

**caREPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE MINISTERE DE
L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**



UNIVERSITE DE BLIDA -1-
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Option : **BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE**

Chef d'option : **P^r SAADI L.**

Sous l'intitulé :

LE PROFIL MOLECULAIRE DU CANCER COLORECTAL

Réalisé par :

M^{elle} **SILMI Mahdia**

&

M^{elle} **BOUHAMIDI ikram**

Soutenu le : **07 juillet 2025**

Devant le jury composé de :

M ^{me} BOKRETA S.	Maitre de conférences B	Université de Blida -1-	Présidente
M ^{me} KESKAS S.	Maitre Assistante A	Université de Blida -1-	Examinatrice
M ^{me} BENCHABANE S.	Maitre de conférences A	Université de Blida -1-	Promotrice
M ^{me} AMIR Zine-Charaf	PROFESSEUR	CHU Mustapha (Alger)	Co-Promotrice

Année universitaire: 2024/2025

Remerciements

*Avant tout, nous exprimons notre profonde gratitude à **ALLAH** pour nous avoir accordé la force, la patience et la persévérance nécessaires tout au long de notre parcours universitaire. C'est grâce à Sa volonté et Sa bénédiction que ce travail a pu voir le jour.*

*Mes plus sincères remerciements vont à ma promotrice, Madame **BEN CHAABANE Sarah**, pour sa disponibilité, ses conseils précieux et son accompagnement tout au long de ce travail.*

Je remercie également les membres du jury :

*Présidente : Madame **BOKRETA Soumia***

*Examinatrice : Madame **KASKAS Sabiha***

*Je tiens à exprimer toute ma gratitude à ma co-promotrice, Madame **ZIN CHAREF Amir**, pour son encadrement, son suivi rigoureux et ses remarques pertinentes qui ont grandement enrichi ce mémoire.*

*J'adresse aussi mes remerciements à Madame **SAADI L**, cheffe d'option, pour son appui et son encadrement pédagogique*

Mes remerciements s'adressent également à tous les membres du service d'anatomopathologie, ainsi qu'à l'ensemble du personnel pour leur accueil et leur collaboration.

*Je remercie profondément Monsieur **BEN GRINA Abdelkader**, ancien ministre du Tourisme et des Voyages, pour son soutien et ses encouragements.*

*Enfin, j'adresse mes sincères remerciements au Secrétariat du CHU Mustapha Pacha, et tout particulièrement à Monsieur **Hakim**, directeur général de l'hôpital, ainsi qu'à son assistante Madame **Habiba***

, pour leur disponibilité, leur accueil et leur soutien administratif.



Dédicace :

Je vous dédie cette réussite avec tout mon cœur.

À mon cher père,

À celui qui a toujours été mon pilier,
me soutenant, m'encourageant et me relevant à chaque chute.

Tu me disais toujours :

« Ikram, continue tes études ma fille »

tes paroles étaient une lumière sur mon chemin.

Je t'offre ce diplôme comme un témoignage d'amour, de reconnaissance et de fidélité.

Qu'Allah te récompense et fasse de cette réussite le début d'une grande joie.

À ma chère maman,

Source infinie de tendresse et de prières,
tu étais là dans chaque silence, chaque fatigue.

Cette réussite est le fruit de tes sacrifices.

Qu'Allah te protège tu es la lumière qui ne s'éteint jamais.

À mon frère Sidahmed,

Merci pour ta présence constante, ton soutien, ta joie de vivre,
et ta grande confiance en moi.

À mon frère Abdelmalek,

Le premier à m'avoir soutenue au début de mon parcours,
je n'oublierai jamais tes encouragements.

Je vous aime profondément — votre place dans mon cœur est inestimable.

À mes sœurs Rihanna, Amina et Meriem,

Merci d'avoir été là, avec douceur et bienveillance.

À mes amies de l'université : Mahdia, Selma, Hiba, Oumaima, Anfel et Rouida,

Merci pour les souvenirs inoubliables, le soutien constant, et les moments partagés.

À ma précieuse amie Marwa,

Toi qui as toujours été là pour moi,
tu es bien plus qu'une amie : tu es une sœur.
Cette réussite, je la partage aussi avec toi.

Et enfin... À moi-même,

À celle qui a résisté malgré tout — fatigue, pression, doutes.

IKRAM





Dédicace :

Du plus profond de mon cœur, je dédie ce travail à :

*Mes chères mamans, **ZOUBIDA** et **MALIKA**, mes lumières, mon cœur et mon paradis. Femmes généreuses, aucun mot ne saurait exprimer toute ma reconnaissance, mon amour éternel et ma profonde considération pour vos sacrifices, votre bienveillance et vos prières. Si je suis arrivée jusqu'ici, c'est grâce à vous. Merci, mamans.*

*Mes chers papas, **HAMID** et **MAHMOUD**, les hommes de ma vie. Merci pour votre patience, votre amour, votre encouragement constant depuis mon enfance. Je demande à Dieu de vous accorder une longue vie pleine de santé et de sérénité. Je suis fière d'être votre fille.*

*Mes adorables sœurs : **AMEL**, **SOUAAD** et **FARAH**, merci d'être mon pilier, ma force et ma joie au quotidien.*

*Mes chers frères : **MOHAMED**, **MOULOUD**, **MOUSTAPHA** et surtout **ABDESLAM**, que je porte dans mon cœur malgré la distance. Ton absence physique est comblée par ton amour et ton soutien, même depuis l'étranger. Que Dieu te protège là où tu es.*

*Mes chères amies : **SAFA**, **IKRAM**, **ANFEL**, **HIBA**, **OUMIAMA** et **SELMA**, **ROUAIDA**, votre présence a illuminé ce parcours. Merci pour les souvenirs partagés et l'énergie positive.*

*Mon cher ami **AÏSSA**, pour ton écoute, ton soutien et ton amitié sincère.*

À toute ma famille, élargie et proche, du côté paternel et maternel, vous êtes ma fierté et mes racines. Merci pour votre amour inconditionnel, vos encouragements et votre présence à chaque étape de ma vie.

Je vous dédie à tous ce modeste travail, avec tout mon amour et ma reconnaissance.

