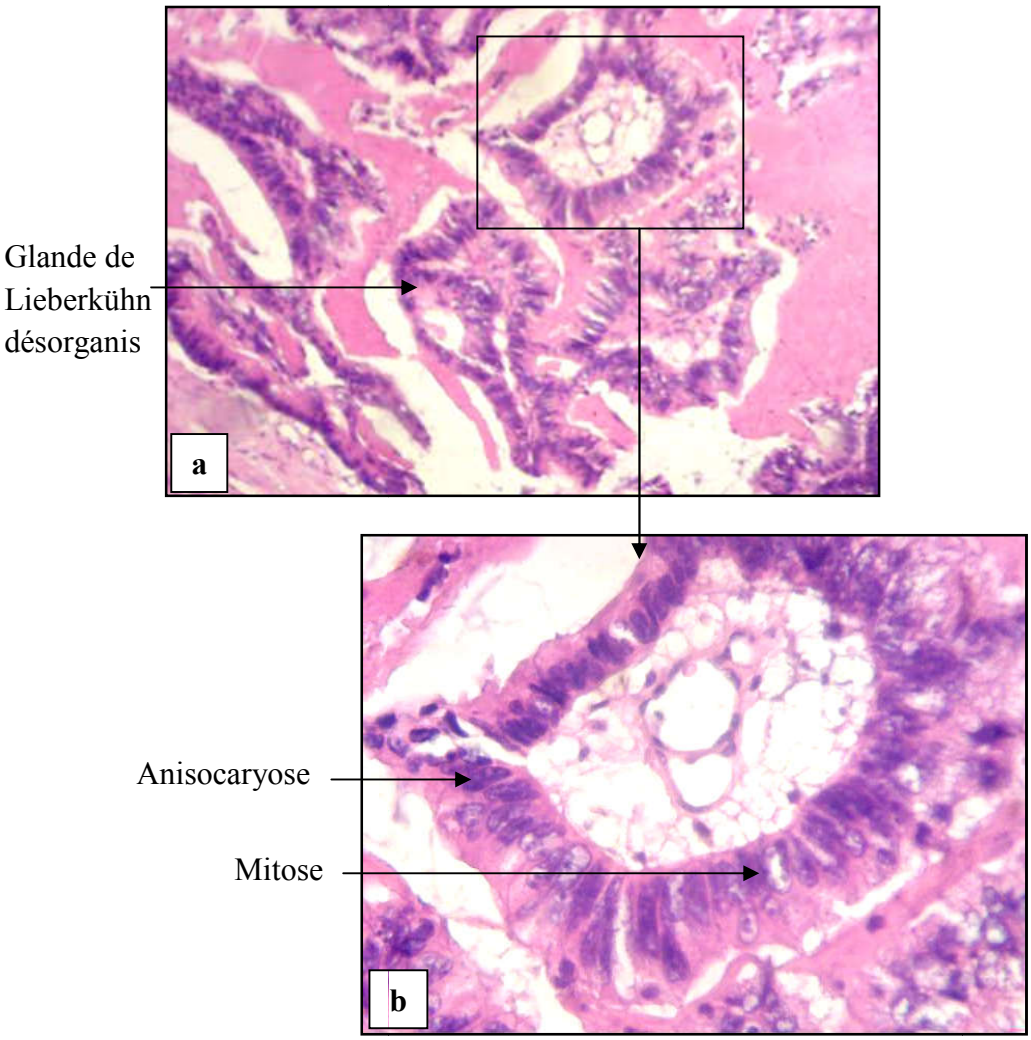

Figure 33: Adénocarcinome moyennement différencié, colorée à l'hématoxyline-éosine, a- (x10) et b- (x40).

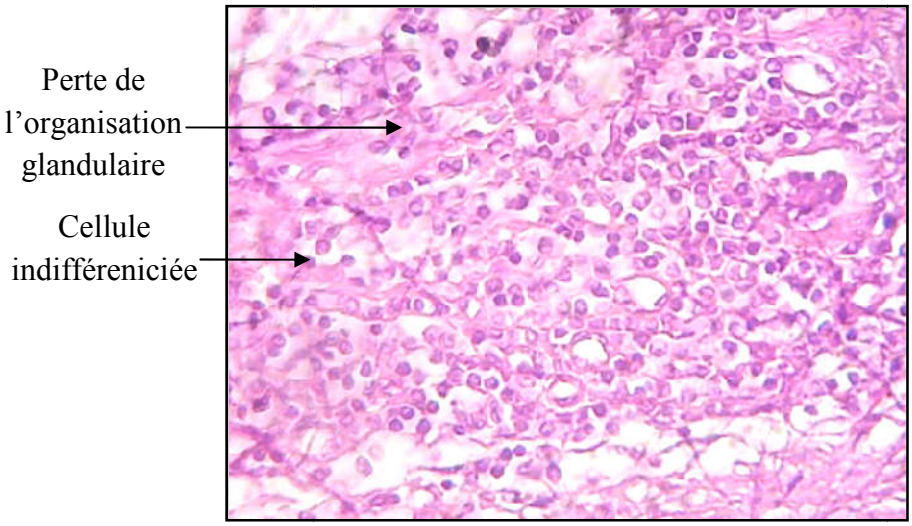

Figure 34: Adénocarcinome peu différencié, colorée à l'hématoxyline-éosine (x40).

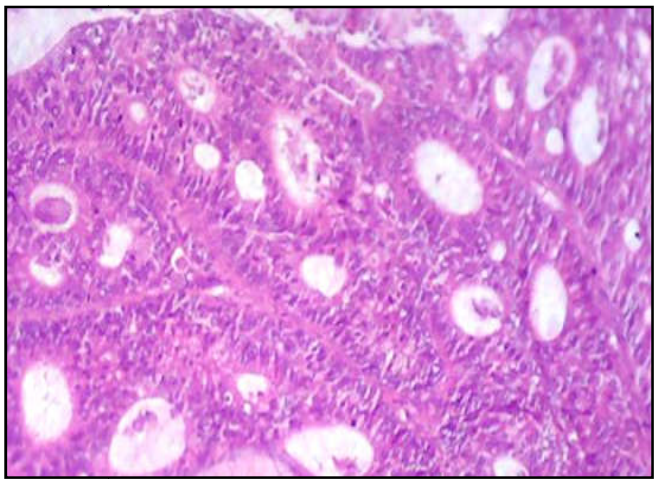

Figure 35: Adénocarcinome moyennement différencié colorée à l'hématoxyline-éosine (x10), (métastase hépatique).

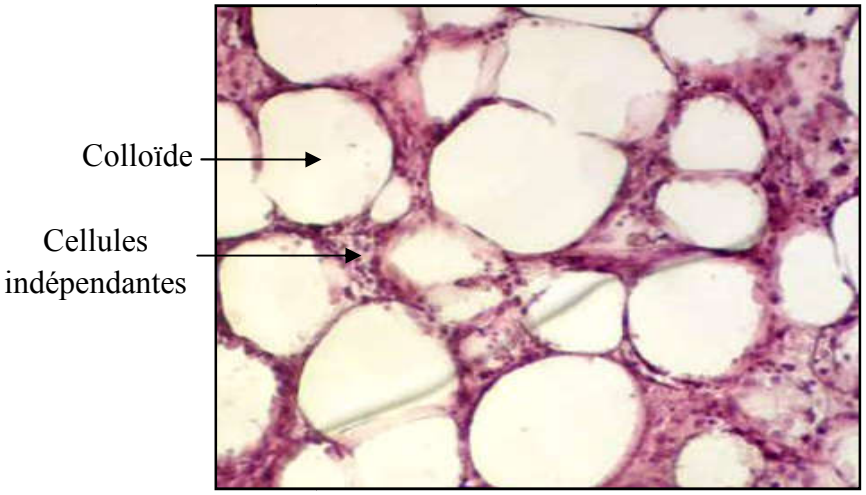

Figure 36 : Adénocacinome colloïde muqueux colorée à l'hématoxyline-éosine (x10).

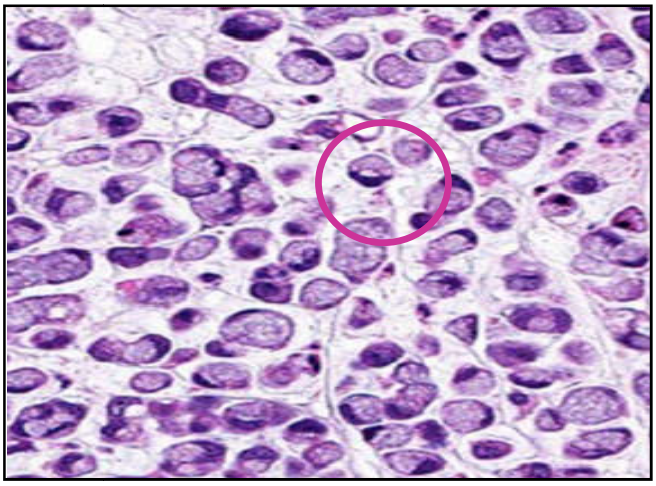

Figure 37 : Adénocacinome à cellules en bague à chaton colorée à l'hématoxyline-éosine (x40). ◯ Cellules en bague à chaton

IV.2.2 Résultat de l'immunomarquage cytokératines 7/20

L'étude immunohistochimique de l'expression des les cytokératines7/20 a révélé une accumulation cytoplasmique de la protéine CK7 dans 10 % des adénocarcinomes colorectaux analysés. Concernant la CK20 une surexpression a été observée chez 82, 5% soit 33cas (**Figure 41**), et une co-expression des Cytokératines 7/20 est observé chez 1cas atteint d'adénocarcinome colloïde muqueux (**Figure 40**), ce sont des marqueurs importants du cancer colorectal car ils informent sur les caractéristiques biologiques distinctives des tumeurs. La valeur pronostique et prédictive de l'association de ces deux marqueurs pourrait en faire un outil clinique important. Les résultats sont représentés dans le **tableau XVIII**.

Tableau XVIII: Distribution des scores d'IHC.

		Négative		Positive	
		0	1+	2+	3+
Adénocarcinomes colorctaux étudiés	CK7	33 (82,5%)	6 (15%)	1 (2,5%)	0 (0)
	CK20	3(7,5%)	4 (10%)	20 (50%)	13 (32,5%)

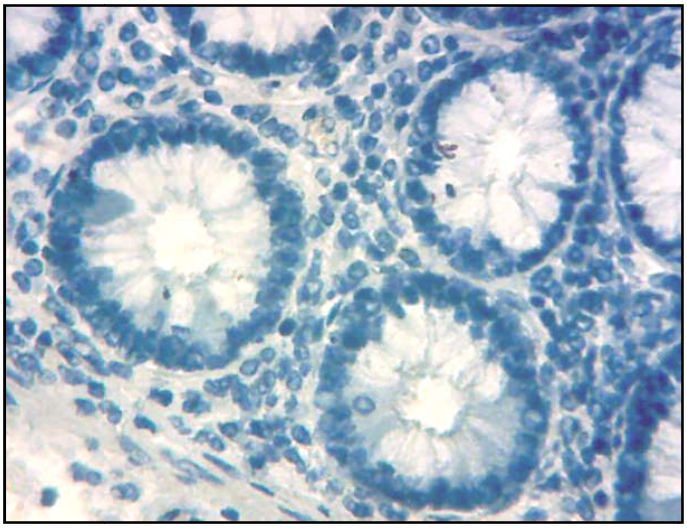

Figure 38 : immunomarquage CK20 d'une muqueuse colique saine, score 0 (x40).

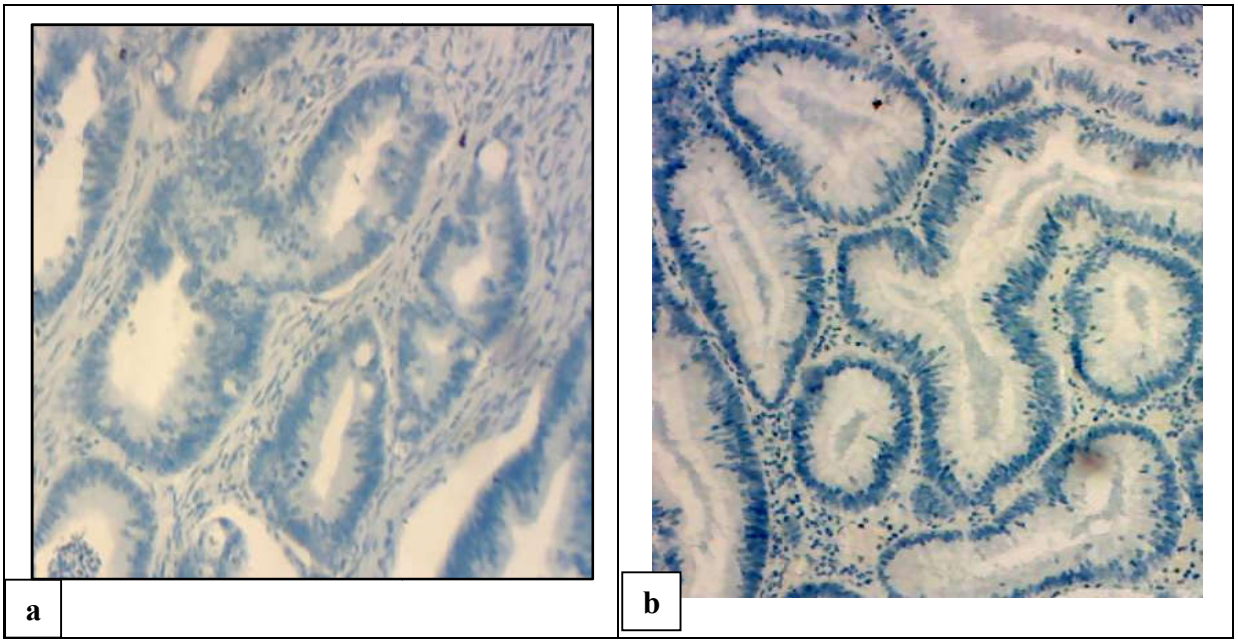

Figure 39 : immunomarquage CK7 /20, a- Adénocarcinome bien différencié, b- Adénocarcinome du sigmoïde, score 0 (x10).

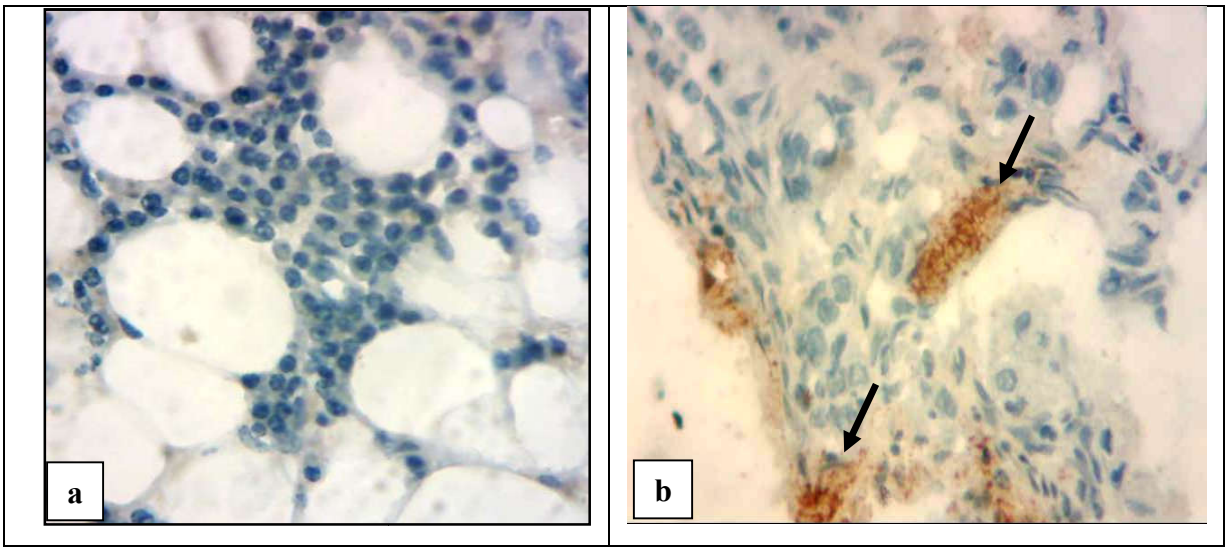

Figure 40 : immunomarquage CK7/20 d'un adénocarciome colloïde muqueux a- score 0, b- score 1 (x40).