MAHDIA



Liste des figures :

Figure 01	Anatomie du côlon (Jacopin, 2006).
Figure 02	Anatomie du rectum (Marecik, S. et al., 2018).
Figure 03	Taux d'incidence standardisé selon l'âge (ASR) pour 100 000 habitants, cancer colorectal, les deux sexes, en 2022 (GLOBOCAN, 2022).
Figure 04	Modèle génétique multi-étapes pour la séquence de l'adénocarcinome colorectal : CIN, MSI et CIMP (Malki, A. et al., 2021).
Figure 05	Liste des facteurs de risque du cancer colorectal (Dekker, E. et al., 2019).
Figure 06	Voie de signalisation Wnt/ β -caténine (Kim, W. et al., 2013).
Figure 07	Les voies RAS/RAF/MAPK et PI3K/AKT qui sont activées par le récepteur EGFR (Laurent-Puig et al., 2009).
Figure 08	Voie TP53/MDM2 (Soussi, T., 2000).
Figure 09	Voies de signalisation TGF- β : canoniques (A) et non canoniques (B) (Chung et al., 2021).
Figure 10	Stades du cancer colorectal selon l'AJCC, 8e édition (Shek et al., 2021).
Figure 11	Vue macroscopique de la pièce tissulaire et mise en cassette (Annexe 1).
Figure 12	Enrobage et inclusion (Annexe 1).
Figure 13	Confection des coupes et séchage des lames (Annexe 1).
Figure 14	Coloration Hématoxyline – Éosine (HE) (Annexe 1).
Figure 15	Préparation des coupes et incubation dans l'étuve (Annexe 1).
Figure 16	Démasquage antigénique (Annexe 1).
Figure 17	Délimitation avec crayon hydrophobe (Annexe 1).

Figure 18	Application de l'anticorps primaire (Annexe 1).
Figure 19	Application de l'anticorps secondaire (Annexe 1).
Figure 20	Révélation chromogénique (Annexe 1).
Figure 21	Contre-coloration (Annexe 1).
Figure 22	Montage final (Annexe 1).
Figure 23	Plateforme de PCR Idylla (Annexe 1).
Figure 24	Répartition des cas de CCR selon le sexe.
Figure 25	Répartition des cas de CCR selon l'âge.
Figure 26	Répartition des cas de CCR selon la localisation de la tumeur.
Figure 27	Répartition des cas de CCR selon le grade (degré) de différenciation.
Figure 28	Répartition des cas de CCR selon le stade.
Figure 29	Pièce de colectomie droite – vue fermée et ouverte, mesurée 50 cm.
Figure 30	Observation macroscopique des tumeurs coliques en contraste avec la muqueuse saine.
Figure 31	Aspect histologique de la paroi colique normale du côlon (Gx20).
Figure 32	Aspect histologique d'une pièce opératoire rectale montrant la muqueuse normale et la tumeur (Gx10).
Figure 33	Aspect histologique d'un adénocarcinome bien différencié et ulcéré du côlon droit, stade 2 (Gx10).
Figure 34	Aspect d'un adénocarcinome moyennement différencié (muqueuse avec aspect cribriforme) (Gx10).
Figure 35	Aspect histologique d'un carcinome peu différencié du côlon droit, stade 3, coloré à HE. (A) Gx4, (B) Gx10 et (C) Gx40.
Figure 36	Carcinome mucineux (Gx4).
Figure 37	Évaluation du statut MMR.
Figure 38	Expression positive de la protéine MLH1 dans les cellules tumorales du CCR (Gx10).

Figure 39	Expression positive de la protéine MSH2 dans les cellules tumorales du CCR (Gx10).
Figure 40	Expression positive de la protéine MSH6 dans les cellules tumorales du CCR (Gx10).
Figure 41	Expression positive de la protéine PMS2 dans les cellules tumorales du CCR (Gx10).
Figure 42	Extinction nucléaire de la protéine MLH1 dans un cas de CCR (A) Gx4 (B) Gx10.
Figure 43	Extinction nucléaire de la protéine PMS2 dans un cas de CCR (A) Gx4 (B) Gx10.
Figure 44	Extinction nucléaire de la protéine MSH6 dans un cas de CCR (Gx10).
Figure 45	Expression des protéines du système MMR en fonction du sexe.
Figure 46	Profil des protéines du système MMR en fonction de l'âge.
Figure 47	Expression des protéines du système MMR selon le site tumoral.
Figure 48	Expression des protéines du système MMR en fonction du grade.
Figure 49	Expression des protéines du système MMR en fonction du stade.
Figure 50	Évaluation des statuts KRAS, NRAS et BRAF.
Figure 51	Association des altérations génétiques KRAS, NRAS et BRAF avec le sexe.
Figure 52	Association des altérations génétiques KRAS, NRAS et BRAF avec l'âge.
Figure 53	Association des altérations génétiques KRAS, NRAS et BRAF avec le site tumoral.
Figure 54	Association des altérations génétiques KRAS, NRAS et BRAF avec le type histologique.
Figure 55	Association des altérations génétiques KRAS, NRAS et BRAF avec le stade.

Liste des tableaux

Tableau 1	Classification TNM des carcinomes colorectaux (AJCC, 2017) (Annexe3)
Tableau 2	Fréquence et distribution des mutations KRAS, NRAS et BRAF (gène, exon, codon, mutation)

Liste des abréviations:

- ✧ **5-FU** : 5-Fluorouracile
- ✧ **ADK** : Adénocarcinome
- ✧ **ADN** : Acide Désoxyribonucléique
- ✧ **AKT** : Protéine Kinase B
- ✧ **APC** : Adenomatous Polyposis Coli
- ✧ **BRAF** : V-Raf Murine Sarcoma Viral Oncogene Homolog B
- ✧ **CCR** : Cancer colorectal
- ✧ **CIMP** : Phénotype méthylateur des îlots CpG
- ✧ **CIN** : Instabilité Chromosomique
- ✧ **CpG** : Séquence riche en cytosine et guanine
- ✧ **Dkk** : Dickkopf (inhibiteur de la voie Wnt)
- ✧ **EGFR** : Epidermal Growth Factor Receptor
- ✧ **ErbB** : Erythroblastic Leukemia Viral Oncogene
- ✧ **FAP** : Polypose Adénomateuse Familiale
- ✧ **GSK3** : Glycogen Synthase Kinase-3
- ✧ **HER2** : Human Epidermal Growth Factor Receptor 2
- ✧ **HNPCC** : Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer
- ✧ **HRAS** : Harvey Rat Sarcoma Virus
- ✧ **HE**: Hématoxyline-Eosine
- ✧ **IGF2R** : Récepteur du facteur de croissance analogue à l'insuline 2
- ✧ **JAK** : Janus Kinase
- ✧ **KRAS** : Kirsten Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog
- ✧ **LOH** : Perte d'hétérozygotie
- ✧ **MAPK** : Mitogen-Activated Protein Kinase
- ✧ **mTOR** : Cible mammalienne de la rapamycine
- ✧ **MICI** : Maladie Inflammatoire Chronique de l'Intestin
- ✧ **MLH1** : MutL Homolog 1
- ✧ **MMR** : Mismatch Repair
- ✧ **MSH2** : MutS Homolog 2
- ✧ **MSH6** : MutS Homolog 6
- ✧ **MSS** : Microsatellite Stable

- ✧ **MYC** : Myelocytomatosis Oncogene
- ✧ **NRAS** : Neuroblastoma RAS Viral Oncogene Homolog
- ✧ **PBS** : Phosphate Buffered Saline
- ✧ **PCR** : Polymerase Chain Reaction (Réaction en chaîne par polymérase)
- ✧ **PD-1** : Programmed Cell Death Protein 1
- ✧ **PI3K** : Phosphoinositide 3-Kinase
- ✧ **PIK3CA** : Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-Kinase Catalytic Subunit Alpha
- ✧ **PKC** : Protéine Kinase C
- ✧ **PLC- γ** : Phospholipase C gamma
- ✧ **PMS2** : Postmeiotic Segregation Increased 2
- ✧ **PTEN** : Phosphatase and TENsin Homolog
- ✧ **pTNM** : Pathologic Tumor Nodes Metastasis
- ✧ **SMAD** : Famille de protéines signalétiques (homologues SMA/Drosophila MAD)
- ✧ **SMAD4** : Mothers Against Decapentaplegic Homolog 4
- ✧ **SOS** : Son of Sevenless Homolog
- ✧ **STAT** : Signal Transducer and Activator of Transcription
- ✧ **TCF** : T-cell Factor
- ✧ **TGF- β** : Transforming Growth Factor Beta
- ✧ **TGFBR** : Récepteur du TGF- β (forme générique)
- ✧ **TP53** : Tumor Protein 53
- ✧ **VEGFR** : Vascular Endothelial Growth Factor Receptor
- ✧ **WNT** : Wingless-Type

Résumé :

Le cancer colorectal (CCR) constitue le deuxième cancer le plus fréquent en Algérie et représente un problème majeur de santé publique. Il se caractérise par une importante hétérogénéité moléculaire, influençant son évolution et sa réponse thérapeutique. Cette étude a porté sur 238 cas de CCR, collectés au service d'Anatomie et de Cytopathologie du centre Hospitalo-universitaire Mustapha (Alger) entre février et mai 2025. L'objectif principal était de décrire les caractéristiques clinico-pathologiques, d'analyser le profil mutationnel des gènes KRAS, NRAS et BRAF, et d'évaluer le statut des microsatellites (MSI) afin d'identifier des biomarqueurs pouvant aider à une prise en charge personnalisée des patients.

Sur l'ensemble des cas étudiés, une prédominance masculine est observée (sex-ratio = 1,22), avec un âge médian de 60 ans. La plupart des patients (83,19 %) ont 50 ans ou plus. La localisation colique gauche est la plus fréquente (39,50 %), suivie par le côlon droit (38,23 %) et le rectum (18,49 %). D'après leur sous-type histologique, 44,96 % sont bien différenciés, 41,18 % moyennement différenciés, 6,72 % peu différenciés et 7,14 % mucineux. La majorité des cas (47,48 %) est diagnostiquée au stade II (AJCC, 2017).

L'analyse immunohistochimique réalisée sur 186 cas de cancer colorectal montre que 18 cas (9,68 %) présentent une instabilité des microsatellites (MSI), dont 14 cas MSI-H et 4 cas MSI-L, tandis que la majorité (168 cas) est stable (MSS). Aucune association significative n'a été observée avec le sexe ($p = 0,4949$), tandis que l'âge est corrélé de manière significative avec le statut MSI ($p < 0,05$), avec 7 cas MSI chez les patients de moins de 50 ans contre 11 cas chez les plus âgés. De plus, le statut MSI est lié à la localisation tumorale ($p = 0,0078$), avec une prédominance des cas MSI-H au niveau du côlon droit, et est également associé au sous-type histologique ($p = 0,0079$), les carcinomes peu différenciés étant surreprésentés. La plupart des cas MSS, MSI-L et MSI-H sont diagnostiqués au stade II, sans relation significative avec le stade tumoral ($p = 0,6924$).

Sur le plan moléculaire, l'étude montre que les mutations de KRAS sont majoritaires (91,67 % des cas mutés), avec une prédominance des mutations de l'exon 2 (codons 12 et 13), notamment G12D (36,46 %), G12V (23,96 %) et G13D (11,46 %). Les mutations de NRAS (3,12 %) et de BRAF V600E (5,21 %) restent peu fréquentes, mais constituent des cibles thérapeutiques importantes. Aucune association statistiquement significative n'a été observée avec le sexe, l'âge, la localisation tumorale ou le sous-type histologique ($p > 0,05$). Cependant, une relation significative a été notée entre le statut mutationnel de KRAS et le stade T ($p < 0,05$), avec une fréquence plus élevée de mutations aux stades I et II que III et IV, tandis que NRAS et BRAF ne présentent pas d'association avec le stade tumoral.

Ces résultats confirment l'intérêt d'intégrer l'étude du profil moléculaire (KRAS, NRAS, BRAF, MSI) dans le bilan initial du CCR afin d'optimiser la stratégie thérapeutique, notamment dans le choix des thérapies ciblées et de l'immunothérapie.

Mots clés : cancer colorectal, anatomopathologie, PCR en temps réel, immunohistochimie, KRAS, NRAS, BRAF, MSI

Summary:

Colorectal Cancer (CRC) constitutes the second most frequent cancer in Algeria and represents a major public health concern. It is distinguished by significant molecular heterogeneity, influencing its progression and therapeutic response. This study was conducted on 238 cases of CRC, collected at the Department of Anatomy and Cytopathology of Mustapha Hospital (Algiers) between February and May 2025. The main objective was to describe the clinicopathological characteristics, analyze the mutational profile of the KRAS, NRAS, and BRAF genes, and evaluate microsatellite instability (MSI) in order to identify potential biomarkers that may aid in personalized patient management.