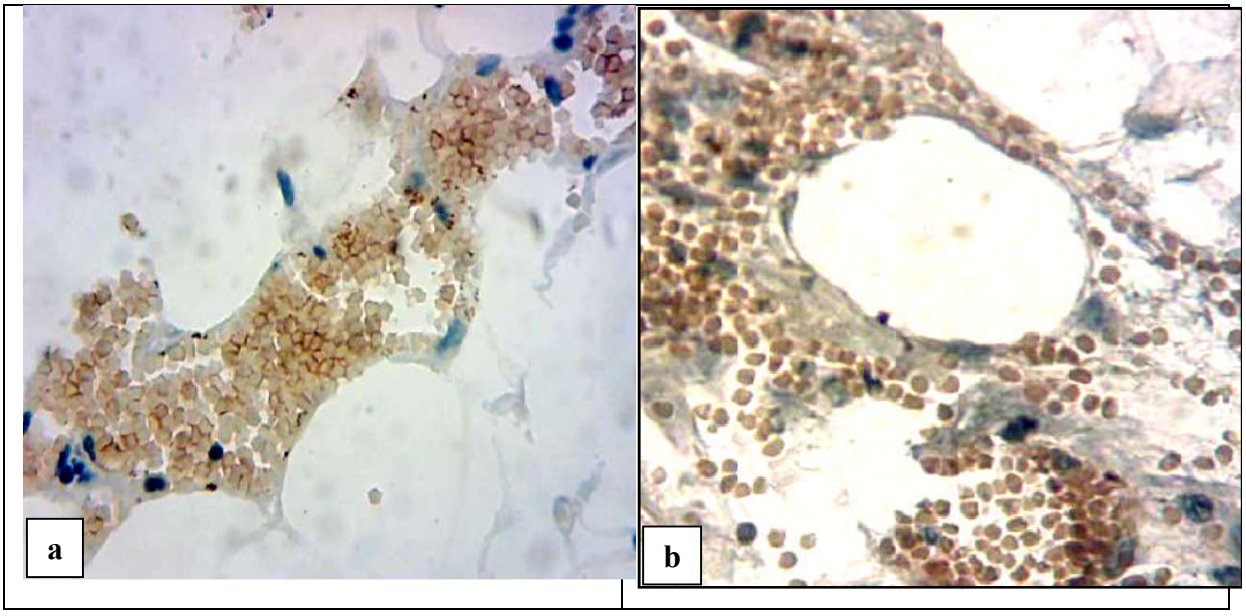

Figure 41: immunomarquage cytoplasmique et membranaire CK7/20 d'un adénocarciome colloïde muqueux a- score 2, b- score 3 (x40).

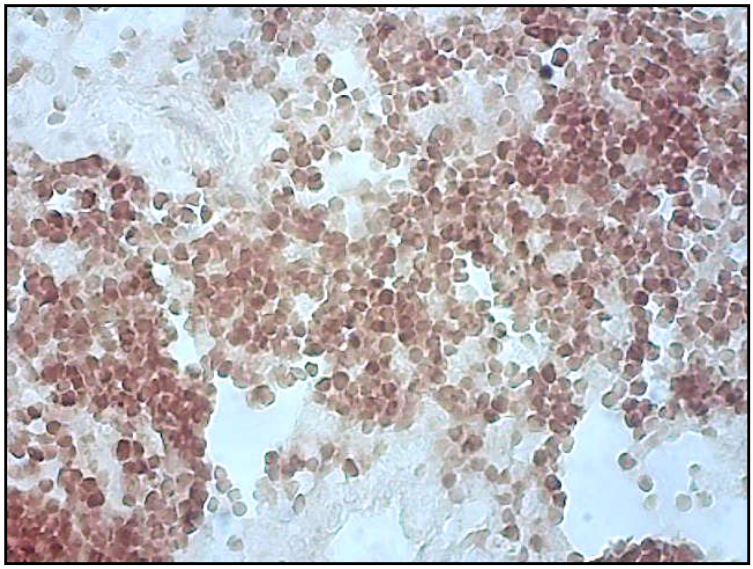

Figure 42 : immunomarquage cytoplasmique CK7/20 d'un adénocarciome peu différencié score 3 (x40).

IV.3. Résultats de l'étude moléculaire

IV.3.1. Résultats de la quantification d'ADN

Trente blocs de patients sont collectés des laboratoires d'anatomopathologie privés. Afin d'augmenter le nombre de cas susceptibles de porter une mutation BRAF V600E, nous avons inclus des patients ayant des localisations secondaires métastatiques. Les caractéristiques des patients figurent dans le **tableau XIX**.

Tableau XIX : Caractéristiques des patients inclus pour l'étude moléculaire.

Sexe Homme Femme	 16 14
Âge (années)	Moyenne 52 [23-74]
Stade TNM au diagnostic III et IV	 30

L'ADN génomique est extrait à partir des coupeaux de tissus au moyen d'un kit utilisé pour l'extraction d'ADN à partir de tissus inclus en paraffine (QIamp DNA FFPE Tissue, Qiagen). La quantité d'ADN ainsi obtenu est dosée par Qubit, un appareil qui utilise la technologie des sondes fluorophores, qui contiennent des dyes qui ne fluorescent que liées aux ADN. Cette spécificité permet une quantification précise des acides désoxyribonucléiques. Le système Qubit est sensible et peut être utilisé même pour de faibles concentrations (10 ng/µL d'ADN), les résultats obtenus sont résumés dans le **tableau XX**.

Tableau XX : Résultats de la quantification de l'ADN génomique.

Patients	P1	P 2	P 3	P 4	P 5	P 6
Quantité d'ADN (ng/µl)	60,6	54,4	57,5	55,2	53,6	56,7
Patients	P 7	P 8	P 9	P 10	P 11	P 12
Quantité d'ADN (ng/µl)	41,6	44,4	37,5	35,2	33,6	36,7
Patients	P 13	P 14	P 15	P 16	P 17	P 18
Quantité d'ADN (ng/µl)	27,2	26,5	23,8	21,2	21,6	30,4
Patients	P 19	P 20	P 21	P 22	P 23	P 24
Quantité d'ADN (ng/µl)	21,8	20,6	21,4	20,8	20,6	20,2
Patients	P25	P26	P27	P28	P29	P30
Quantité d'ADN (ng/µl)	19,8	18,6	15,4	17,8	16,6	15,2

IV.3.2. Mutation V600E du gène BRAF

La mutation V600E de l'oncogène BRAF a été identifiée comme facteur pronostique chez les patients atteints de cancer colorectal et comme facteur prédictif dans la thérapie ciblée anti-EGFR, pour cela une étude moléculaire du statut BRAF a été réalisée au niveau du laboratoire de Biologie du Développement et de la Différenciation, sur 30 cas de notre série par PCR TaqMan® avec allélo-typage compétitif séquence spécifique (Competitive Allele-Specific TaqMan® PCR ou Cast-PCR) sur appareil Taqman ABi prism 7500 (Applied BiosystemsTM) à partir de matériel paraffiné (les mêmes blocs de tumeurs correspondant aux tumeurs étudiées en IHC).

Rapport-Gratuit.com

Nous avons utilisé pour cette technique des sondes TaqMan reconnaissant spécifiquement les différentes séquences mutés (essai BRAF-Mt) associées à des sondes qui reconnaissent exclusivement la séquence normale du gène (essai BRAF-Wt), ces deux sondes emettent des signaux fluorescents de couleurs différentes **(Figure 43)**. Les résultats obtenus son résumés dans le tableau ci-dessous.

Tableau XXI : Tableau récaputilatif sur les informations des patients et les résultats de la RT- PCR, **F** : femme, **H** : homme, **ADK** : adénocarcinome

Patients/ Sexe/ Âge(ans)		**Type De la tumeur**	**Statut BRAF**	**Ct**	**ΔCt**	**Patients/ Sexe Âge(ans)**		**Type de tumeur**	**Statut BRAF**	**Ct**	**ΔCt**
P1M	35	ADK	V600E	37,3	0,8	P16M	48	ADK	Wt	/	/
P2F	36	ADK	V600E	38,5	1,2	P17F	64	ADK	Wt	/	/
P3M	26	ADK	Wt	/	/	P18M	70	ADK	Wt	/	/
P4F	55	ADK	Wt	/	/	P19F	46	ADK	Wt	/	/
P5F	73	ADK	Wt	/	/	P20 F	69	ADK	Wt	/	/
P6M	74	ADK	Wt	/	/	P21 M	70	ADK	Wt	/	/
P7F	63	ADK	Wt	/	/	P22 M	71	ADK	Wt	/	/
P8M	54	ADK	Wt	/	/	P23 M	70	ADK	Wt	/	/
P9F	55	ADK	Wt	/	/	P24 M	69	ADK	Wt	/	/
P10M	35	ADK	Wt	/	/	P25M	44	ADK	Und	/	/
P11F	36	ADK	Wt	/	/	P26F	47	ADK	Und	/	/
P12 F	23	ADK	Wt	/	/	P27M	44	ADK	Und	/	/
P13 F	52	ADK	Wt	/	/	P28 M	60	ADK	Und	/	/
P14 F	49	ADK	Wt	/	/	P29M	31	ADK	Und	/	/
P15 F	51	ADK	Wt	/	/	P30M	53	ADK	Und	/	/

L'analyse de cette réaction de PCR permet de détecter la présence de la mutation ou son absence chez les patients. À la fin de la réaction de PCR, nous avons vérifié l'apparition des courbes d'amplification qui sont détecté à l'aide des sondes utilisées, nous avons validé les 3 témoins qui sont utilisés dans chaque expérience, un ADN témoin connu pour porter la mutation du BRAF V600E, un ADN non muté pour BRAF(Wt) et un témoin avec le mixte réactionnel sans ADN, nous avons observé que l'ADN témoin muté présente une courbe d'amplification (fléche rouge), cette ADN est hétérozygote, en revanche il ny'a pas de courbe d'ADN non muté (fléche bleu), le témoin négatif présente un tracé plat (fléche verte), absence d'ADN et pas de contamination **(Figure 43)**.

A la fin de l'amplification de l'ADN génomique des patients, nous avons comparé leur courbe avec la couleur de la sonde reconaissant la séquence muté de BRAF, nous avons observé que les ADN des patients 1 et 2 (Mt p1, Mtp2) présentent une courbe d'amplification pour l'ADN muté BRAF, alors que les ADN des patients (Wtp3, Wtp4, Wtp5) présentent une courbe qui est semblable à celle de l'ADN témoin non muté, le même résultat a été obtenu pour les 22 malades (V600Wt).

En revanche 6 ADN dont la quantité est comprise entre (15 et 19)ng/µl n'ont pas été amplifiés.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

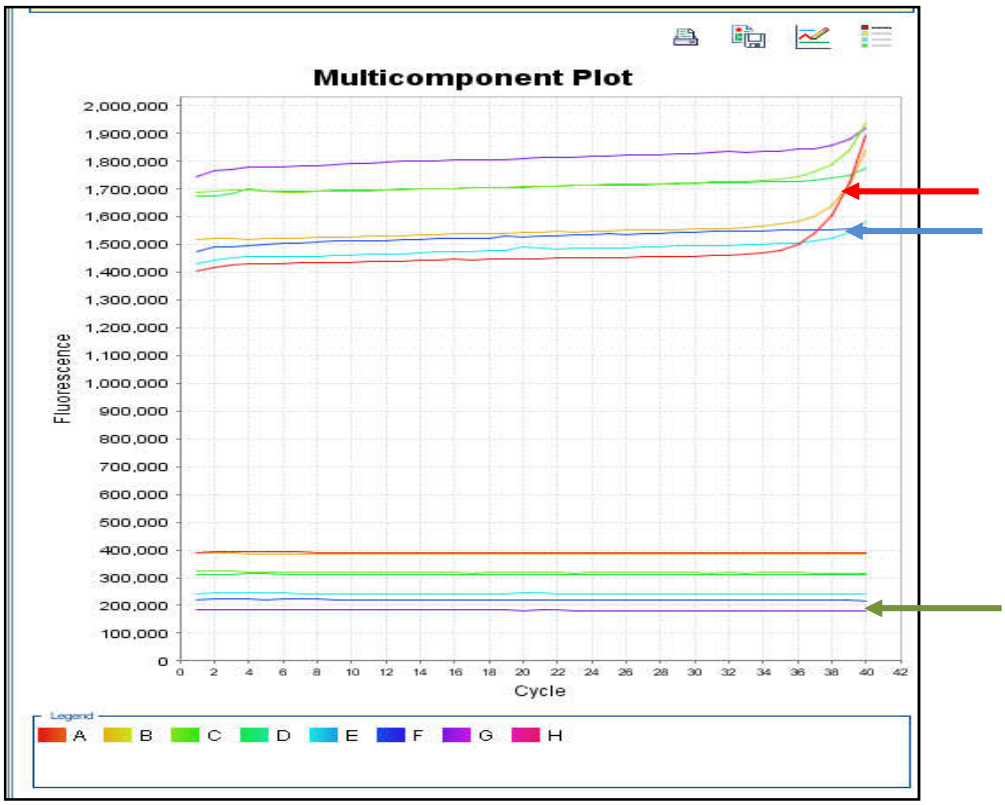

Figure 43 : Courbe de fluorescence en temps réel (cast-PCR).

V- DISCUSSIONS

V.1. Discussion de l'étude rétrospective

Le cancer colorectal, avec environ 42 200 nouveaux cas estimés en 2012 dont 55 % survenant chez l'homme se situe au troisième rang des cancers incidents masculins et au deuxième des cancers féminins **(*Bouvier*, 2013)**.

Les pays aux taux d'incidence les plus élevés incluent l'Australie, la Nouvelle Zélande, le Canada, les Etats Unis et une partie de l'Europe. Quant aux pays aux taux d'incidence les plus bas incluent l'Inde et une partie de l'Afrique et de l'Amérique du Sud. La fréquence de cancer dans notre étude, se rapproche de celle des pays à taux élevé d'incidence **(*Bouvier et al.*, 2009)**.

Les données les plus récentes font état d'une augmentation régulière de l'incidence du cancer colorectal en Chine également **(*Coleman*, 2008)**.

En Algérie, le cancer colorectal est le deuxième cancer le plus diagnostiqué chez les deux sexes, ainsi en 2010, il représente 15,7% des cancers masculins et 16,7% des cancers féminins **(Plan national de cancer, 2014)**.

Au Maroc, le cancer colorectal est le 3ème aussi bien chez les femmes que chez les hommes **(Registre des cancers à Rabat, 2012)**.

En France, le cancer colorectal est caractérisé par une légère prédominance masculine, avec un sex ratio voisin de 1,5, il est situé au 3ème rang chez les deux sexes **(*Binder-Foucard*, 2013)**, alors que dans notre pays il occupe la deuxième position chez les deux sexes.

La wilaya d'Oran, en 2011 a enregistré 10,6% chez l'homme et 2,9% chez la femme et 3,4 % chez l'enfant **(Registre du cancer, 2014)**, en comparaison ave les pays du Maghreb nos résultats sont similaires à ceux du registre de Casablanca (2005-2007) où il est au 3ème rang chez le sexe masculin et 4ème chez le féminin, par contre à Sfax (Tunisie) il occupe le 4ème rang chez l'homme et le 2ème chez la femme.

Par rapport aux données nationales, le cancer colorectal reste plus fréquent dans la région d'Alger, il représente le deuxième cancer chez les deux sexes. L'analyse des localisations les plus fréquentes dans la wilaya de Tizi-ouzou a montré que ce cancer occupe la deuxième position après le cancer du poumon **(Registre de cancer de Tizi-Ouzou, 2008)**. A l'ouest plus de la moitié des malades inclus dans notre étude, sont issus de la région d'Oran. Ces données sont en discordance avec ceux de notre wilaya où il se situe au 3ème rang chez les deux sexes.

Le cancer colorectal est caractérisé, dans notre série, par une prédominance chez des patients âgés. En effet plus de 60% des cas ont été enregistrés chez des patients de plus de 50ans et plus de 30% chez les moins de 50ans avec un âge moyen de 56 ans.

A Sétif plus de 72% des cancers colorectaux surviennent chez des patients de plus de 45 ans. Par contre ceux de la wilaya de Tizi-Ouzou, les patients âgés de moins de 50ans représentent 46,1% (**Registre du cancer à Sétif, 2012-registre de cancer de Tizi-Ouzou, 2008**).

Nous avons noté dans la littérature, que le cancer du côlon survient à un âge avancé. En effet, aux Etats Unis, le cancer colorectal est une maladie du sujet âgé, plus de 90% des cas surviennent chez des personnes de 50 ans ou plus, et l'incidence est 50 fois supérieure de 60 - à 79 ans que chez les jeunes de moins de 40 ans **(*Haggar*, 2009)**.