Across the cases studied, a male predominance was observed (sex ratio = 1.22), with a median age of 60 years. The majority of patients (83.19%) were 50 years of age or older. Left-sided colonic location was the most frequent (39.50%), followed by the right side (38.23%) and the rectum (18.49%). According to their histologic subtype, 44.96% were well-differentiated, 41.18% were moderately differentiated, 6.72% were poorly differentiated, and 7.14% were mucinous. The majority of cases (47.48%) were diagnosed at stage II (AJCC, 2017).

Immunohistochemical analysis performed on 186 cases of CRC shows that 18 cases (9.68%) exhibit microsatellite instability (MSI), including 14 cases with MSI-H and 4 cases with MSI-L, while the majority (168 cases) are microsatellite-stable (MSS). No significant association was found with sex ($p = 0.4949$), while age was significantly correlated with MSI status ($p < 0.05$), with 7 MSI cases in patients under 50 and 11 cases in older patients. Furthermore, MSI was related to tumor location ($p = 0.0078$), with a predominance of MSI-H cases in the right colon, and was also significantly associated with histologic subtype ($p = 0.0079$), with a higher representation in poorly differentiated carcinomas. The majority of MSS, MSI-L, and MSI-H cases were diagnosed at stage II, with no significant relation to tumor stage ($p = 0.6924$).

At the molecular level, mutations in the KRAS gene were predominant (91.67% of mutated cases), with a major concentration in exon 2 (codons 12 and 13), particularly G12D (36.46%), G12V (23.96%), and G13D (11.46%). NRAS mutations (3.12%) and BRAF V600E mutations (5.21%) were less frequent but remain important therapeutic targets. No significant association was found with sex, age, tumor location, or histologic subtype ($p > 0.05$). However, a significant relation was observed between KRAS mutational status and T stage ($p < 0.05$), with a higher frequency of mutations in stages I and II. In contrast, NRAS and BRAF mutations were not significantly associated with T stage.

These results highlight the significance of integrating molecular profile (KRAS, NRAS, BRAF, MSI) into the initial work-up of CRC in order to guide therapeutic strategies, particularly in the context of targeted therapy and immunotherapy.

Keywords: colorectal cancer, anatomopathology, real-time PCR, immunohistochemistry, KRAS, NRAS, BRAF, MSI.

ملخص :

يعد سرطان القولون والمستقيم (CRC) ثاني أكثر أنواع السرطان شيوعاً في الجزائر ويمثل مشكلة صحية عامة كبرى. ويتميز بتباين جزيئي كبير، مما يؤثر على تطوره واستجابته العلاجية. ركزت هذه الدراسة على 238 حالة من حالات CCR، تم جمعها في قسم التشريح وعلم الأمراض الخلوية بمركز مستشفى جامعة مصطفى (الجزائر العاصمة) بين فبراير ومايو 2025. كان الهدف الرئيسي هو وصف الخصائص السريرية المرضية، وتحليل الملف الطفري لجينات KRAS و NRAS و BRAF، وتقييم حالة عدم الاستقرار الميكروستيليت (MSI) من أجل تحديد المؤشرات الحيوية التي يمكن أن تساعد في رعاية المرضى الشخصية.

في جميع الحالات التي تمت دراستها، لوحظت غلبة الذكور (نسبة الجنس = 1.22)، بمتوسط عمر 60 عامًا. معظم المرضى (83.19%) يبلغون من العمر 50 عامًا أو أكثر. ويعتبر موقع القولون الأيسر هو الأكثر شيوعاً (39.50%)، يليه القولون الأيمن (38.23%) والمستقيم (18.49%). وفقاً لنوعهم النسيجي الفرعي، فإن 44.96% منهم متميزون جيداً، و 41.18% متميزون بشكل معتدل، و 6.72% متميزون قليلاً، و 7.14% مخاطيون. يتم تشخيص غالبية الحالات (47.48%) في المرحلة الثانية (AJCC، 2017).

يُظهر التحليل الكيميائي المناعي الذي تم إجراؤه على 186 حالة من سرطان القولون والمستقيم أن 18 حالة (9.68%) تعاني من عدم استقرار الأقمار الصناعية الدقيقة (MSI)، بما في ذلك 14 حالة MSI-H و 4 حالات MSI-L، في حين أن الأغلبية (168 حالة) مستقرة (MSS). لم يلاحظ أي ارتباط كبير مع الجنس ($p = 0.4949$)، في حين يرتبط العمر بشكل كبير بحالة MSI ($p > 0.05$)، مع 7 حالات MSI في المرضى الذين تقل أعمارهم عن 50 عامًا مقارنة بـ 11 حالة في الأكبر سناً. بالإضافة إلى ذلك، ترتبط حالة MSI بموقع الورم ($p = 0.0078$)، مع غلبة حالات MSI-H على مستوى القولون الأيمن، وترتبط أيضاً بالنوع الفرعي النسيجي ($p = 0.0079$)، مع زيادة تمثيل السرطانات سيئة التمايز. يتم تشخيص معظم حالات MSS و MSI-L و MSI-H في المرحلة الثانية، دون وجود علاقة مهمة مع مرحلة الورم ($p = 0.6924$).

وعلى المستوى الجزيئي، أظهرت الدراسة أن طفرات KRAS هي السائدة (91.67% من الحالات المتحولة)، مع غلبة طفرات الإكسون 2 (الكودونات 12 و 13)، ولا سيما G12D (36.46%) و G12V (23.96%) و G13D (11.46%). تظل طفرات NRAS (3.12%) و BRAF V600E (5.21%) نادرة، ولكنها أهداف علاجية مهمة. لم يتم ملاحظة أي ارتباطات ذات دلالة إحصائية مع الجنس أو العمر أو موقع الورم أو النوع الفرعي النسيجي ($p < 0.05$). ومع ذلك، لوحظت علاقة مهمة بين الحالة الطفرية لـ KRAS والمرحلة T ($p < 0.05$)، مع ارتفاع معدل الطفرات في المرحلتين الأولى والثانية مقارنة بالمرحلتين الثالثة و NI، في حين لا يظهر NRAS و BRAF ارتباطاً بمرحلة الورم.

وتؤكد هذه النتائج الاهتمام بدمج دراسة الملف الجزيئي (KRAS، BRAF، NRAS، MSI) في التقييم الأولي لـ CCR من أجل تحسين الاستراتيجيات العلاجية، وخاصة في اختيار العلاجات المستهدفة والعلاج المناعي.