En France, le cancer colorectal est un cancer rare avant 50 ans (environ 6 % des cas), puis son incidence augmente rapidement avec l'âge **(*Binder-Foucard*, 2013)**.

Cela peut s'expliquer par le fait que la population algérienne est plus jeune que la population en occident.

Nous avons recensé dans notre série 164 cas de cancers colorectaux dont la répartition selon le sexe indique une prédominance masculine, nous avons dénombré 97 hommes et 67 femmes soit un sexe ratio de 1,42.

La répartition du cancer du côlon selon le sexe dans une étude sur 313 patients présente une légère prédominance masculine avec 177 hommes soit 56,55% et 136 femmes soit 43,45% **(*Ghalek*, 2011)**.

Un travail plus récent réalisé sur une population de l'ouest Algérien, 1464 patients atteints de cancer du côlon a révélé une prédominance masculine avec 780 hommes soit 53 % et 684 femmes soit 47 % **(*Meddah*, 2014)**.

Par rapport aux pays du Maghreb, nos résultats sont similaires à ceux de la série tunisienne portée sur 1443 patients, il y avait 781 hommes (54,1%) et 662 femmes (45,9%) **(*Missaoui*, 2010)**. Ainsi qu'à Fes, dans une étude sur 792 cas de cancers colorectaux, le cancer du côlon est relativement plus fréquent chez l'homme 404 cas que chez la femme 388 cas **(*Hafid* 2014)**.

Dans notre étude, le cancer du côlon constitue la majorité des cancers colorectaux. Ils représentent 65% des cas. Le cancer du rectum moins fréquent, représente 35%, nos résultats se concordent avec ceux de Tizi-Ouzou où le cancer du côlon prédomine avec 59,7%. A l'échelle internationale le Maroc enregistre 430 cas de cancer du côlon dominant le cancer du rectum qui représente 310 cas **(*Sedkaoui*, 2015 ; *Hafid*, 2014)**.

La répartition topographique du cancer du côlon par ordre de fréquence décroissant du siège de la tumeur sur les différents segments du côlon est comparable à celle de la littérature. Ainsi les cancers du côlon gauche 23,17% et du sigmoïde 21,95%, occupent la première place, suivi par le côlon droit 15,24%, le transverse 4,27% vient en dernière position.

Nous avons comparé la répartition du cancer du côlon dans notre série à celle de l'étude faite à Tizi-Ouzou par ***Sedkaoui*** en 2015, on constate que dans les deux séries, le cancer du sigmoïde est le site le plus fréquent (26,4%, 21,95%) et que la localisation du côlon droit ne vient qu'en 3ème position (5,7%, 15,24%).

Dans une étude marocaine **(*El Moufid*, 2011)**, l'atteinte maligne est plus marquée pour le côlon gauche 57,8%, suivi du sigmoïde 47,37% et du côlon droit 31,6%

Dans une série coréenne portante sur 84 cas on trouve 22 cas (26.2%) du cancer du côlon droit, 62 cas (73.8%) de côlon gauche **(*Yun*, 2008)**.

La série mexicaine qui portait sur 40 patients, comptait 15 cas au niveau du côlon droit, 7cas du côlon gauche et 13 cas du sigmoïde **(*Perez*, 2002)**.

Dans une étude allemande portante sur 174 cas, il y'avait 106 cas représente une localisation sigmoïdienne, 17 cas au niveau du côlon transverse, 14 cas au niveau du côlon ascendant, 12 au niveau du cæcum, 8 au niveau de l'angle colique gauche ,8 au niveau de l'angle colique droit, 7 au niveau du côlon descendant **(*Croner*, 2009)**.

La série américaine portante sur 105 cas, montre, 06 cas de localisation au niveau du côlon droit, 10 cas localisés au niveau du transverse, 14 cas localisé au niveau du cæcum, 17cas localisés au niveau du côlon gauche et 58 au niveau du sigmoïde **(*Rowe*, 1997)**.

Dans une série tunisienne la tumeur est localisé dans le côlon chez 714 patients soit 49,5 % et 34,7% dans le rectum et 8% au niveau du sigmoïde (***Missaoui et al.,* en 2010**).

Concernant le cancer du rectum, dans notre étude, le bas rectum 17,68% vient au premier rang, il précède le cancer du haut rectum 11,59%, par contre nous notons dans la série de ***Sedkaoui* en 2015** un pourcentage de 24,5% pour le bas rectum et seulement 7,5% pour le cancer du haut rectum.

L'ACE digestif est une glycoprotéine extraite des tissus normaux ; son dosage n'est pas nécessaire en l'absence de métastases. Bien qu'un taux pré-opératoire élevé soit d'un pronostic défavorable, son dosage ne modifie pas l'attitude thérapeutique et n'est donc pas recommandé de façon systématique **(*Rougier et al.,* 2006)**.

Il a été montré qu'il existe une corrélation entre l'intensité de l'expression d'ACE préopératoire et la gravité du pronostic des cancers colo-rectaux. **(*Filella* , *Molina et al.,* 1994**; ***Harisson et al.,* 1997)**. De plus, la constance d'un taux élevé d'ACE dans les six semaines postopératoires est révélatrice d'une maladie subsistante ou d'une maladie métastatique **(*Filella et al*., 1994)**.

Dans la série de Sedkaoui, l'ACE était élevé chez 29 patients soit 56% et le CA19-9 était élevé chez 24 patients soit 46%. Après 4 cures de chimiothérapie, 13 patients (27%) ont eu une normalisation des ACE, 10 patients (21%) ont eu une normalisation de CA19-9, Par contre dans notre étude, après chimiothérapie nous n'avons noté que 10 % des patients ont eu une normalisation d'ACE et environ 13 % des patients ont eu une normalisation CA19-9.

On estime par ailleurs que 44 % des patients ayant un ACE préopératoire normal peuvent avoir une augmentation d'ACE en cas de récidive **(*Zeng* et *al.,*1993).** La valeur diagnostique de l'ACE varie en fonction du site de récidive, la sensibilité étant meilleure pour la détection de métastases hépatiques et rétropéritonéales que pulmonaires et meilleure en cas de récidives multiples comparée à une récidive unique.

Pour la détection précoce des récidives tumorales Filella *et al.,*2014 ont comparés le CA 19-9 et l'ACE. L'augmentation du CA 19-9 annonçait la récidive dans seulement 25 % des cas contre 84 % pour l'ACE**.**

L'augmentation du CA19-9 au cours de la surveillance après normalisation des taux permet de suspecter l'apparition d'une récidive ou d'une métastase d'un cancer colorectal, et la constatation d'élévation de l'Ag CA19-9 concomitante à celle de l'ACE augmente de façon très significative la valeur de ces marqueurs pour le diagnostic d'une récidive ou d'une métastase (***Alvarez*, 1995**).

L'ACE est le premier signe de récidive dans 38,2 % des cas lorsqu' un dosage est fait tous les 3 mois pendant un an, puis tous les 6 mois pendant 2 ans. Le CA19-9 peut être exploitable si l'ACE est peu ou pas augmenté (***Graham*, *et al*., 1998, *Eche*, *et al.*2001)**.

V.2. Discussion de l'étude histopathologique et immunohistochimique

Les données des différentes séries soulignent la fréquence de l'adénocarcinome, elle représente 100% dans notre série. Nos résultats sont concordants avec ceux de Sedkaoui en 2015.

Nous avons noté que l'adénocarcinome Lieberkühnien est la forme histologique la plus fréquente elle représente 141 cas soit 85,72% cette fréquence est comparable à celle de Ghalek en 2011 (87,22%) et de Sedkaoui en 2015 (86,5%), ces proportions rejoignent celle rapportée par ***Bouyry et al,.* 2004**.

Les adénocarcinomes bien différenciés comme dans la littérature sont majoritaires dans notre série 59,76%, (70 à 75% dans l'étude de Bath et Leclerq, 1997). Les adénocarcinomes moyennement et peu différencié, sont retrouvés dans respectivement : 20,12%, 6,1% contre 10% et 5% dans les travaux de ***Viguier et al,* 2003**.

Par contre dans une étude rétrospective en Tunisie sur 1443 patients, l'adénocarcinome moyennement différencié représenté le pourcentage le plus élevé 76,7% suivi par le carcinome bien différentié (15,9%) et 6,8% pour l'adénocarcinome peu différencié (***Missaoui et al., en 2010***).

En revanche la proportion des adénocarcinomes colloïdes muqueux dans notre cas est de 13,41% plus élevée que celle trouvée dans l'étude de Ghalek (11,82%) et Sedkaoui (7,7%) elle est proche de celle rapportée dans la littérature qui varie souvent entre 10% et 15% **(*Barth*, 1997)** et 123 cas soit 9,4% dans la série de ***Missaoui et al.,* en 2010**.

L'adénocarcinome de cellules en bagues à chaton représente 5% dans l'étude de ***Sedkaoui***, (2015) est bien supérieur de 0,61% dans notre série mais elle se rapproche de celle décrite dans la littérature (1%) **(*Pande et al.,* 2008)**.

Parmi les 751 cas enregistrés dans une étude faite au CHU HASSAN II DE FÈS, 84% (690 cas) sont des adénocarcinomes, dont 8,2% seulement sont de type mucineux. Les autres types histologiques sont beaucoup moins fréquents.

On y distingue:

- Les carcinomes à cellules indépendantes en bague à chaton : 3,2% de l'ensemble des cancers coliques (24 cas). Ce type histologique a été particulièrement fréquent chez le sujet jeune (59% des cas avant l'âge de 34 ans), par contre nous n'avons noté qu'un seul cas soit 0,61%.
- Les lymphomes dont 8 cas sont de type B de haut grade (1,01% de l'ensemble des cas) et 3 sont des lymphomes de bas grade dont 2 sont de type lymphome du manteau.

Rapport-Gratuit.com

- Les carcinomes indifférenciés : 1,2% de l'ensemble des cas (9 cas), celui du carcinome épidermoïde : 1,9% de l'ensemble des cas (15 cas), le carcinome neuro-endocrine : 0,4% de l'ensemble des cas (3 cas). On note 2 cas de GIST et 2 cas de sarcome **(*Hafid*, 2014)**.

Dans notre étude, les patients ont été répartis selon la classification pTNM (**UICC/AJCC 2010**) en 4 stades. Le diagnostic de cancer colorectal est fait tardivement chez 54,27% des patients.

Nos résultats se concordent avec celle de l'étude tunisienne où les stades avancés représentent 55,3% (***Arfa* et *al.*, 2006**) et de la série du département de la Loire Atlantique en France 50,26% (***Cerbelaud***, 2008). Dans la série française les stades précoces (stade I et II) représentent presque la moitié des cas 49,71%, de même dans notre étude 45,72 % sont diagnostiqués à ces stades précoces.

En revanche, dans une autre étude tunisienne, sur 1443 patients seulement 80 cas sont diagnostiqué au stade 0 et I soit (6,1%), 1238 patients soit 93, 9% au stade II, III et IV **(*Missaoui et al.*, en 2010)**.

Des localisations secondaires sont présentes dans 80 % des cas au moment du diagnostic **(*Sedkaoui*, 2015)**, par contre nous avons noté que 54,27%.

Dans notre étude les métastases sont plus fréquentes dans le foie 44,94% de l'ensemble des sites métastatiques.

L'atteinte hépatique concerne, selon **(*Sugihara* et *Uetake*, 2012)** 10% des patients en phase synchrone et 15% en phase métachrone **(*Viguier*, 2003)**.

Les métastases hépatiques synchrones au cancer du rectum s'observent dans 20% des cas, et elles sont multiples et diffuses dans 70 à75% des cas. Leur pronostic spontané est grave 1 ,5% à 5 ans **(*Lasser*, 2000)**.

Selon l'OMS (2004), le poumon, le côlon, le pancréas et le sein sont les cancers primitifs les plus fréquemment responsables de métastases hépatiques.

Les métastases ganglionnaires dans notre série viennent en deuxième position après le foie avec 43,82% soit 10 cas, une proportion inférieure 20,2 % est retrouvée dans la série de Sedkaoui (2015).

L'extension ganglionnaire est possible dès que le cancer atteint les couches de la paroi colique riches en lymphatiques, c'est-à-dire lorsqu'il dépasse la *lamina propria*. C'est un facteur pronostique péjoratif du CCR, qui signifie non plus une évolution strictement locale du CCR mais la diffusion à tout ou partie d'un segment colique **(*Buc*, 2012)**.

Dans l'étude de ***Leather*, 1994**, environ 10 à 15 % des patients présenteront des métastases pulmonaires au moment du diagnostic et environ 50 % des patients en développeront ultérieurement. Les métastases pulmonaires sont de 7,87% dans notre série ; cette proportion est supérieur 16% dans la série de ***Sedkaoui*** (**2015**).

En quatrième position les métastases osseuses avec 2 cas soit 2,25%, se rapproche des données de ***Sedkaoui*, 2015** (4,3%).

Dans notre série nous avons enregistré un seul cas de métastase cérébrale soit 1,12%. Les métastases du cerveau se produisent dans approximativement 1,5% de tous les cancers colorectaux, mais on s'attend à ce que ce pourcentage augmente en même temps que les stratégies de traitement améliorent la survie globale Pour les patients atteints de cancer colorectal métastatique **(*Ko*, 1999 *; Damiens*, 2012)**.

La métastase cérébrale du CCR se produit généralement dans le contexte des métastases extra-crâniennes simultanées, avec le foie, les poumons et l'os qui sont les sites les plus courants **(*Onodera*, 2005 ; *Jung*, 2011)**.

L'extension métastatique aux autres viscères de proximité se fait par voie sanguine. Les métastases sont hépatiques dans 75% des cas, pulmonaires dans 15%, osseuses dans 5% et cérébrales dans 5%. Elles peuvent être synchrones (découvertes en même temps que le cancer colique) ou métachrones (apparaissant de façon retardée, soit plus d'un an après l'exérèse de la tumeur primitive). Elles signent une maladie généralisée dont l'évolution spontanée est très péjorative, avec une survie à 5 ans proche de 0% **(*Buc*, 2012)**.

Les cytokératines sont une famille d'environ 20 protéines, de masse moléculaire comprise entre 40 et 65 kDa, caractéristiques des épithéliums kératinisants ou non. Organisées en paires, elles s'expriment en fonction de la position des cellules dans l'épithélium, du type d'épithélium et des organes. Comme les épithéliums se distinguent des autres types histologiques par la nature des filaments intermédiaires, la caractérisation immunochimique des kératines sur des petits échantillons de cellules cancéreuses suffit pour indiquer leur origine épithéliale par exemple CK7–CK20+ dans l'adénocarcinome colorectal **(*Seifert*, 2012)**.

Les épithéliums normaux de l'intestin grêle, appendice et colorectal et leur adénocarcinomes sont fréquemment CK7-/CK20+, ce qui aide à distinguer ces adénocarcinomes d'autres provenant de différents sites primitifs **(*Tot*, 1999)**.

L'utilisation des cytokératine (CK7, Ck20) semble contributive et peut orienter plus précisément le diagnostic.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

Un marquage CK20+ et CK7- oriente vers un cancer colorectal ou vers un carcinome mucineux de l'ovaire, CK20+ et CK7+ vers une origine urothélial ou une tumeur à cellule de Merkel ; CK20- et CK7+ vers un adénocarcinome bronchopulmonaire, endothéliale ou mammaire essentiellement. La négativité des ces cytokératines est observée dans les hépatocarcinomes, les carcinomes prostatiques, les carcinomes rénaux et les carcinomes pulmonaires épidermoïdes et à petites cellules **(*Goldman et al*, 2013)**.

En effet 82, 5 % des cas de notre série exprimaient la CK20. Dans 2,5% des cas, il s'y associe à l'expression de la CK7, ces résultats sont compatibles avec ceux des différentes études publiées où le phénotype CK7- / CK20 + a été identifié dans 65% à 95% des adénocarcinomes colorectaux dans différentes séries.

La positivité de CK20 est observée dans la majorité des cas d'adénocarcinome colorectal, et plus d'un tiers des cas d'adénocarcinome gastrique **(*Moll*, 1998)**. Contrairement à l'adénocarcinome colique régulier, l'adénocarcinome rectal de novo est CK 7+/CK 20+ ou CK 7+/CK 20- **(*Ashraf*, *Zhang*, 1999)**.

Dans sa revue d'article ***Tot*, 2002** a résumé les résultats de 29 études concernant plus de 3500 cas d'adénocarcinomes marqués avec les cytokératines 7 et 20, cette revue a affirmé que les adénocarcinomes métastatiques colorectal, gastrique et pancréatique ont des taux de marquages CK7, CK20 identiques aux tumeurs primitives. Seuls les adénocarcinomes gastriques ont présenté une différence statistique significative dans l'expression de la CK20 quand les localisations primitif et métastatique ont été comparées.