الكلمات المفتاحية: سرطان القولون والمستقيم، التشريح المرضي، PCR في الوقت الحقيقي، الكيمياء المناعية، KRAS،

MSI، BRAF، NRAS

Table des matières :

Remerciements

Dédicaces

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Résumé

INTRODUCTION:.....1

Chapitre 1: Rappel bibliographique

1.1-Anatomie descriptive2

1.1.1-Colon2

1.1.2-Rectum.....2

1.2-Histologie de colon et rectum.....3

1.3-Physiologie de colon et du rectum.....4

1.4- Le cancer colorectal.....4

1.5-Epidémiologie du cancer colorectal.....4

1.5.1-Dans le monde.....4

1.5.2-En algérie.....5

1.6-Etiologie.....5

1.7-Physiopathologie.....9

1.8-Les voies de signalisations impliqués dans la cancérogenèse colorectale.....9

1.8.1-Voies Wnt/APC/B-caténine.....9

1.8.2-Voies EGFR/RAS/RAF/MAPK.....10

1.8.3-Voies PI3K/AKT.....10

1.8.4-Voies TP53.....	11
1.8.5-Voies TGF- β /SMAD.....	12
1.9-Classification des carcinomes colorectaux.....	12
1.9.1-Classification selon TNM.....	12
1.9.2-Classification selon les stades.....	13
1.10-Diagnostic du cancer colorectal.....	13
1.10.1-Interrogatoire clinique et dépistage en population générale.....	14
1.10.2-Imagerie pour le bilan d'extension.....	14
1.10.3-coloscopie et endoscopie.....	14
1.11-Manifestation clinique.....	14
1.12-Traitement de cancer colorectal.....	14
1.12.1-Resection chirurgicale.....	15
1.12.2-Radiothérapie.....	15
1.12.3-Chimiothérapie.....	15
1.12.4-Thérapies ciblées.....	15
1.12.5-Immunothérapie.....	15

Chapitre 2: Matériel & méthodes

2.1- Presentation de service anatomopathologique.....	16
2.2- Matériel et méthodes.....	16
2.2.1- Matériel.....	16
2.2.1.1-Matériel non biologique.....	16
2.2.1.2-Matériel biologique.....	16
2.2.2- Méthodes.....	16
2.2.2.1-Technique Histopathologie.....	16
2.2.2.1.1- Examen macroscopie.....	16

2.2.2.1.2- Les etapes de l'examen microscopique.....	17
2.2.2.1.3- La coloration a l'hématoxyline – eosine (HE).....	19
2.2.2.2-Technique Immunohistochimique.....	19
2.2.2.2.1- Procédure de l'immuno-détection de MLH1, MSH2, MSH3 et PMS2.....	20
2.2.2.3-Etude moléculaire.....	22
2.2.2.3.1- Principe de la PCR en temps réel.....	22
2.2.2.3.2- Recherche de mutations par Idylla.....	22
✧ Analyse statistique.....	22

Chapitre 3:Résultats & discussions

3.1-RESULTATS.....	24
3.1.2- Histopathologie et caractéristiques des patients.....	24
3.1.2.1- Répartition des patients selon le sexe.....	24
3.1.2.2- Répartition des patients selon l'âge.....	24
3.1.2.3- Répartition des patients selon la localisation de tumeur.....	25
3.1.2.4- Répartition des patients selon la fonction du grade (degré) de différenciation	26
3.1.2.5- Répartition des patients selon le stade.....	27
3.1.3 Etude l'histopathologie des tumeurs.....	28
3.1.3.1- Examen macroscopique.....	28
3.1.3.2- Examen microscopique.....	28
3.1.3.3- Les différents sous-types histologiques du cancer colorectal.....	29
3.1.4- L'analyse immunohistochimique du statut MMR.....	32
3.1.4.1- Immunodétection de MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2.....	33
3.1.4.2-Corrélation des protéines du système MMR avec les caractéristiques clinicopathologiques des patients et les différentes mutations.....	36
3.1.4.2.1- Etude de la corrélation entre les protéines du système MMR et le sexe.....	36

3.1.4.2.2- Etude de la corrélation entre l'âge et les protéines du système MMR.....	36
3.1.4.2.3- Etude de la corrélation entre le site tumoral et l'expression des protéines du système MMR.....	37
3.1.4.2.4- Etude de la corrélation entre l'expression des protéines du système MMR et le grade de différenciation.....	38
3.1.4.2.5- Corrélation du stade tumoral avec le statut MSI ou MSS.....	38
3.1.5- Détection des mutations des gènes KRAS, NRAS et BRAF par Idylla.....	39
3.1.5.1- Evaluation des statuts KRAS, NRA	39
3.1.6-Corrélation des RAS et BRAF avec les caractéristiques clinicopathologiques des patients.....	41
3.1.6.1-Evaluation des statuts KRAS, NRAS et BRAF en fonction du sexe.....	41
3.1.6.2-Evaluation des statuts RAS et BRAF en fonction de l'âge	42
3.1.6.3-Etude de la relation entre le site tumoral et les statuts mutationnels KRAS, NRAS et BRAF.....	43
3.1.6.4-Corrélation entre le type histologique et les statuts KRAS, NRAS et BRAF.....	45
3.1.6.5- Corrélation entre le stade et les statuts KRAS, NRAS et BRAF.....	47
3.2-DISCUSSIONS.....	48
3.2.1- Les caractéristiques clinicopathologiques des patients.....	49
3.2.2- Profils mutationnels des gènes KRAS, NRAS et BRAF et leurs corrélations avec les facteurs clinicopatologiques des patients.....	50
3.2.2.1- Le Gène KRAS.....	50
3.2.2.2- Le Gène NRAS.....	52
3.2.2.3- Le Gène BRAF.....	52
3.2.2.4-Evaluation du statut MSI.....	52

Chapitre 4: Conclusion & perspectives

CONCLUSION.....	54
------------------------	-----------

<i>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</i>	55
--	-----------

<i>LISTES DES ANNEXES</i>	
----------------------------------	--

Introduction :

Le cancer colorectal est l'un des cancers les plus fréquents à l'échelle mondiale (GLOBOCAN 2022), et occupe le deuxième rang parmi les cancers les plus fréquents en Algérie, après le cancer du sein chez la femme et le cancer du poumon chez l'homme (Boutedkjiret et al., 2024, Registre des tumeurs d'Alger – données épidémiologiques de 2022).

Le cancer colorectal est une maladie hétérogène sur le plan génétique et moléculaire, influençant son évolution, sa réponse au traitement et son pronostic. Cette hétérogénéité repose principalement sur des altérations de voies de signalisation cellulaires majeures, notamment les voies RAS/RAF/MEK/ERK et PI3K/AKT/mTOR (Al-Shamsi et al., 2016).

La compréhension de ces altérations a conduit à la mise en place d'une stratification moléculaire des patients, fondée sur l'identification de biomarqueurs clés tels que KRAS, NRAS, BRAF et le statut MSI (Microsatellite Instability) (Ilie-Petrov et al., 2024).

Cependant, malgré ces avancées considérables dans la compréhension moléculaire du CCR, il subsiste un manque de données spécifiques concernant la prévalence et la distribution de ces mutations dans les populations d'Afrique du Nord, en particulier en Algérie. Cette lacune entrave l'intégration efficace de la médecine de précision dans les systèmes de santé locaux (Mazouzi et al., 2024).

Dans cette perspective, notre présente étude vise à analyser les profils mutationnels des gènes KRAS, NRAS, BRAF ainsi que le statut MSI chez les patients algériens atteints de cancer colorectal. L'objectif principal est ainsi d'évaluer la fréquence, la distribution et les corrélations cliniques et histopathologiques de ces altérations, en vue d'identifier des biomarqueurs pronostiques et prédictifs pertinents pour une prise en charge personnalisée et optimisée du cancer colorectal chez la population.

1.1-Anatomie descriptive :

1.1.1-Colon :

Le côlon, aussi appelé "gros intestin", court du cæcum jusqu'au rectum et constitue la partie terminale de l'intestin, appartenant à l'appareil digestif. Il fait suite à l'iléon au niveau de la valvule iléo-cæcale (valvule de Bauhin), et se termine au niveau du rectum. Le colon mesure environ 1,5 mètre de long chez l'adulte, avec un diamètre qui varie de 8 cm à son origine (cæcum) à environ 4 cm vers sa terminaison (sigmoïde) Il comprend :

- **Cæcum (avec appendice vermiforme)** : représente la partie initiale du côlon, située dans la fosse iliaque droite, contenant l'orifice iléo-cæcal et l'appendice.
- **Côlon ascendant** : Il s'étend du cæcum à l'angle colique droit et est fixé à la paroi abdominale postérieure.
- **Angle colique droit (angle hépatique)** : Jonction entre le côlon ascendant et le côlon transverse, situé sous le foie et relié au diaphragme par le ligament phrénico-colique droit.
- **Côlon transverse** : Segment mobile entre les deux angles coliques, il forme une anse sous l'estomac et est suspendu par le mésocôlon transverse.
- **Angle colique gauche (angle splénique)** : Jonction entre le côlon transverse et le côlon descendant, fixé au diaphragme et à la rate.
- **Côlon descendant** : Il descend verticalement dans la fosse lombaire gauche, peu mobile et accolé à la paroi postérieure.
- **Côlon ilio-pelvien** Composé du côlon iliaque et du côlon sigmoïde. (Bousba, D. 2022).

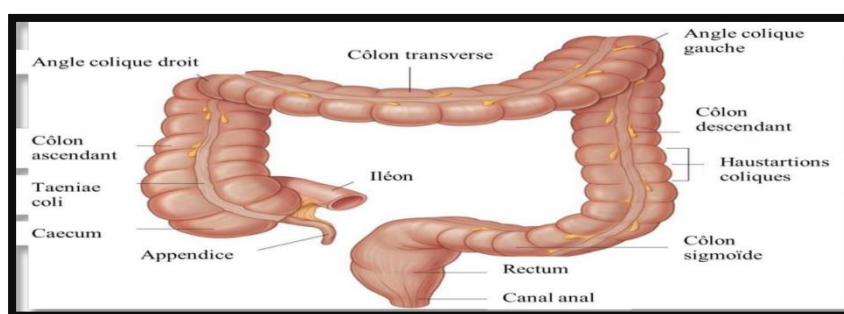


Figure 01 : Anatomie du côlon (Jacopin, 2006).

1.1.2-Rectum

Le rectum est le segment terminal du tube digestif, faisant suite au côlon sigmoïde et s'ouvrant à l'extérieur par l'anus. Le rectum représente le segment terminal du côlon et s'étend de la troisième vertèbre sacrée (S3) jusqu'à la jonction avec le canal anal. Sa longueur varie entre 12 à 18 cm, en fonction du degré de distension, de la morphologie corporelle et du

niveau de fixation du mésorectum. Il est logé dans la concavité sacrée au sein du pelvis postérieur.

Il se subdivise en trois segments anatomiques et topographiques :

➤ **Rectum**

supérieur :

Situé au-dessus du repli péritonéal, il est partiellement recouvert de péritoine sur ses faces antérieures et latérales. Il fait jonction avec le côlon sigmoïde, qui est la portion la plus mobile.

➤ **Rectum**

moyen :

Situé au niveau de la réflexion péritonéale, il est recouvert de péritoine sur sa face antérieure. Il joue un rôle charnière en chirurgie oncologique.

➤ **Rectum**

inférieur :

Totalement extrapéritonéal, il contient l'ampoule rectale qui se termine par l'angle ano-rectal. Il est entouré du mésorectum, riche en éléments vasculaires et lymphatiques, essentiels en chirurgie carcinologique rectale (Marecik et al., 2018)

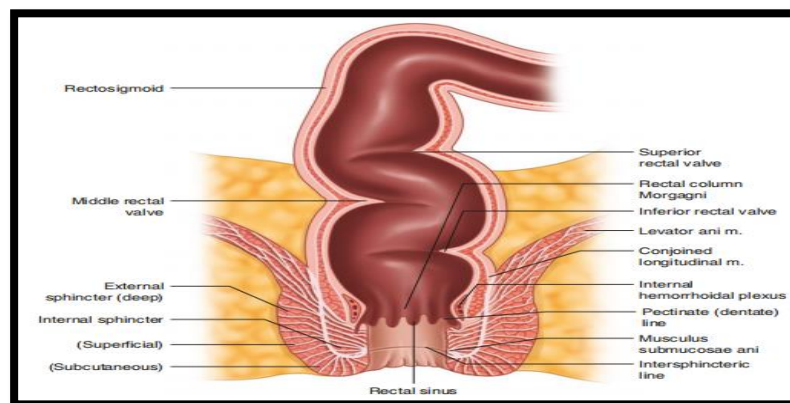


Figure 2: Anatomie de rectum (Marecik, S., Park, J., & Prasad, L. M. (2018))

1.2-Histologie de côlon et rectum: composé de cinq couches histologiques distinctes allant de l'intérieur vers l'extérieur (Ponz de Leon M ,2001) :

- **La muqueuse colique:** dépourvue de villosité chez l'adulte. Les glandes de Lieberkühn, en tubes simples et profonds, sont tapissées par un épithélium simple en continuité avec l'épithélium glandulaire, composé de cellules à plateau strié et de nombreuses cellules caliciformes, disposées « en champs de marguerites » en coupe transversale. Le chorion est

constitué de tissu conjonctif lâche, infiltré de lymphocytes, parfois organisés en follicules clos.