D'autre part, environ un tiers, (plus de 10%) des adénocarcinomes pancréatiques expriment ce phénotype **(*Park*, *et al*,. 2002 ; *Saad*, *et al*,. 2009)**. Il est probable que le marquage négatif de la CK7 n'est pas uniquement exprimé dans les tumeurs épithéliales coliques, plusieurs études ont décrit l'immunomarquage de CK7 dans les adénocarcinomes colorectaux avec une expression qui varie entre 5% et 74 % **(*Zhang*, *et al*,. 2003, *Saad*, et al, 2009)**.

L'intérêt de l'immunomarquage avec les cytokératines 7/20 dans les métastases cérébrales d'un adénocarcinome a été étudié par ***Fernandez et al.*, 2001** chez une série de 78 patients. Les métastases par adénocarcinome colique sont CK7- / CK20 + dans 100% des cas.

Les raisons de cet écart sont ambiguës. Cela peut être du à une différence dans la population étudiées les techniques et les critères utilisées pour interpréter les résultats.

V.3. Discussion de l'étude moléculaire

L'oncogène BRAF appartient à la famille des gènes RAF et participe à la voie de signalisation des MAP kinases. La mutation de BRAF est exclusive de celle de KRAS.

Il existe un point chaud de mutation au niveau du quinzième exon du gène BRAF, qui représente plus de 90 % des mutations identifiées. Il s'agit de la substitution d'une valine en position 600 par un acide glutamique, appelé variant V600E. La région mutée correspond au domaine kinase de la protéine, qui est une serine/thréonine kinase. La mutation de BRAF, outre sa valeur prédictive négative, représente également un facteur de très mauvais pronostic **(*Svrcek*, 2011)**.

D'autres auteurs, ***Nicolantonio*** et **ces collaborateurs en 2008**, ont rapporté que les mutations des gène KRAS et BRAF s'excluent mutuellement dans le cancer colorectal, dont le seul type de mutation observé dans la cohorte étudiée (113 patients), est la substitution V600E acide glutamique en valine, détectée chez 11 patients (13%), suite à la mutation classique GAG GTG en position 1799 de la séquence nucléotidique de BRAF.

Il est maintenant bien établi que la fréquence des mutations BRAF V600E détectées dans un cancer est influencée par la sensibilité analytique de la méthode appliquée pour leur révélation. Plusieurs méthodes ont été développées pour détecter les mutations BRAF, y compris la Cast-PCR est un allélo-typage compétitif de séquence spécifique (Competitive Allele-Specific TaqMan® PCR) **(*Gonzalez*, 2013 ; *Didelot*, 2012)**.

Dans notre étude moléculaire, sur 30 échantillons de patients atteints de cancer colorectal métastatique dont l'âge est compris entre 23 et 74 ans. Nous avons obtenus deux cas portant un ADN muté BRAF V600E soit 6,7%, 6 patients dont le statut BRAF est indéterminé, probablement en raison de la faible quantité d'ADN et du produit PCR, et 22 patients soit (73,3%) avec un profil non muté.

Nos résultats se rapprochent aussi de ceux obtenus dans une étude comparative faite sur 49 échantillons de cancer colorectal collectés à l'hôpital de Kuala Lumpur 2,3% (1/43) 1 cas de mutation V600E du gène BRAF a été enregistré, un taux très faible par rapport aux autres altérations étudiées (KRAS et PTEN) **(*Yip et al.,* 2013)**.

Dans 3 unités d'oncologie des hôpitaux scandinaves, chez des patients dont le cancer colorectal métastatique est confirmé histologiquement, une incidence plus élevé 21% de mutation BRAF (V600E) a été observée **(*Yip et al.,* 2013)**.

En revanche une analyse RT-PCR du gène BRAF dans une série mexicaine de 57 patients âgés de moins de 50 ans n'a révélé aucune mutation V600E **(*Luévano-González et al.*, 2011).**

Dans une étude Iranienne, la mutation V600E du gène BRAF a été analysé en utilisant les amplicons résultants d'une PCR classique à partir des ADN de 100 patients par un séquençage direct (méthode Sanger), aucune mutation du gène BRAF V600E n'a été enregistrée parmi ces patients étudiés **(*Farshid*, 2014)**.

Dans une série sur 34 malades atteints de CCR incluant 13 hommes et 21 femmes dont l'âge moyen est de 52 ans (de 34 à 70 ans), aucune mutation BRAF dans l'exon 15 n'a été détectée (***Louati*, 2017**).

Les différences de fréquence de la mutation V600E du gène BRAF peuvent être dues aux facteurs environnementaux et génétiques dans différentes ethnies, les différentes méthodes utilisées pour la détection de la mutation et la présence des mutations du gène BRAF autres que la V600E, en plus des différentes méthodes d'échantillonnage. Sur la base des résultats présentés dans le tableau **XXII**.

Tableau XXII : Fréquence de mutation des gènes BRAF dans certains pays du monde **(*Farshid*, 2014)**.

Référence	Pays	Année	Nombre de Patient	Mutation BRAF, N° (%)	Méthode de détection
Nagasaka	Japan	2004	234	21 (9)	PCR- RFLP
Wei Qi Li	Australia	2006	275	23 (8.9)	PCR-SSCP
Li	China	2011	200	14 (6.5)	PCR-Pyrosequencing
Naghibalhosaini	Iran	2011	110	0 (0)	PCR-RFLP
Bond	Australia	2012	1052	128 (12.2)	Allele discriminating assay
Li-liny Hsieh	Taiwan	2012	182	2 (1.2)	HRM and DS
Aissi	Tunis	2013	51	1 (2)	DS
Ghaffarpour	Iran	2011	27	1 (3.7)	DS
Notre étude	Algérie	2017	30	2 (6,7)	Cast-PCR

Abréviation : **DS** : direct sequencing, **Cast-PCR** : Competitive Allele-Specific TaqMan PCR **PCR** : polymerase chain reaction; **RFLP**, Restriction fragment length polymorphism; **SSCP**, Single strand conformational polymorphism; **HRM**, High resolution melting.

VI- Conclusion et Perspectives

Le cancer colorectal reste en Algérie un problème majeur de santé publique, tant en raison de sa fréquence que de la morbidité et la mortalité qu'il entraîne.

L'objectif de cette thèse est porté sur divers aspects, l'étude rétrospective sur dossier a permis de révéler l'intérêt de quelques marqueurs dans le dépistage et le diagnostic dans l'oncologie digestive.

Le dosage de l'ACE est surtout intéressant dans le suivi des cancers colorectaux réséqués, même si son impact sur la survie n'est pas réellement démontré. Ces marqueurs sériques peuvent aussi être utiles dans la maladie plus avancée au cours du suivi sous chimiothérapie. Leur spécificité ne permet pas souvent de remplacer le diagnostic histologique. Dans ce cadre, l'ACE et le CA19-9 ne doivent plus être utilisés en routine. Leur utilité dans un contexte de surveillance d'une tumeur opérée doit également faire l'objet d'études prospectives spécifiques tenant compte des examens complémentaires associés.

L'examen histologique topographique avec coloration hématoxyline-éosine nous a permis d'étudier des anomalies histologique et cytologique de la prolifération tumorale colorectale. Il est éventuellement complété par une étude immunohistochimique.

L'évaluation conjointe de l'expression de la CK20 et de la CK7 nous a semblé la plus discriminante. Ainsi, le phénotype $CK7^{+}/CK20^{-}$ serait très rare dans les adénocarcinomes colorectaux. À l'inverse, le phénotype $CK7^{-}/CK20^{+}$ serait fréquent, Le profil $CK7^{+}/CK20^{+}$ est en revanche observé dans un grand nombre de tumeurs et ne permet donc pas d'orientation vers un type particulier.

La mutation V600E de l'exon 15 du gène BRAF a été analysée car son intérêt est né initialement de l'hypothèse selon laquelle ces altérations génétiques pouvaient constituer, chez les patients avec tumeur KRAS ou RAS non muté, un marqueur de résistance aux anticorps anti-EGFR. Chez un nombre très réduit de patients dans notre série composée de 30 patients, deux cas ont enregistrés cette mutation rare, un statut du gène BRAF qui confère à la tumeur un très mauvais pronostic, et ce quels que soient les traitements reçus. Sa présence est associée à une nette diminution de la survie globale.

Un grand nombre d'études rétrospectives non randomisées ont été en faveur de cette hypothèse en rapportant une réduction significative de la survie et l'absence ou quasi-absence de réponse objective sous cetuximab ou panitumumab chez les patients avec tumeur KRAS sauvage/BRAF muté comparés aux patients KRAS et BRAF sauvages.

Comme perspective, l'appréhension du réseau moléculaire, responsable de ce type de cancer nécessite des études d'immunomarquage à grandes échelles, sur un grand nombre de tumeurs colorectales. Dans ce contexte, la technologie TMA "Tissue MicroArrays " se montre une alternative séduisante, aux approches classiques de l'immunohistochimie.

Par ailleurs l'essor du séquençage de nouvelle génération (Next Generation Sequencing NGS) amène de nouvelles perspectives scientifiques dans l'ensemble des affections malignes, les NGS identifient l'ensemble des anomalies génomiques (délétions, translocations, mutations) affectant le tissu malade, en s'efforçant d'identifier des mutations « druggable » susceptibles de faire l'objet de thérapeutiques ciblées comme la mutation V600E du gène BRAF.

VII- Recommandations

Rapport-Gratuit.com

Arrêter de fumer et limiter la consommation de boissons alcoolisées.

Limiter la consommation de viandes rouges à moins de 500 g par semaine. Pour compléter les apports en protéines, il est conseillé d'alterner avec des viandes blanches, du poisson, des œufs et des légumineuses.

Augmenter la consommation de fibres alimentaires : légumes verts, légumes secs et céréales peu transformées.

Augmenter la consommation de laitages : la consommation de lait étant associée de manière probable à une diminution du risque de cancer colique.

Augmenter l'activité physique.

Maintenir son poids dans les limites d'un poids normal : c'est-à-dire un indice de masse corporelle (IMC) compris entre 25 et 27 kg/m2

Le test (test Hemoccult) de dépistage est un test de recherche de sang occulte dans les selles. Ce test concerne les hommes et les femmes âgés de 50 à 74 ans à risque modéré de cancer colorectal.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

A

American Joint Committee on Cancer (*AJCC*). (2010). Classification TNM.7ème edition.

Aissi S, Buisine MP, Zerimech F, Kourda N, Moussa A, Manai M, et al. (2013). Somatic molecular changes and histo-pathological features of colorectal cancer in Tunisia. World J Gastroenterol. 19(32):5286–94.

Aliyu OA, Cullen MR, Barnett MJ, Balmes JR, Cartmel B, Redlich CA, *et al.*,(2005). Evidence for excess colorectal cancer incidence among asbestos-exposed men in the Beta-Carotene and Retinol Efficacy Trial. Am J Epidemiol. ;162(9):868–878.

Alvarez JA, Marin J, Jover JM, Fernandez R, Fradejas J, Moreno M. 1(995). Sensitivity of monoclonal antibodies to carcinoembryonic antigen, tissue polypeptide antigen, alphafetoprotein, carbohydrate antigen 50 and carbohydrate antigen 19-9 in the diagnostis of colorectal adenocarcinoma. Dis Côlon Rectum; 38 : 535-542.

American Institute for Cancer Research (AICR). (2011).

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

Arfa N, Hamdani I, Gharbi L, Ben Abid S, Ghariani B, Mannai S, Mestiri H, Khalfallah MT, Mazabi SR. (2006).« Survie et facteurs pronostiques des adénocarcinomes colorectaux : étude analytique uni- et multifactorielle de 150 cas » Annales de chirurgie.131 : 104 -111.

Ashraf M, Zhang PJ. (1999). Cytokeratin (CK) 7 expression in rectal adenocarcinoma. Mod Pathol ; 12: 187A.

Audouin J, Bain S . (2009). Immunohistochimie. DES de pathologie.

B

Barbareschi M, Murer B, Colby TV, Chilosi M, Macri E, Loda M, *et al.,* (2003). CDX2 hombox gene expression is a reliable marker of colorectal adenocarcinoma metastases to the lungs. Am J Surg Pathol. ; 27 (2) : 141-9, PubMed PMID : 12548159.

Bates B, Bickely L.S. (2014). Guide de l'examen clinique - nouvelle édition, Edition Arnette - John Libbey Eurotext ; 1040 p.

Bath X, Leclerq T. (1997). Cancer du colon. La Revue du Praticien. 47 : 1575- 1581.

Bellet D, Mlika Cabanne N, Bedenne L, Brun B, Demeaux J L, Lorimier G, *et al.,* (1997). .Marqueurs sériques dans les cancers du sein et les cancers colorectaux ANAES.

Binder-Foucard F, Belot A, Delafosse P, Remontet L, Woronoff A S, Bossard N. (2013). Estimation nationalede l'incidence et de la mortalitépar cancer en Franceentre 1980 et 2012 ; Étude à partir des registresdes cancers du réseau Francim ; Partie 1 – Tumeurs solides.

Bond CE, Umapathy A, Buttenshaw RL, Wockner L, Leggett BA, Whitehall VL. (2012). Chromosomal instability in BRAF mutant, microsatellite stable colorectal cancers. PLoS One. **7**(10).

Botteri E, Iodice S, Raimondi S, *et al.,* (2008). Cigarette smoking and adenomatous polyps: a meta-analysis, Gastroenterology, 1342p :388-395.

Bounedjar. (2012). L'association capecitabine+Irinotcan en première ligne de traitement des cancers colorectaux localement avancé et/ou métastatiques. Thèse de DEMS, Université de Saad Dahleb de Blida.

Bouvier A M, Lepage C, Faivre J. (2009). Épidémiologie des cancers du tube digestif. EMC (Elsevier Masson SAS), Gastro-entérologie . 9-000- E-12.

Bouvier AM, Bouvier V, Léone V. Côlon rectum. In Binder-Foucard F, Belot A, Delafosse P, Remontet L, Woronoff AS, Bossard N. (2013). Estimation nationale de l'incidence et de la mortalité par cancer en France entre 1980 et 2012. Partie 1 – Tumeurs solides. SaintMaurice (Fra) : Institut de veille sanitaire. 122.

Bouyry M, Rambaud JC. (2004). Tumeurs intestinales : Traité de Médecine. Edition Flammarion Médecine Science. 375 : 1439-1443.

Boyle T, Bull F, Fritschi L, Heyworth J. (2012). Resistance training and the risk of colon and rectal cancers. Cancer Causes Control. 2012 ;23(7):1091-7.

Braems C. (2012). Le syndrome de lynch : génétique, diagnostic et surveillance medicale Thèse de docteur en pharmacie, Université de Lille 2.

Buc E. (2012). Piste infectieuse et carcinogenèse colique : Implication des *Escherichia coli* associés à la muqueuse. Ecole Doctorale des Sciences de la Vie et de la Sante. Université d'Auvergne.

C

Cadi M**. (2010).** Coloscopie virtuelle. Edition Lavoisier. 133 p.

Centre International de Recherche sur le Cancer. (2002).

Cerbelaud C, Chouillet AM, Molinie F, Auffert N, Bouvier AM, Lambrail P. (2008). « Pratique de prise en charge du cancer du côlon en Loire Atlantique en l'année 2000 » Revue d'épidémiologie et de santé publique ; volume 56. Issue 5, suppl 1, page 298.

Chen CC, Hou MF, Wang JY, et al. (2006). Simultaneous detection of multiple mRNA markers CK19, CEA, c-Met, Her2/neu and hMAM with membrane array, an innovative technique with a great potential for breast cancer diagnosis. Cancer Lett; 240:279–88.

Coleman MP, Quaresma M, Berrino F, Lutz JM, De Angelis R, Capocaccia R, *et al.,* (2008).Cancer survival in five continents: a worldwide population-based study (CONCORD). Lancet Oncol 9:730-56.

Croner R S, Merkel S, Papadopoulos T. (2009). Multivisceral resection for colon carcinoma disease of the colon and rectum, pp. 52:1381-1386.

D

Damiens K, Ayoub JPM, Lemieux B, Aubin F, Saliba W, et al. (2012). Clinical features and course of brain metastases in colorectal cancer: an experience from a single institution. Current Oncology 19: 254-258.

Desbene C, Gaillard O. (2013). Caractéristiques immun analytiques de l'Antigène carcino-embryonnaire Immuno-analyse et biologie spécialisée. 28: 378-385.