- **La muscularis mucosae:** (circulaire interne, longitudinale externe) peut être interrompue par ces follicules
- **La sous-muqueuse:** est un tissu conjonctif lâche bien vascularisé, contenant aussi des follicules clos, et le plexus de Meissner près de la musculeuse.
- **La musculeuse:** comprend une couche circulaire interne et une couche longitudinale externe, renforcée par les bandelettes coliques, avec le plexus d'Auerbach entre les deux.
- **La séreuse péritonéale:** séparée de la musculeuse par un tissu conjonctif lâche riche en lobules adipeux et vaisseaux, mais elle est absente aux zones d'accolement postérieur du péritoine.

1.3-Physiologie de côlon et du rectum :

Le gros intestin a trois fonctions principales : absorber l'eau et les électrolytes, produire et absorber les vitamines, et former et propulser les selles vers le rectum pour élimination (Azzouz, L. L., & Sharma, S. (2023)).

Le rectum joue un rôle essentiel dans la continence et la défécation. Lorsque les selles atteignent l'ampoule rectale, des récepteurs déclenchent l'envie de déféquer. Le contrôle volontaire des muscles permet de retarder ou d'initier l'évacuation (Karunaharamoorthy A. 2023).

1.4- Le cancer colorectal:

Le cancer colorectal (CCR) est une tumeur maligne qui se développe à partir des cellules épithéliales de la muqueuse du côlon ou du rectum. Survenant souvent à partir de polypes adénomateux (lésions précancéreuses), qui évoluent lentement vers un cancer invasif. C'est le troisième cancer le plus fréquent dans le monde et se situe au deuxième rang des types de cancer provoquant le plus grand nombre de décès dans le monde. (Arnold et al. 2017)

1.5-Épidémiologie du cancer colorectal:

1.5.1-Dans le monde: Le cancer colorectal (CCR) est un problème majeur de santé publique mondiale. D'après GLOBOCAN 2022, il est le 3^e cancer le plus diagnostiqué avec 1,93 million de nouveaux cas (9,6% des cancers) et la 2^e cause de décès par cancer avec 903 859 décès

(9,3%). L'incidence est plus élevée dans les pays à IDH élevé, en raison du vieillissement et des modes de vie occidentaux. Cependant, la mortalité est aussi importante dans les pays à IDH faible ou moyen, à cause du dépistage limité et des soins insuffisants. Cela souligne l'importance de la prévention, du diagnostic précoce et de l'accès aux traitements pour réduire l'impact du CCR (Bray et al., 2024)

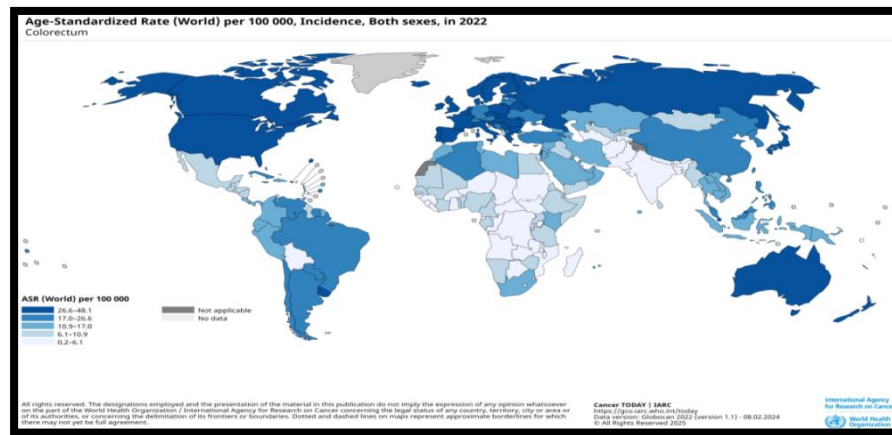


Figure3 : Taux d'incidence standardisé selon l'âge (ASR) pour 100 000 habitants, cancer colorectal, les deux sexes, en 2022. (GLOBOCAN 2022)

1.5.2-En Algérie: En 2022, le cancer colorectal est devenu l'un des cancers les plus fréquents en algérie. Chez les hommes, il est en 2^e position après le cancer du poumon, avec une incidence brute de 30,9/100 000 et une incidence standardisée de 28,6/100 000. Chez les femmes, il est aussi 2^e après le cancer du sein, avec un taux brut de 26/100 000 et un taux standardisé de 22,2/100 000. L'âge médian au diagnostic est de 66 ans chez les hommes et 62 ans chez les femmes, montrant qu'il touche surtout les adultes d'âge mûr. Entre 2000 et 2022, une augmentation significative de l'incidence chez les deux sexes a été notée, liée à des changements de mode de vie: alimentation, manque d'activité physique et vieillissement de la population (Boutedkjiret et al., 2024, Registre des tumeurs d'Alger – données épidémiologiques de 2022).

1.6-Étiologie :

➤ Le microbiote :

Le microbiote intestinal joue un rôle essentiel dans le cancer colorectal (CCR) via l'inflammation, la modulation immunitaire et la production de métabolites cancérogènes.