Di Nicolantonio F, Martini M, Molinari F, Sartore-Bianchi A, Arena S, Saletti P, De Dosso S, Mazzucchelli L, Frattini M, Siena S, Bardelli A. (2008). Wild-type BRAF is required for response to panitumumab or cetuximab in metastatic colorectal cancer. J Clin Oncol.10;26(35):5705-12.

Didelot A, Le Corre D, Luscan A, Cazes A, Pallier K, Emile JF, Laurent-Puig P, Blons H. (2012). Competitive allele specific TaqMan PCR for KRAS, BRAF and EGFR mutation detection in clinical formalin fixed paraffin embedded samples. Exp Mol Pathol. 92(3):275–280.

Durand G, Beaudeux J L. (2011). Biochimie médicale: Marqueurs actuels et perspectives. Edition Lavoisier. 607 : 425-426 .

E

Eche N, Pichon M F, Quillien V, Gory Delabaere.G, Riedinger J M, Basuyau J P*, et al.,* (2001). Standards options and recommendations for tumor markers in colorectal cancer Bull Cancer. 88:1177-206.

El Moufid H. (2011). Resultat du traitemeent du cancer du colon localement avance A propos de 19 cas. Thèse de doctorat en médecine. Université de MOHAMMED V de Rabat.

Emma R, Cantwell-Dorris, John J. (2011). $BRAF^{V600E}$: Implication for Carcinogenesis and Molecular Therapy. Mol Cancer Ther.387 (2)385-394.

F

Fang R, Le N, Band P. (2011). Identification of occupational cancer risks in British Columbia, Canada: a population-based case-control study of 1,155 cases of colon cancer. Int J Environ Res Public Health. 8(10):3821–3843.

Farshid J, Bita G, Mitra M. (2014). BRAF Gene Mutation Analysis in Colorectal Cancer in South of Iran. Ann Colorectal Res.5 : 3-4.

Fearon E. R., Vogelstein B. (1990). A genetic model for colorectal tumorigenesis. Cell 61, 759–76710.

Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray F, GLOBOCAN. (2013). v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase N°11.

Fernandez C, Liprandi A, Bouvier-Labit C, Figarella-Branger D. (2001). Value of cytokeratin 7 and 20 for the diagnosis of cerebral metastases of adenocarcinoma: study of 78 cases. Ann Pathol.21(2):129-35.

Fillela X, Molina R, Piqué JM, Grau JJ, Garcia-Valdecasas JC, Biete A, Novell F, Astudillo E, Bordas JM, Campo E, *et al.*,(1994). CEA as a prognostic factor in colorectal cancer. Anticancer Res. 705-8.

Fumat C. (2014). Les fondamentaux de la pathologie digestive. Chapitre 4 : Côlon. Edition Elsevier- Masson. 21p : 10.

G

Gaillard O. (2001). Profils immunoanalytiques en biologie clinique : CA19-9 Immuno-analyse et biologie spécialisée .16: 244-245.

Gauchez A S, Brandi F X. (2005). Place de la biologie dans la prise en charge du cancer colorectal : Médecine Nucléaire - Imagerie fonctionnelle et métabolique. 29.

Gentilini. (2012). Médecine tropicale. 6e édition. Edition Lavoisier. 1332 p : 994

Ghaffarpour M, Mohammadi Pargoo E, Sobhani S, Pirmoradi S, Mostakhdemin Hosseini Z, Kamali F. (2011). PIK3CA and BRAF mutational status and association with clinicopathological features in Iranian colonrectal cancer patients. Cancer Res. 71(8).

Ghalek M. (2011). Etude épidémiologique, anatomopathologique et génotypique du cancer côlon dans une population de l'Ouest Algérien. Thèse de doctorat en sciences, Université d'Oran.

Goldman L, Schafer A I, Masson P L. (2013). Cecil Medicine Cancérologie. Elsevier Health Sciences. 336p : page204.

Gonzalez D, Fearfield L, Nathan P, Taniere P, Wallace A, Brown E, Harwood C, Marsden J, Whittaker S. (2013). BRAF mutation testing algorithm for vemurafenib treatment in melanoma: recommendations from an expert panel. Br J Dermatol. 168(4):700–707.

Gradilone A, Gazzaniga P, Silvestri I, Gandini O, Trasatti L, Lauro S, Frati L, Agliano AM. (2003). Detection of CK19, CK20 and EGFR mRNAs in peripheral blood of carcinoma patients: correlation with clinical stage of disease. Oncol Rep. 10(1):217–222.

Graham RA, Wang S, Catalano PJ, Haller DG. (1998). Postsurgical surveillance of colon cancer: preliminary cost analysis of physician examination, carcinoembryonic antigen testing, chest xray, and colonoscopy. Ann Surg . 228 : 59-63.

H

Hafid I. (2014). Registre hospitaliser des cancers Résultats préliminaires Du service d'anatomie pathologique Chu hassan II de fès (a propos de 9435 cas). Thèse de doctorat de spécialité en médecine. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah De Fas.

Haggar F A, Boushey R P. (2009). Colorectal Cancer Epidemiology: Incidence,Mortality, Survival, and RiskFactors; Clinics in Colon and Rectal Surgery/Volume 22, Number 4.

Harrison LE, Guillem JG, Paty P, Cohen AM. (1997). Preoperative carcinoembryonic antigen predicts outcomes in nodenegative colon cancer patients: a multivariate analysis of 572 patients. J Am Coll Surg.185 : 55-9.

Harriss, D.J, Atkinson G, Batterham A. *et al.,* (2009). Lifestyle factors and colorectal cancer risk (2): a systematic review and meta-analysis of associations with leisure-time physical activity. Colorectal Dis.11:689–701.

Heath J.W, Wheater P.R, Young B. (2008). Histologie fonctionnelle.edt Edition Boeck supérieur**.** 448p:283-285.

Hsieh LL, Er TK, Chen CC, Hsieh JS, Chang JG, Liu TC. (2012). Characteristics and prevalence of KRAS, BRAF, and PIK3CA mutations in colorectal cancer by high-resolution melting analysis in Taiwanese population. *Clin Chim Acta.* 413(19-20):1605–11.

Huang T, Karsy M, Zhuge J, Zhong M, Liu D. (2013). B-Raf and the inhibitors: from bench to bedside. J Hematol Oncol.;6(1):30.

I

Incidence des cancers à Rabat. (2012).

J

Jasik A. (2012). Cytokeratin 7 and 20, Cytokeratins - Tools in Oncology. Edition Dr. Gerhard Hamilton.

Jung M, Bae AJ, Chang JH, Suh CO, Hong SR, et al., (2011). Brain Metastases from colorectal carcinoma: prognostic factors and outcome. Journal of Neurooncology 101: 49-55.

K

Ko FC, Liu JM, Chen WS, Chiang JK, Lin TC, et al. (1999). Risk and patterns of brain metastases in colorectal cancer: 27-year experience. Diseases of the Colon & Rectum 42: 1467-1471.

Kodera Y, Nakanishi H, Ito S, *et al.,* (2005). Prognostic significance of intraperitoneal cancer cells in gastric carcinoma: detection of cytokeratin 20 mRNA in peritoneal washes, in addition to detection of carcinoembryonic antigen. Gastric Cancer. 8:142-8.

L

Lasser P. (2000). Cancer du rectum .Encycl Méd Chir, Gastro-entérologie ,9-084-A-10,23p

Lean Moore K, Dalley A F. (2001). Anatomie médicale: aspects fondamentaux et applications cliniques, Edition Boeck Supérieur. 1177p :249-255.

Leather A, Kocjan G, Savage F, Hu W, Yiu C, Boulos P *et al.,* (1994). Detection of free malignant cells in peritoneal cavity before and after resection of colorectal cancer. Dis Colon Rectum. 38 : 814-9.

Lee MJ, Lee HS, Kim WH, Choi Y, Yang M. (2003). Expression of mucins and cytokeratins in primary carcinomas of the digestive system. Mod Pathol. 16(5):403-10.

Leroy **K**, De Cremoux **P. (2014).** Anomalies moléculaires des cancers Ciblage thérapeutique. Edition John Libbey Eurotext. 285 p.

Li HT, Lu YY, An YX, Wang X, Zhao QC. (2011). KRAS, BRAF and PIK3CA mutations in human colorectal cancer: relationship with metastatic colorectal cancer. Oncol Rep. **25**(6):1691–7.

Li WQ, Kawakami K, Ruszkiewicz A, Bennett G, Moore J, Iacopetta B. (2006). BRAF mutations are associated with distinctive clinical, pathological and molecular features of colorectal cancer independently of microsatellite instability status. Mol Cancer. 5:2.

Longacre Teri A. M.D.; Fenoglio-Preiser, Cecilia M. M.D. (1990). Mixed Hyperplastic Adenomatous Polyps/Serrated Adenomas: A Distinct Form of Colorectal Neoplasia. **The** American Journal of Surgical Pathology.

Louati R , Abdelmoula Bouayed N , Boppudi S , Martin Zenker , Rebai T. *et al.,* (2017). Short fragment approach for genotyping KRAS and BRAF genes in Tunisian patients with colorectal cancer. Int J Clin Exp Med; 10(3):5160-5167.

Luevano-Gonzalez A, Guzman AQ, Ancer Rodriguez J, Ortiz Lopez R, Rojas Martinez A, Gonzalez Guerrero JF, et al., (2011). Analysis of DNA mismatch repair proteins expression and BRAF V600E mutation in a subset of early- and late-onset colorectal carcinoma patients in Mexico. Arch Med Res. **42**(6):457–62.

Lugli A, Tzankov A, Zlobec I, *et al.,* (2008). Differential diagnostic and functional role of the multi-marker phenotype CDX2/CK20/CK7 in colorectal cancer stratified by mismatch repair status. Mod Pathol. 21:1403-12.

Lüllmann-Rauch R. (2008). Histologie. Edition Boeck.704 p:402-404.

Lynch H.T. & de la Chapelle A. (2003). Hereditary Colorectal Cancer. N. Engl. J. Med. 348(10):919–932.

M

Makino T, Yamasaki M, Takeno A, *et al.,* (2009). Cytokeratins 18 and 8 are poor prognostic markers in patients with squamous cell carcinoma of the oesophagus. Br J Cancer. 101:1298-306.

Mama N, Dhifallah M, Jarrar M.S, Kadri K, Hasni I, Arifa N, Ben Slama A, Jemni H, Tlili-Graiess K. (2014). Feuillets de Radiologie : Apport du scanner dans la pathologie du carrefour iléo-cæcal. Edition Elsevier. 330 p.275-291.

Manuelle **C. (2008).** Les 5 fonctions vitales du corps humain : Anatomo-physiopathologie. Edition Lamarre. 327 p.

Meddah D, Hassini N, Ghalek M, Sahraoui T, EL KEBIR FZ. (2014). Evaluation of the incidence of colorectal cancer in the north west of Algeria. Pensee Journal. Vol 76, No. 9.

Missaoui N, Jaidaine L, Ben Abdelkader A, Beizig N, Anjorin A, Yaacoubi M T, Hmissa S. (2010). Clinicopathological Patterns of Colorectal Cancer in Tunisia. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, Vol 11.

Moll R. (1998). Cytokeratins as markers of differetiation in the diagnosisof epithelial tumors. In Herrmann, Harris, Edition. Intermediate Filament. SibcellularBiochem 31,205-61.New York, NY : Plenum Press.

N

Nagasaka T, Sasamoto H, Notohara K, Cullings HM, Takeda M, Kimura K, et al. (2004). Colorectal cancer with mutation in BRAF, KRAS, and wild-type with respect to both oncogenes showing different patterns of DNA methylation. J Clin Oncol.(22):4584–94.

Naghibalhossaini F, Hosseini HM, Mokarram P, Zamani M. (2011). High frequency of genes' promoter methylation, but lack of BRAF V600E mutation among Iranian colorectal cancer patients. Pathol Oncol Res. 17(4):819–25.

Neuville A. (2010). Carcinogenèse colique : sous-typage moléculaire des étapes précoces du cancer du colon de phénotype non-MIN. Thèse de doctorat, Université de STRASEBOURG.

Ning Y, Wang L, Giovannucci E.L. (2010). A quantitative analysis of body mass index and colorectal cancer: findings from 56 observational studies. *Obes Rev*. 11:19–30.

Norat T Bingham S, Ferrari P, Slimani N, Jenab M, Mazuir M, Overvad K, Olsen A, Tjønneland A, Clavel F, Boutron-Ruault MC, Kesse E, Boeing H, *et al.*, (2005). Meat, fish, and colorectal cancer risk: the European Prospective Investigation into cancer and nutrition. J Natl Cancer Inst. Jun 15;97(12):906-16.

O

Onodera H, Nagayama S, Tachibana T, Imamura I. (2005). Brain metastasis from colon cancer. International Journal of Colorectal Disease 20: 57-61.

Organisation Mondiale de la Santé. (2004).

P

Pande R, Sunga A, LeVea C, Wilding GE, *et al.*, (2008). Significance of Signet- Ring Cells in Patient with Colorectal Cancer. Dis Colon Rectum. Vol 51 : 50-51.

Rapport-Gratuit.com

Park DH, Kim HS, *et al*. (2008). Clinicopathologic characteristics and malignant potentiel of colorectal flat neoplasia compared with that of polypoid neoplasia. Dis Colon Rectum. 51(1) : 43-9.

Park SY, Kim HS, Hong EK, Kim WH. (2002). Expression of cytokeratins 7 and 20 in primary carcinomas of the stomach and colorectum and their value in the differential diagnosis of metastatic carcinomas to the ovary. Hum Pathol. 33(11):1078-85.

Perez PL, Saule R. (2002). multivisceral resection for colon cancer. journal of surgical oncology, pp. 80:100-104.

Peters BH, Peters JM, Kuhn C, Zöller J, Franke WW. (1995). Maintenance of cell-type-specific cytoskeletal character in epithelial cells out of epithelial context: cytokeratins and other cytoskeletal proteins in the rests of Malassez of the periodontal ligament. Differentiation. 59(2):113-26.

Phelip J M, Clavel L, Rinaldi L. (2013). Les marqueurs sanguins tumoraux en cancerologie digestive. HEPATO-GASTRO et Oncologie digestive vol. 20 n°8. 641- 648.

Plan nationale de cancer. (2014).

R

Rajagopalan H., Bardelli A., Lengauer C., Kinzler K.W., Vogelstein B., Velculescu V.E .(2002). Tumorigenesis: RAF/RAS oncogenes and mismatch-repair status. Nature. PubMed 418:934.

Registre Des Cancers NORD-TUNISIE 2004-2006.

Registre Du Cancer d'Oran. (2014). XVI^{ème} journées.

Registre Du Cancer de Tizi-Ouzou. (2008).

Registre Du Cancer à Rabat, 2012

Rougier P, Dancourt V, Faivre J, Dromain C, Ducreux M, Lievre A, *et al.,* (2004). Monographie : cancers du côlon et du rectum. Rev Prat.54 (2) : 133-83.

Rougier P, Mitry E, Dominguez S, Taieb J. (2006). Les cancers digestifs. Edition Springer Science & Business Media. 381 p : 131.

Rowe VL, Forest DB, Huang S. (1997). Extended resection for locally advanced colorectal carcinoma.., annals of surgical oncology, pp. 4(2):131-136.

S

Saad RS, Silverman JF, Khalifa MA, Rowsel C. (2009).CDX2, cytokeratin 7 and 20 immunoreactivity in rectal adenocarcinoma. Appl Immunohistochem Mol Morphol 17: 196–201.

Sadouni H. (2008). Le cancer colorectal: Chimioprevention nutritionnelle et pharmacologique par les inhibiteurs de cyclooxygenases. Thèse de doctorat en Pharmacie, Université de Mohamed V de RABAT.

Samowitz WS, Sweeney C, Herrick J, et al. (2005). Poor survival associated with the BRAF V600E mutation in microsatellite-stable colon cancers. Cancer Res.; 65(14):6063–6069.

Sawyer EJ., Cerar A, Hanby AM, Gorman P, Arends M, Talbot IC, Tomlinson IP. (2002). Molecular characteristics of serrated adenomas of the colorectum. Gut, 51, 200-6.

Sedkaoui C. (2015). Chimiothérapie et thérapie ciblée dans le cancer colorectal métastatique. Thèse de doctorat, Université de Mouloud Mammeri de TIZI-OUZOU.

Seifert G. (2012). Morphological Tumor Markers: General Aspects and Diagnostic Relevance. Edition Springer Science & Business Media. 398p : 72-74.

Shen C, Hu L, Xia L, et al. (2008). Quantitative Real-time RT–PCR Detection for Survivin, CK20 and CEA in Peripheral Blood of Colorectal Cancer Patients. Jpn J Clin Oncol; 38:770–776.

Simons CC, Hughes LA, van Engeland M, Goldbohm RA, van den Brandt PA, Weijenberg MP.(2013). Physical activity, occupational sitting time, and colorectal cancer risk in the Netherlands cohort study. Am J Epidemiol. 15; 177(6):514-30.

Stevens A, Lowe J. (1997). Histologie humaine. De Boeck Supérieur, 416 p.

Sugihara K, Uetake H. (2012). Therapeutic strategies for hepatic metastasis of colorectal cancer: overview. J HepatoBiliary Pancreat Sci.;19:523-7.

Suissa M. (2011). Coloscopie virtuelle. Edition Elsevier Health Sciences France, 88 pages.

Svrcek M, Cervera P, Hamelin R, Lascols O, Duval A et Fléjou J-F. (2011). Cancer colorectal : les nouveaux rôles du pathologiste à l'ère de la biologie moléculaire et des thérapies « ciblées ». Rev. Franco. Labo 428. 29-41.

T

Tamura N, Iinuma H, Takada T. (2007). Prospective study of the quantitative carcinoembryonic antigen and cytokeratin 20 mRNA detection in peritoneal washes to predict peritoneal recurrence in gastric carcinoma patients. Oncol Rep. 17:667-72.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

Tomoya Y. (2012). Are KRAS/BRAF Mutations Potent Prognostic and/or Predictive Biomarkers in Colorectal Cancers?. Anticancer Agents Med Chem, 12(2): 163–171.

Tot T. (1999). Adenocarcinomas metastatic to the liver. Cancer. 85:171–177.

Tot, T. (2002). Cytokeratins 20 and 7 as biomarkers: usefulness in discriminating primary from metastatic adenocarcinoma. European Journal of Cancer, Vol.38, No.6, pp.758- 763.

Tubiana-Hulin M, De Maulmont C, Guinebretière JM Bone. (2008). Stratégie de prise en charge des métastases osseuses révélatrices Diagnostic management of inaugurable bone metastases, édition Elsevier Masson, 75: 332-338.

Turnbull GK, Vanner SJ, Burnstein. (2005). Le côlon. Dans: Principes fondamentaux de gastroentérologie. Archambeault A, Beaudry R, Paré P et coll (réd), 5e édition. Association canadienne de gastro-entérologie.

U

Union internationale contre le cancer (*UICC*). (2010). Classification TNM. 7ème edition.

V

Viens P, Reiffers J. (2011). Les cibles intracytoplasmiques. Edition John Libbey Eurotext 95 p.

Viguier J, Karsenti D, Danquechin Dorval E, Bourlier P, Calan L. (2003). Cancer du côlon. EMC (Elsevier Masson SAS), Gastro-entérologie, 9-068-A-10.

Vilgrain V, RÉGENT **D. (2010).** Imagerie de l'abdomen. Edition Lavoisier, 1082 p :766-767.

W

Wang JY, Wu CH, Lu CY, et al. (2006). Molecular detection of circulating tumor cells in the peripheral blood of patients with colorectal cancer using RT-PCR: significance of the prediction of postoperative metastasis. World J Surg; 30:1007–13.

Weisenberger DJ, Siegmund KD, Campan M, Young J, Long TI, Faasse MA, Kang GH, Widschwendter M, Weener D, Buchanan D, et al. (2006). CpG island methylator phenotype underlies sporadic microsatellite instability and is tightly associated with BRAF mutation in colorectal cancer. Nature Genetics.38:787–793.

Wheater P. R, Young B, O'Dowd Ge, Woodford P. (2015). Atlas d'histologie fonctionnelle de Wheater, édition De Boeck Superieur, 2015 - 455 pages : 284.

World Cancer Research Fund, American Institute for Cancer Research. Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. Washington DC: AICR**. (2007).**

X

Xu D, Li XF, Zheng S, et al. (2006). Quantitative real-time RT-PCR detection for CEA, CK20 and CK19 mRNA in peripheral blood of colorectal cancer patients. J Zhejiang Univ Sci B; 7:445–51.

Y

Yeh CS, Wang JY, Wu CH, *et al.,* (2006).Molecular detection of circulating cancer cells in the peripheral blood of patients with colorectal cancer by using membrane array with a multiple mRNA marker panel. Int J Oncol. 28:411-20.

Yip WK, Choo CW, Leong VC, Leong PP, Jabar MF, Seow HF. (2013). Molecular alterations of Ras-Raf-mitogen-activated protein kinase and phosphatidylinositol 3-kinase-Akt signaling pathways in colorectal cancers from a tertiary hospital at Kuala Lumpur, Malaysia. APMIS. 121(10):954-66.

Yun SH,. Yun HR, Leea WS, Choa Y B, Leea , Chun H K. (2008). The clinical outcome and prognostic factors after multi-visceral resection for advanced colon cancer. séoul,république de corée : sumsung medical center,sungkynkwan university school of medecine.

Z

Zhang PJ, Shah M, Spiegel GW, Brooks JJ. (2003). Cytokeratin 7 immunoreactivity in rectal adenocarcinomas.

Zeng Z, Cohen AM, Urmacher C. (1993). Usefulness of carcinoembryonic antigen monitoring despite normal preoperative values in node-positive colon cancer patients. Dis Colon Rectum. 36 : 1063-8.

ANNEXES

Consentement éclairée

Je soussigné(e) (nom et prénom du patient),

Née le :……..…..à……..

Accepte de participer aux études : **Aspect histologique, immunohistochimique et moléculaire du cancer colorectal et Implication de la nutrition et du stress oxydatif dans la survenue du cancer colorectal dans la région de l'Oranie.**

Les objectifs et modalités de l'étude m'ont été clairement expliqués par le Dr (nom et prénom du Biologiste).

J'ai lu et compris la fiche d'information qui m'a été remise.

J'accepte que les documents de mon dossier médical qui se rapportent à l'étude puissent être accessibles aux responsables de l'étude, J'accepte que les données me concernant recueillies au sein du service d'hospitalisation et dans les laboratoires médicaux soit exploiter.

J'ai bien compris que ma participation à l'étude est volontaire. Je suis libre d'accepter ou de refuser de participer, et je suis libre d'arrêter à tout moment ma participation en cours d'étude. Cela n'influencera pas la qualité des soins qui me seront prodigués.

Après en avoir discuté et avoir obtenu la réponse à toutes mes questions, j'accepte librement et volontairement de participer à la recherche qui m'est proposée.

Fait à Oran ……,

Le : ……

Signature du sujet

Tableau : Fiche de renseignement des patients étudiés.

<table>
<tr>
<td>

Généralités :

- Numéro du dossier :
- Nom : ----------
- Prénom : ----------
- Etat civil : ----------
- Sexe : féminin ☐ masculin ☐
- Date de naissance : ----------
- Poids , Taille
- Groupe sanguin
- Âge de découverte de la maladie.
- Evaluation des marqueurs sériques (ACE, CA19-9)

</td>
<td>

Es que vous faites du sport?

Type du régime alimentaire ?

Vous prenez combien de temps pour manger ?

Antécédents médicaux et familiaux :

Etes-vous atteinte d'une autre maladie ? Traitement ?

Des personnes de votre famille ont-elles eu un cancer ou une tumeur bénigne ?

- Oui ☐ non ☐ ne sait pas ☐
- Si oui, quel type de cancer (sein, poumon,….) et chez qui est-il survenu (mère, grand-père,…) ?

</td>
</tr>
<tr>
<td colspan="2">

Paramètres anatomopathologiques :

- Organe et localisation : Stade (TNM) : Histologie :
- Y'a-t-il des métastases ? Organe ?
- Chimiothérapie :

</td>
</tr>
</table>

Préparation des différentes solutions pour histologie et immunohistochimie

Solution albumineuse (100ml)

Solution	Valeur et quantité
Albumine d'œuf	1g
Eau distillée	100 ml

- **Hématoxyline**

  Porter à ébullition un litre d'une solution saturée d'alun de potassium (Merck 1047) dans l'eau distillée.

  Retirer de la source de chaleur et ajouter par petite dose 3g d'Hématein standard Fluka.

  Laisse bouillir,

  Refroidir ;

  Filtrer et ajouter 20 ml d'acide acétique glacial (Merck 60) ;

  Toujours filtrer avant l'emploie.

Hématoxyline (100ml)

Solution	Valeur et quantité
Solution (a)	
Hématoxyline	0,5g
Ethanol absolue	5ml
Solution (b)	
Alain de K	10g
Eau distillée	100ml
Oxyde de mercure	0 ,25g
Acide acétique gacial	2ml (pour conserver)
Solution (a)+(b)	

Eosine B (100 ml)	
Solution	**Valeur et quantité**
Eosine B	1g
Ethanol 70°	100 ml

- **Ethanol- Hcl**

  Alcool éthylique 95° dénaturé à l'éther 100ml, acide chlorhydrique fumant (Merck 317) 0,4 ml.

- **Phloxine**

  Phloxine B à 5% dans de l'eau distillée

- **Acide phosphotungstique** (Merck) 5g dans 100 ml d'eau distillée.

- **Vert lumière**

  Dissoudre 1g de light green SF yellowish (National Aniline Division) dans 100 ml d'eau acitifiée à 1%.

  Diluer 10 fois la solution à l'emploi.

- **Eau acétifiée**

  1 ml d'acide acétique dans 99ml d'eau distillée.

- **Tampon Phosphate (PBS Buffer)**

1. Dissoudre le mélange dans 800ml d'eau distillée.
    - 8g de NaCl (Biochem, Chemopharma)
    - 0.2g de KCl (Biochem, Chemopharma)
    - 1.44g de Na_2HPO_4 (Normapur, Prolabo)
    - 0.24g de KH_2PO_4 (Rectapur, Prolabo)
2. Ajuster le pH to 7.4 avec du HCl (Cheminova).
3. Ajuster le à 1000 ml en aoutant de l'eau distillée.
4. Stériliser la solution dans un autoclave.

- **Tampon citrate (10mM acide citrique, 0.05% Tween 20, pH 9.0)**

Acide citrique anhydre (anhydrous) (Janssen Chimica) ---------- 1.92 g

Eau distillée ---------- 1000 ml

1. Mélanger pour dissoudre.
2. Ajuster le pH to 9.0 avec 1N NaOH puis
3. Ajouter 0.5 ml de Tween 20 et bien mélanger.
4. Conserver cette solution à température ambiante pendant 3 mois ou à 4 C° pour une période plus longue.

Journal of Cancer Therapy, 2017, 8, 26-36
Published: January 16, 2017. http://www.scirp.org/journal/jct,
http://dx.doi.org/10.4236/jct.2017.81003

Colorectal Cancer: Epidemiological Study, Clinical, Histological and Immunohistochemistry Examination in Patient of West Algeria

F. Z. Bensaada*, H. Ould Cadi, T. Sahraoui, F. Z. El Kebir Laboratory of Biology of Development and Differanciation, Department of Biology, Faculty of Natural Science and Life, University of Oran 1 (Ahmed Benbella), Oran, Algérie

Received: November 10, 2016, Accepted: January 13, 2017, Published: January 16, 2017
Copyright © 2017 by authors and Scientific Research Publishing Inc. This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

Présentation de l'article

Données bibliographiques et objectif du travail

Dans le monde, le nombre de nouveaux cas de cancer colorectal a été estimé à 1,4 million en 2012. Cela montre une augmentation relative de l'incidence de ces cancers. Pour cette période, par sa fréquence, le CCR est classé troisième chez les hommes avec 746 000 nouveaux cas et le deuxième chez les femmes avec 614 000 nouveaux cas.

En Algérie, l'incidence du cancer colorectal est de 3380 cas / an, il est soit 8,9% en deuxième position après le cancer du sein (8177 cas / année 21,6%). C'est le deuxième cancer chez l'homme (1690 cas ou 10,3%) après le cancer du poumon.

Le taux de survie à cinq ans dans le cancer colorectal est d'environ 60% - 95% dans les premiers stades et diminue de façon spectaculaire à 35% dans les stades où les métastases ganglionnaires sont détectées.

Ces statistiques sont flagrantes car le cancer est une malignité bien étudiée, qui a une progression lente, facteurs de risque connus et lésions pré-néoplasiques pouvant être détectés et traités.

Comme les symptômes et les signes d'alerte sont tardifs, les néoplasmes colorectaux sont découverts le plus souvent à des stades avancés, ce qui réduit considérablement les chances de l'application d'un traitement curatif radical. Par conséquent, il est nécessaire d'introduire des mesures pour le dépistage du cancer colorectal.

Rapport-Gratuit.com

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'état histologique et immunohistochimique des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique.

Résultats obtenus

Dans notre série, nous avons remarqué que le risque du cancer colorectal augmente avec l'âge. Le patient le plus jeune du groupe était de 23 ans (tumeur rectal) et le plus âgé était de 81 ans (adénocarcinome du bas rectum).

Sur le plan histologique, toutes les tumeurs étudiées sont de type adénocarcinome. Ces formes carcinomateuses se distinguaient en adénocarcinomes Lieberkühniens, adénocarcinome mucineux et carcinome en bague à chaton.

À propos des degrés de différentiations, les adénocarcinomes bien différenciés sont majoritaires suivi des moyennement différenciés et les peu différenciés.

Concernant les stades des cancers colorectaux étudiés, les données cliniques ont permis de noter que plus de la moitié des patients étaient diagnostiqués au stade III et IV.

Dans notre série, nous avons observé que l'immunomarquage cytokératines 7 et 20 des adénocarcinomes colorectaux est souvent positif pour la cytokératine 20 et la plupart du temps négatif pour la cytokératine 7.

Conclusion

En conclusion, nous remarquons que les hommes sont un peu plus affectés par les cancers colorectaux que les femmes. La majorité des cancers colorectaux se trouve dans la plus basse partie (côlon gauche et rectum). L'analyse histologique a montrée que le type le plus fréquent observé est l'adénocarcinome Lieberkühnien, plus de la moitié des patients ont été diagnostiqués à des stades avancés stade III et IV.

L'immunohistochimie avec les cytokératines 7 et 20 aide à mieux connaître l'origine des adénocarcinomes métastatiques, dans notre étude, nous avons constaté que plus de 20% des patients avec ck20 + / ck7- phénotype avait une métastase hépatique et un cancer primaire colique.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

Scientific Research Publishing

Journal of Cancer Therapy, 2017, 8, 26-36
http://www.scirp.org/journal/jct
ISSN Online: 2151-1942
ISSN Print: 2151-1934

Colorectal Cancer: Epidemiological Study, Clinical, Histological and Immunohistochemistry Examination in Patient of West Algeria

F. Z. Bensaada*, H. Ould Cadi, T. Sahraoui, F. Z. El Kebir

Laboratory of Biology of Development and Differanciation, Department of Biology, Faculty of Natural Science and Life, University of Oran 1 (Ahmed Benbella), Oran, Algeria
Email: *fatimazbenbou@gmail.com

How to cite this paper: Bensaada, F.Z., Cadi, H.O., Sahraoui, T. and El Kebir, F.Z. (2017) Colorectal Cancer: Epidemiological Study, Clinical, Histological and Immunohistochemistry Examination in Patient of West Algeria. *Journal of Cancer Therapy*, **8**, 26-36.
http://dx.doi.org/10.4236/jct.2017.81003

Received: November 10, 2016
Accepted: January 13, 2017
Published: January 16, 2017

Copyright © 2017 by authors and Scientific Research Publishing Inc.
This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).
http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/

Open Access

Abstract

Colorectal cancer (CRC) is significant publichealth problem in rich countries of the world, because of its frequency and mostly because of its severity. Our aim was to improve histologic diagnosis of malignancy with topographic coloration (HE) and cytokeratins 7, 20 immuno-labeling. The risk for colorectal cancer incease with age, but in our series, 10% of colorectal cancer exist in patients younger than 40 years old. In histological study, adenocarcinoma represented 100% and the evaluation for stage of disease showed that the most dominant isstage IV (32.6%). In our trial, we found that cytokeratins 7 and 20 immunoreactivity in colorectal adenocarcinoma are often positive for cytokeratin-20 and most of time negative for cytokeratin-7.

Keywords

Adenocarcinoma, Colorectal Cancer (CRC), Cytokeratin (7, 20)

1. Introduction

Worldwide, the number of new cases of colorectal cancer was estimated at 1.4 million in 2012. This shows a relative increase in the incidence of these cancers. For this period by its frequency,CRC arranged third in men with 746,000 new cases and second in women with 614,000 new cases [1].

In Algeria, the incidence of colorectal cancer (3380 cases/year, or 8.9%) is in second place after breast cancer (8177 cases/year 21.6%). It is the second cancer in humans (1690 cases or 10.3%) after lung cancer [2].

Five-year survival rate in colorectal cancer is about 60% - 95% in the initial stages and decreases dramatically to 35% in stages where lymph node metastases are detected [3]. These statistics are baleful because cancer is a well-studied malignity, which has a slow progression, known risk factors and pre-neoplastic lesions that can be detected

and treated [4]. Because the warning symptoms and signs are belated, colorectal neoplasm is found most often in the later stages, which drastically reduces the chances of applying radical curative treatment. Hence, the need is to introduce measures for colorectal cancer screening [5] and a better management of patients with this type of neoplasia. The aim of this study is to evaluate histological and immunohistochemical status of patients with metastatic colorectal cancer.

2. Patients and Methods

The statstical test included 166 colorectal cancer patients hospitalized in the Medical Oncologie Service in Oran University Hospital Center (CHUO), between January 2013 and Febrary 2016, aged between 25 and 80 years.

The data were recorded in clinical observation sheet of each patient.Clinical and laboratory data were entered into a Microsoft Excel database for statistical processing. With the program functions or averaged variables, confidence intervals, standard significance tests were performed comparing the data series. The statistical significance of the values was considered as $p < 0.05$.

For the histopathology study, there were surgically taken fragments of tumor tissue, which were fixed in 10% buffered formalin for 48 - 72 hours and processed for histological techniques including the classic paraffin. Paraffin-included samples were cut using the microtome in 4-µm sections and then stained with Hematoxylin-Eosin. Immunohistochemical study aimed to label abnormal intestinal epithelium cells. For immunohistochemical study of paraffin-included material, we selected a total of 30 cases of colorectal adenocarcinomas. Since the histological sections were made of 3-µm thickness, biological material was collected on slides superfrost ultra plus, after which they were kept in thermostat at 37˚C for 24 hours to increase the adhesion of biological material. Following deparaffination and hydration of the histological sections, We pre-heat steamer or water bath with staining dish containing Sodium Citrate Buffer or Citrate Buffer until temperature reaches 95˚C - 100˚C, immerse slides in the staining dish. Place the lid loosely on the staining dish and incubate for 20 - 40 minutes (optimal incubation time should be determined by user). Washed in tap water before being cooked in citrate pH 6 solution for 20 minutes to expose the antigen. After boiling, the solution was washed using phosphate-buffered saline (PBS).The sections were incubated with primary antibodies overnight, at 4˚C, and the next day the signal was amplified for 30 minutes using the secondary antibody immpact DAB peroxidase substrate (EnVision, Dako). The signal was detected with 3,3'-Diaminobenzidine (DAB, Dako). For immunohistochemical study, we used the antibodies found in Table 1 below.

Table 1. Antibodies used in the study.

Antibody	Producer	Clone	Clonality	Unmasking	Dilution
Cytokeratin7	Dako	OV-TL 12/30	Ms Monoclonal	Sodium citrate, pH 6	1:200
Cytokeratin20	Dako	Ks20.8	Ms Monoclonal	Sodium citrate, pH 6	1:200

Ms—mouse.

3. Results

In our series, the risck of most of types of malignancies in colorectal cancer increases by age. The youngest patient in the group was 23 years (diagnosed withrectal villous tumor), and the oldest was 81 years (diagnosed with lower rectal adénocarcinoma) (Figure 1 & Figure 2).

Concerning the evolutionary stage of studied colorectal cancers, clinical, laboratory and intraoperative data allowed us to note that out of the 166 tumors, 12 (7.41%) have been diagnosed in stage I, 47 (28.14%) in stage II to stage III, 53 (31.85%), and 54 (32.6%) in stage IV (Table 2).

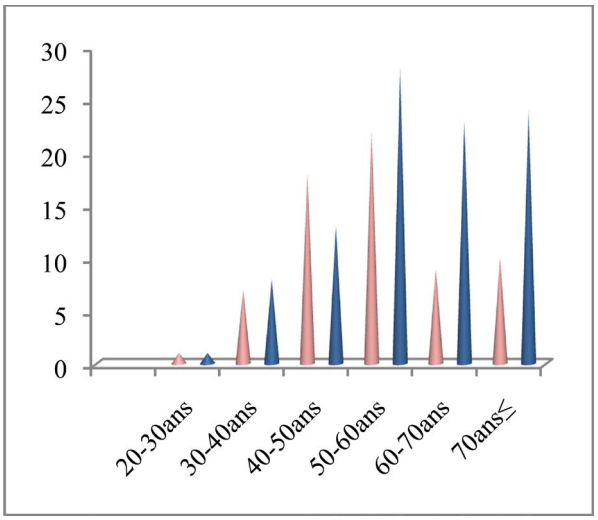

Figure 1. Distribution of patients by age.

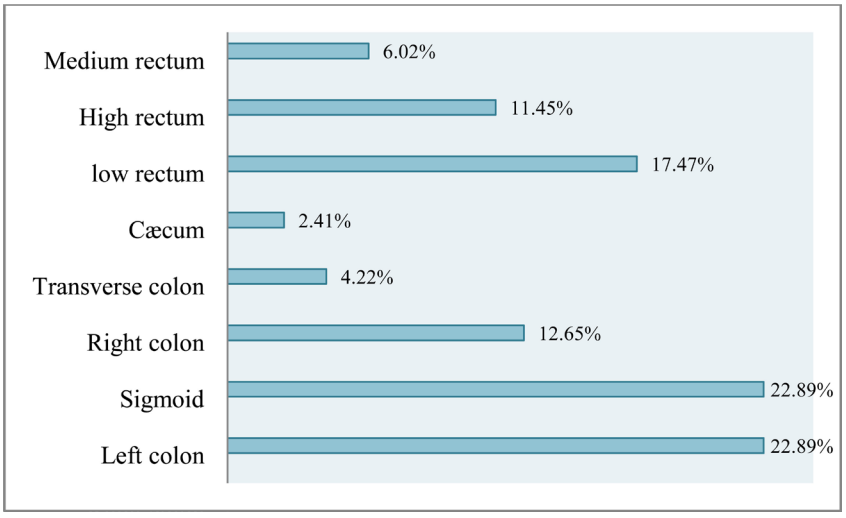

Figure 2. Topographic distribution of the studied group.

Table 2. Evolutionarystage of the colorectal adenocarcinome studied group.

Stages	I	II	III	IV
Patient Number	12	47	53	54
(%)	7.41	28.14	31.85	32.6

Histopathological study showed that out of 166 cases of colorectal cancer, 166 (100%) cases were adenocarcinomas. Regarding the adenocarcinomas, 143 (86.4%) cases were Lieberkuhnian adenocarcinomas, 20 (12.24%) cases were diagnosed as mucinous adenocarcinomas and 3 (1.36%) patients were represented by the "signet ring cell" carcinomas. Regarding the degree of cell differentiation, out of the 143 adenocarcinomas, a number of 110 (66.43%) were well-differentiated adenocarcinomas, 28 (16.43%) were moderately differentiated, and 5 (2.86%) cases were poorly differentiated adenocarcinomas.

For histopathological and immunohistochemical study we have choose30 specimens from the archives of the Privat Laboratory (A. KORSO) of Pathology of pure adenocarcinomas of the colon processed to paraffin from as many patients, that were operated in the General Surgery (CHU and EHU). we selected cases of pure adenocarcinoma because they represented more than 3/4 of operated colorectal tumors. Histopathological and immunohistochemical aspects varied greatly from one tumor to another. In all tumor types, concerning of the degree of differentiation we have observed many mitoses, including atypical mitotic figures.

The well-differentiated adenocarcinomas were all shown to contain immature mucous cell in varying proportions and cells with abundant microvilli (Figure 3(a) and Figure 3(b)). In moderately differentiated adenocarcinoma, we observed unequivocal intracytoplasmic mucin vacuoles, cellular and nuclear atypia were more numerous (Figure 4). The most extensive cellular changes occurred in poorly differentiated adenocarcinomas, generally composed of sheets of undifferentiated cells (Figure 5).

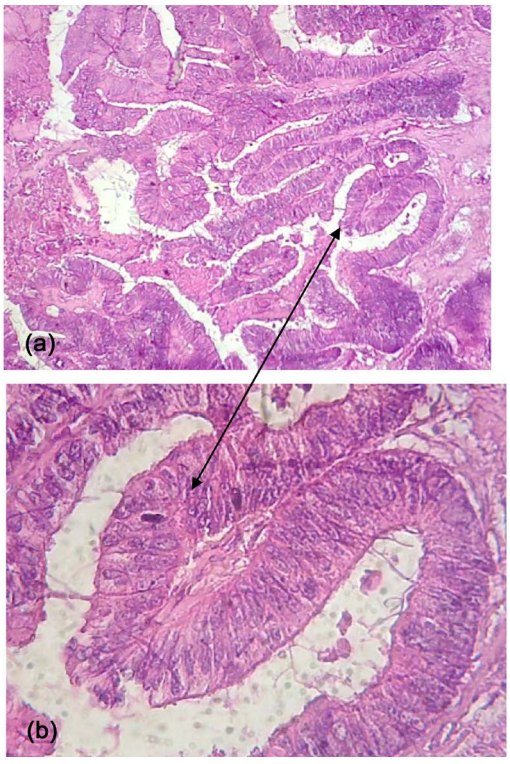

Figure 3. (a) Colon adenocarcinoma infiltrating in the mucous tunic. Hematoxylin-Eosin staining, 10×; (b) Well-differentiated adenocarcinoma with polymorphic epithelium, partially pseudostratified, which delineates large, irregular lumen glands filled with tumor, inflammatory or partially degraded cells. Hematoxylin-Eosin staining, 40×.

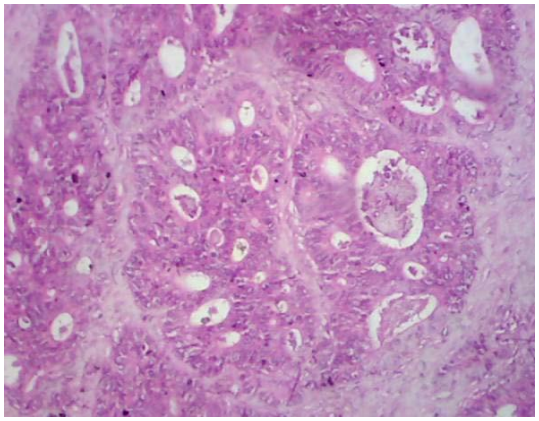

Figure 4. Image of moderately differentiated colon adenocarcinoma. Hematoxylin-Eosin staining, 10×.

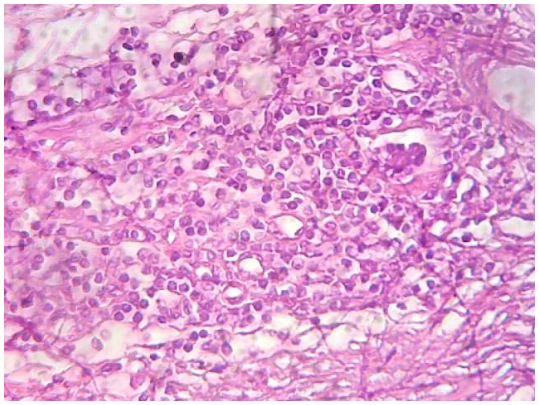

Figure 5. Image of poorly differentiated adenocarcinoma associated with moderate inflammatory reaction, 40×.

Interpretation of immunohistochemical reactions focused primarily over highlighting the chromogen on the antigenic targets and the number of positive tumor cells. Thus, if no cell has been immunohistochemically labeled, we considered an absent reaction; if the reaction was positive in less than 10% of examined cells with a microscope objective of 20×, we considered a poor response; if they were positive in 10% to 25% of the cells, we considered a moderate reaction reaction, and if it was positive in more than 25%, we have found that the reaction was intense.

Several panels of immunohistochemical markers have been developed to allow for recognition of patterns suggestive of specific tumor types. One such immunohistochemical phenotype charachterized by markers commonly seen in colon cancer is inceasingly being recognized as a distinct favorable subset of cancer of unknown primary (CUP). We investigated the expressions of CK7 and CK20 in 30 cases of colorectal carcinoma [6] (**Figures 6-10**).

4. Discussion

The colorectal cancer deaths rates have dropped significantly in the past couple of decades. The death rate (the number of deaths per 100,000 people per year) of colorectal cancer isdecreasing,presumably through increased colorectal cancer screening [7]. In UK

theincidence by age stratification is 4 cases/100,000 for people under the age of 50, 100 cases/100,000 for those aged 50 - 69 and 300 cases/100,000 for those over the age of 70, same result are obtained in our study where the incidence rate of CRC has increased solely in people over 50 years, something [8], overall it growth dramatically after 40 years in patients in urban areas and those in rural areas [9]. which suggests that colorectal cancer typically results from a complex interaction between genetic and environmental influences.

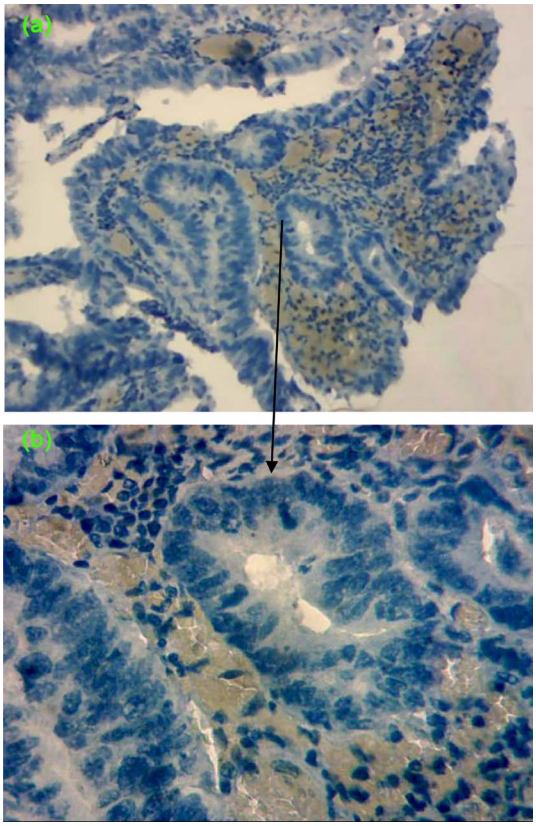

Figure 6. Well-differentiated adenocarcinoma with intense reaction to CK20. Anti-CK20 antibody immunostaining (a) 10×, (b) 40×.

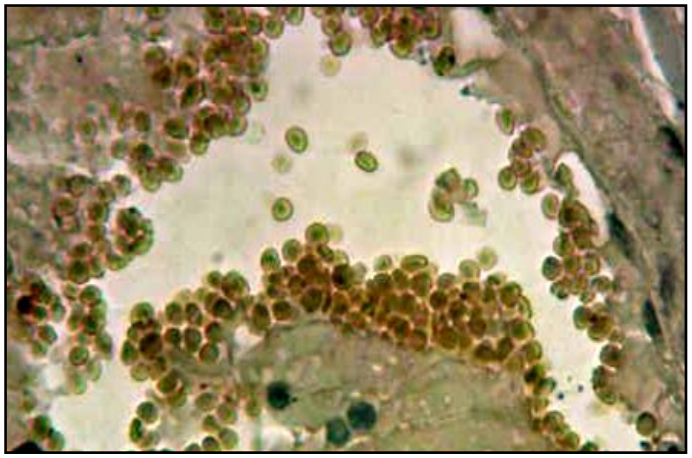

Figure 7. Poorly differentiated adenocarcinoma with moderate reaction to CK20. Anti-CK20 antibody immunostaining, 40×.

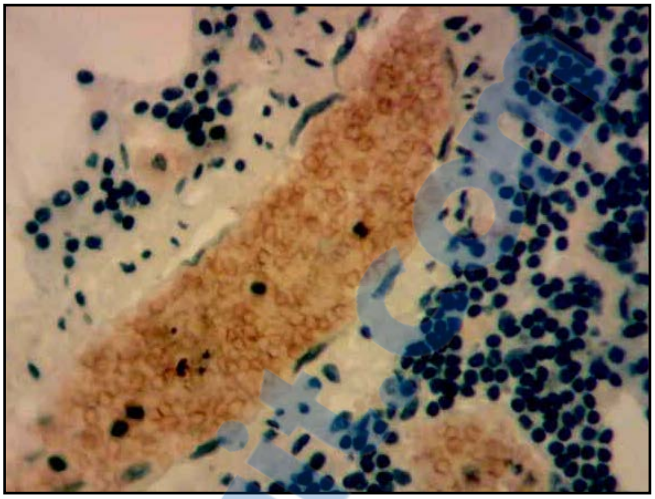

Figure 8. Mucinous adenocarcinoma with moderate reaction to CK20. Anti-CK20 antibody immunostaining, 40×.

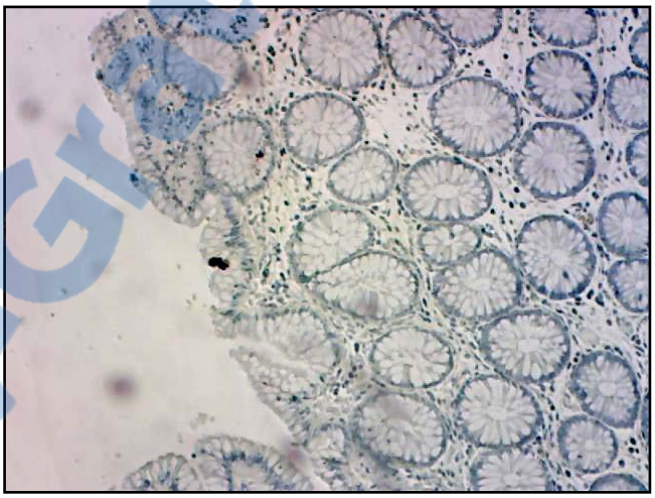

Figure 9. Normalcolonic mucosa showed negative staining to CK7. AntiCK7 immunostaining 100×.

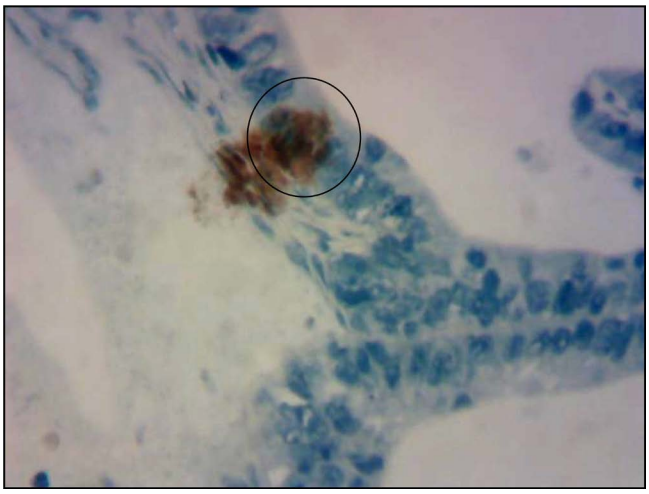

Figure 10. Well-differentiated adenocarcinoma with Weak reaction to CK7. Anti-CK7 antibody immunostaining 40×.

Rapport-Gratuit.com

Investigations have shown that DNA damage and somatic mutations occur during cancer progression in humans. [10]. In humans mucus production and composition changes with age [11]. All these data highlights the complex nature of malignant degeneration in the colon and the importance of age as a risk factor in the development of this cancer.

The difference in sex of patients with colorectal cancer, was not statistically significant. Of 166 patients with colorectal cancer, 68 (41%) were females and 98 (59%) males, According to some scientists the difference of incidence of such disease has to do with gender [12] [13] [14] [15].

In our study, tumor localization was predominant in the colon if we compare it with the segments of rectum. Two-third of colorectal cancer occur in the left colon and one-third in right colon, although women more often develop right-sided tumors. About of 20% of colorectal cancers develop in the rectum [16].

Regarding the tumor stage, we found that over 60% of patient in our series were diagnosed with stage III and IV tumors. 21% of colorectal cancers are diagnosed late, but behind time diagnosis is more common among some sociodemographic groups than others.It is distinctly clear that people living in areas with high proportion of poverty and unemployment have their colorectal cancer diagnosed at a late stage by comparing them with those living in other areas. Other authors have reported similar dataIn a study in Tunisia,analyzing a number of 280 colorectal cancers diagnosed, found that 25% were found to have stage I/II disease, 52.5% stage III and 22.5% with stage IV cancer [17].

Tumor grade refers to themicroscopic appearence of a malignancy of a predetermined class and histologic type and the mesure to wich it resembles the tissue of origin. In our series, more than halfof the tumors were classified as well-differentiated adenocarcinoma.

By against to some authors, moderately differentiated adenocarcinoma of the colon and rectum cancers can reach up to 70% [18].

The identification of the metastatic carcinoma of unrevealedsource can be very difficult. The determination of the primary site of the metastasis is a challenge to one and the other oncologists and pathologists, having conceivably important clinical and therapeutic consequences [19] [20]. Analysis of the expression pattern of CK7 and CK20 can give the clinician a suggestion of the origin of the tumor [11] [21].

Differential cytokeratin expression may be of use with intestinal tumours showing a different profile (Cytokeratin 20 positive/7 negative).

Normal epithelium of the small bowel, appendix and colorectum, and adenocarcinomas from these sites, are almost consistently CK7−/CK20+, helping to distinguish these adenocarcinomas from adenocarcinomas of many other primary sites [22] [23].

The CK7−/CK20+ pattern was identified in 65% to 95% of the colorectal adenocarcinomas in different series [9] [24] [25] [26] [27]. The CK7−/CK20+ immunopheno type was expressed by 20 (66.66%) colorectal tumors, CK7+/CK20− 7 (23.33%)and CK7+/CK20+ 3 (10%) in the present study. Therefore by colonic epithelial tumors. Interestingly, several reports have described CK7 expression in colorectal adenocarcinoma, with expression ranging from 5% to 74% [9] [24] [25] [26] [27].

CK20 reactivity was diffuse (more than 50% of cells were positive) in our cases and in

the majority of colorectal carcinoma cases and mainly focal (<50% ofcells were positive) in gastric and pancreatic adenocarcinomas as in previous studies [25] [26] [27] [28].

5. Conclusion

In conclusion, colorectal cancer is affecting together women and men in relatively equal proportions. Most cancers were recorded in the left colon. More than half of the patients were staged III and IV at first admission. The histopathological study showed that about 100% of colorectal neoplasms were adenocarcinomas, frequently with well differentiation. Immunohistochemistry for CK7 and CK 20 help differentiate primary colorectal adénocarcinoma from metastasis. In our study, we found that more than 20% of patients with ck20+/ck7− phenotype had hepatic metastasis.

References

[1] Ferlay, J., Soerjomataram, I., Ervik, M., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M., Parkin, D.M., Forman, D. and Bray, F. (2014) GLOBOCAN 2012 v1.1, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. International Agency for Research on Cancer, Lyon. http://globocan.iarc.fr

[2] Sedkaoui, C. (2015) Chemotherapy and Targeted Therapy in Metastatic Colorectal Cancer. Doctoral Thesis.

[3] Kanthan, R., Senger, J.L. and Kanthan, S.C. (2012) Molecular Events in Primary and Metastatic Colorectal Carcinoma: A Review. *Pathology Research International*, **2012**, Article ID: 597497.

[4] Worthley, D.L. and Leggett, B.A. (2010) Colorectal Cancer: Molecular Features and Clinical Opportunities. *The Clinical Biochemist Reviews*, **31**, 31-38.

[5] Tinmouth, J., Baxter, N.N., Paszat, L.F., Rabeneck, L., Sutradhar, R. and Yun, L. (2014) Using Physician-Linked Mailed Invitations in an Organised Colorectal Cancer Screening Programme: Effectiveness and Factors Associated with Response. *BMJ Open*, **4**, e004494. https://doi.org/10.1136/bmjopen-2013-004494

[6] Fleming, M., Ravula, S., Tatishchev, S.F. and Wang, H.L. (2012) Colorectal Carcinoma: Pathologic Aspects. *Journal of Gastrointestinal Oncology*, **3**, 153-173.

[7] American Cancer Society (2016) Cancer Facts & Figures 2016. American Cancer Society, Atlanta.

[8] GLOBOCAN (2000) Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide. International Adgency for Research on Cancer European Network of Cancer Registers (IARC CancerBase No. 5).

[9] Bayrak, R., Yenidünya, S. and Haltas, H. (2011) Cytokeratin 7 and Cytokeratin 20 Expression in Colorectal Adenocarcinomas. Pathology Research and Practice, **207**, 156-160. https://doi.org/10.1016/j.prp.2010.12.005

[10] Roncucci, L., Ponz de Leon, M., Scalmati, A., Malagoli, G., Pratissoli, S., Perini, M. and Chahin, N.J. (1988) The Influence of Age on Colonic Epithelial Cell Proliferation. *Cancer*, **62**, 2373-2377. https://doi.org/10.1002/1097-0142(19881201)62:11<2373::AID-CNCR2820621120>3.0.CO;2-Y

[11] Park, S.Y., Kim, B.H., Kim, J.H., Lee, S. and Kang, G.H. (2007) Panels of Immunohistochemical Markers Help Determine Primary Sites of Metastatic Adenocarcinoma. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, **131**, 1561-1567.

[12] Center, M.M., Jemal, A. and Ward, E. (2009) International Trends in Colorectal Cancer

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

Incidence Rates. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, **18**, 1688-1694. https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-09-0090

[13] Shah, S.A., Neoh, H.M., Rahim, S.S., Azhar, Z.I., Hassan, M.R., Safian, N. and Jamal, R. (2004) Spatial Analysis of Colorectal Cancer Cases in Kuala Lumpur. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, **15**, 1149-1154.

[14] Payne, S. (2007) Not An Equal Opportunity Disease—A Sex and Gender-Based Review of Colorectal Cancer in Men and Women: Part I. *The Journal of Men's Health & Gender*, **4**, 131-139. https://doi.org/10.1016/j.jmhg.2007.03.005

[15] Deng, W., Long, L., Li, J.L., Zheng, D., Yu, J.H., Zhang, C.Y., Li, K.Z., Liu, H.Z. and Huang, T.R. (2014) Mortality of Major Cancers in Guangxi, China: Sex, Age and Geographical Differences from 1971 and 2005. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, **15**, 1567-1574. https://doi.org/10.7314/APJCP.2014.15.4.1567

[16] Holt, P.R., Kozuch, P. and Mewar, S. (2009) Colon Cancer and the Elderly: From Screening to Treatment in Management of GI Disease in the Elderly. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, **23**, 889-907. https://doi.org/10.1016/j.bpg.2009.10.010

[17] Bouassida, M., Bilel, F., Bassem, M., Mohamed, F.C., Selim, S., Fathi, C., Souheil, B., Mohamed, M.M., Hassen, T., Mohamed, M.A. and Sadok, S. (2012) Histopathologic Characteristics and Short-Term Outcomes of Colorectal Cancer in Young Tunisian Patients: One Center's Experience. *The Pan African Medical Journal*, **12**, 10.

[18] Duval, J.V., Savas, L. and Banner, B.F. (2000) Expression of Cytokeratins 7 and 20 in Carcinomas of the Extrahepatic Biliary Tract, Pancreas, and Gallbladder. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, **124**, 1196-1200.

[19] Varadhachary, G.R. (2007) Carcinoma of Unknown Primary Origin. *Gastrointestinal Cancer Research*, **1**, 229-235.

[20] Pavlidis, N., Briasoulis, E., Hainsworth, J. and Greco, F.A. (2003) Diagnostic and Therapeutic Management of Cancer of an Unknown Primary. *European Journal of Cancer*, **39**, 1990-2005. https://doi.org/10.1016/S0959-8049(03)00547-1

[21] Pecciarini, L., Cangi, M.G. and Doglioni, C. (2001) Identifying the Primary Sites of Metastatic Carcinoma: The Increasing Role of Immunohistochemistry. *Current Diagnostic Pathology*, **7**, 168-175. https://doi.org/10.1054/cdip.2001.0079

[22] Ramaekers, C., Van Niekerk, C., Poels, L., Schaafsma, E., Huijsmans, A., Robben, H., Schaart, G. and Vooijs, P. (1990) Use of Monoclonal Antibodies to Keratin7 in Differential Diagnosis of Adenocarcinomas. *American Journal of Pathology*, **136**, 641-655.

[23] Tot, T. (1999) Adenocarcinomas Metastatic to the Liver. The Value of Cytokeratins 20 and 7 in the Search for Unknown Primary Tumors. *Cancer*, **85**, 171-177. https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0142(19990101)85:1<171::AID-CNCR24>3.0.CO;2-V

[24] Wang, N.P., Zee, S., Zarbo, R.J., Bacchi, C.E. and Gown, A.M. (1995) Coordinate Expression of Cytokeratins 7 and 20 Defines Unique Subsets of Carcinomas. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*, **3**, 99-107.

[25] Chu, P., Wu, E. and Weiss, L.M. (2000) Cytokeratin 7 and Cytokeratin 20 Expression in Epithelial Neoplasms: A Survey of 435 Cases. *Modern Pathology*, **13**, 962-972. https://doi.org/10.1038/modpathol.3880175

[26] Park, S.Y., Kim, H.S., Hong, E.K. and Kim, W.H. (2002) Expression of Cytokeratins 7 and 20 in Primary Carcinomas of the Stomach and Colorectum and Their Value in the Differential Diagnosis of Metastatic Carcinomas to the Ovary. *Human Pathology*, **33**, 1078-1085. https://doi.org/10.1053/hupa.2002.129422

[27] Saad, R.S., Silverman, J.F., Khalifa, M.A. and Rowsell, C. (2009) CDX2, Cytokeratins 7 and 20 Immunoreactivity in Rectal Adenocarcinoma. *Applied Immunohistochemistry & Mole-*

cular Morphology, **17**, 196-201. https://doi.org/10.1097/PAI.0b013e31819268f2

[28] Zhang, P.J., Shah, M., Spiegel, G.W. and Brooks, J.J. (2003) Cytokeratin 7 Immunoreactivity in Rectal Adenocarcinomas. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*, **11**, 306-310. https://doi.org/10.1097/00129039-200312000-00005

Scientific Research Publishing

Submit or recommend next manuscript to SCIRP and we will provide best service for you:

Accepting pre-submission inquiries through Email, Facebook, LinkedIn, Twitter, etc.
A wide selection of journals (inclusive of 9 subjects, more than 200 journals)
Providing 24-hour high-quality service
User-friendly online submission system
Fair and swift peer-review system
Efficient typesetting and proofreading procedure
Display of the result of downloads and visits, as well as the number of cited articles
Maximum dissemination of your research work

Submit your manuscript at: http://papersubmission.scirp.org/
Or contact jct@scirp.org

RESUME

Les cancers colorectaux regroupent toutes les tumeurs malignes primitives ou métastasiques développées sur le côlon et le rectum. L'objectif de cette thèse est d'analyser les aspects épidémiologique, histopathologique et moléculaire des adénocarcinomes colorectaux dans la région de l'Ouest Algérien. Notre travail consiste en premier lieu en une étude rétrospective chez de 164 patients, se répartissant en 97 hommes et 67 femmes, recrutés au niveau du service d'oncologie médicale d'Oran au cours de la période allant de janvier 2013 à février 2016. Les âges extrêmes étaient entre 23 à 87ans. La répartition selon le site de la tumeur dans les deux sexes montre une fréquence élevée de l'atteinte colique gauche avec un pourcentage de 80,49% versus 19,51% pour la partie droite. Sur le plan histologique, la totalité des tumeurs colorectales étudiées sont des adénocarcinomes et représentent : 141 cas (85,98%) d'adénocarcinomes Lieberkühniens, 22 cas (13,41%) d'adénocarcinomes mucineux, 1 cas (0,61%) d'adénocarcinome à cellules en bague à chaton. La classification histopronostique est estimée dans tous les cas, les adénocarcinomes étaient classés : stade I 30 cas (18,29%), stade II 45 cas (27,43%), stade III 50 cas (30,49%) et le stade IV 39 cas (23,78%). Dans notre étude, après chimiothérapie nous avons noté que 10 % des patients ont eu une normalisation d'ACE et environ 13 % des patients ont eu une normalisation CA19-9. L'immunomarquage par les cytokératines 7 et 20 indique que 33 cas (82,5%) ont un statut CK20+ et 7 cas (17,5%) ont un profil négatif pour la CK7 (CK7-). L'analyse moléculaire du gène BRAF a révélé 2 cas (6,7%) de mutation V600E, 22cas (73,3%) avec un ADN normale et 6 cas (20%) indéterminés. La présence de cette mutation rare du gène BRAF est associée à un mauvais pronostic.

MOTS CLES :

Cancer colorectal; CA19-9; ACE; Adénocarcinome; histopronostique; Chimiothérapie; Cytokératine 20; Cytokératine 7; Gène BRAF; Mutation V600E.