Chapitre1 : Rappel Bibliographique

Certaines bactéries comme *Fusobacterium nucleatum*, *Bacteroides fragilis* toxiques, et *E. coli* sont fortement associées au développement tumoral, notamment dans la voie serrée. Le déséquilibre du microbiote (dysbiose) favorise aussi des altérations épigénétiques et l'apparition précoce du CCR (<50 ans). Le microbiote représente ainsi un potentiel biomarqueur et une cible thérapeutique. (Weledji EP, 2024)

➤ Facteur de risque lié à l'âge :

L'âge > 50 ans est le principal facteur de risque de cancer colorectal. Environ 90 % des cas sont diagnostiqués après 50 ans. Chez les personnes de 50 à 74 ans, sans autre facteur de risque, le risque estimé est de 3,5 % (HAS, 2017).

➤ Facteurs génétiques :

Parmi les principaux facteurs génétiques du cancer colorectal (CCR), on retrouve en premier lieu le syndrome de Lynch (ou HNPCC), qui constitue la forme héréditaire la plus fréquente du CCR. Il est transmis selon un mode autosomique dominant et résulte de mutations dans les gènes de réparation des mésappariements de l'ADN (MMR), notamment MSH2, MLH1, MSH6, parfois associés à une mutation BRAF V600E. Le risque de CCR chez les porteurs du syndrome de Lynch est estimé à 80 % (HAS, 2017). Ensuite, les polyposes adénomateuses familiales (PAF) se caractérisent par la présence de centaines à des milliers d'adénomes colorectaux. Elles sont causées par une mutation du gène APC (5q21-q22), transmise de manière autosomique dominante, ou une mutation du gène MUTYH (1p34.1), transmise de manière autosomique récessive. En l'absence de traitement, le risque de développer un CCR est de 100 % (HAS, 2017).

Sur le plan moléculaire, trois voies majeures de cancérogenèse sont reconnues : l'instabilité chromosomique (CIN), l'instabilité des microsatellites (MSI) et le phénotype méthylateur des îlots CpG (CIMP) (Malki et al., 2021). La CIN est la voie la plus fréquente (65–85 % des cas), touchant notamment les formes sporadiques et les PAF. Elle implique une aneuploïdie, une perte d'hétérozygotie, et des mutations dans les gènes APC, TP53, SMAD2, SMAD4, KRAS, BRAF, perturbant notamment la voie Wnt/β-caténine (Malki et al., 2021 ; Tariq & Ghias, 2016 ; Yan et al., 2024). À cela s'ajoutent des anomalies mitotiques (protéines BubR1, AURKA/B/C, CENP-E) et des défauts de réparation de l'ADN (BER, DSBR, MMR, NER), renforçant l'instabilité (Tariq & Ghias, 2016).

La MSI, présente dans environ 15 % des CCR sporadiques et dans les formes héréditaires (syndrome de Lynch), est liée à des mutations ou une hyperméthylation du promoteur du gène MLH1, avec souvent une mutation BRAF et un phénotype CIMP élevé (Tariq & Ghias, 2016 ; Malki et al., 2021).

Enfin, le phénotype CIMP, caractérisé par une hyperméthylation des îlots CpG dans les régions promotrices de gènes suppresseurs de tumeurs, constitue une voie épigénétique indépendante associée aux tumeurs MSI+ et à la mutation BRAF. Il affecte des gènes comme CACNA1G, IGF2, NEUROG1, RUNX3, SOCS1, et est prédominant dans le côlon proximal (Weisenberger et al., 2006).

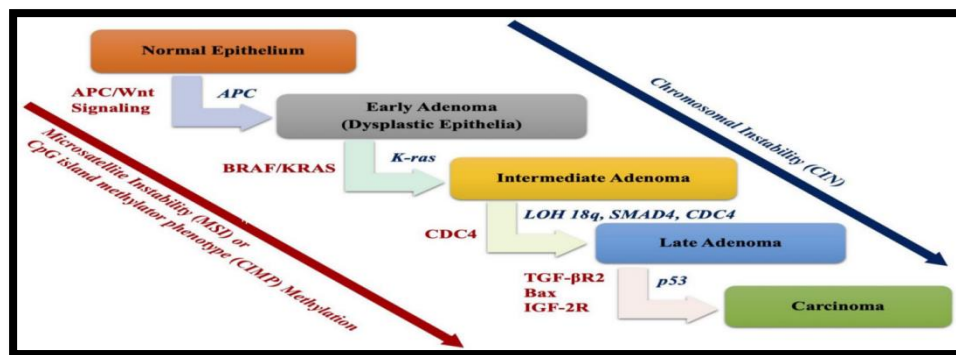


Figure4: Modèle génétique multi-étapes pour la séquence de l'adénocarcinome colorectal (Malki et al., 2021)

➤ Facteur de risque lié à un antécédent familial ou personnel d'adénome ou de cancer

Colorectal : facteur héréditaires

- **Antécédent familial de cancer colorectal :**

Le risque de cancer dépend du nombre de parents touchés, de l'âge du ou des cas index et du degré de parenté avec ce ou ces derniers.

- **Antécédent familial d'adénome colorectal :**

Il existe un sur-risque de cancer dans la fratrie et chez les enfants d'une personne ayant eu un antécédent familial.

- **Antécédent personnel de cancer colorectal :**

Le risque d'un nouveau cancer colorectal est significativement plus élevé dans les cinq premières années suivant le traitement du cancer colorectal initial.

- ***Antécédent personnel d'adénome colorectal :***

Le risque d'un nouvel adénome colorectal est multiplié par quatre si l'adénome avait une structure villositaire ou un diamètre > 10 mm, et multiplié par sept si les adénomes étaient multiples (HAS, 2017).

- **Facteur de risque lié à une maladie inflammatoire chronique de l'intestin:**

Les MICI augmentent le risque de CCR, notamment en présence de dysplasies planes et multiples (HAS, 2017)

- **Facteurs de risque liés au mode de vie :**

- ✓ ***Alimentation*** : Viande rouge, produits transformés et graisses saturées augmentent le risque du CCR. Les fruits, légumes et fibres pourraient être protecteurs (Pinheiro et al., 2024).
- ✓ ***Sédentarité*** : L'inactivité augmente le risque du CCR, l'exercice le réduit (Pinheiro et al., 2024).
- ✓ ***Tabac & alcool*** : Tous deux sont facteurs aggravants (Pinheiro et al., 2024).
- ✓ ***Surpoids/obésité*** : IMC élevé = risque accru, surtout chez les hommes (Pinheiro et al., 2024).

Autres : Certaines chirurgies digestives et traitements comme l'irradiation pelvienne peuvent légèrement augmenter le risque. Les suppléments vitaminiques n'ont pas prouvé leur efficacité (Pinheiro et al., 2024).

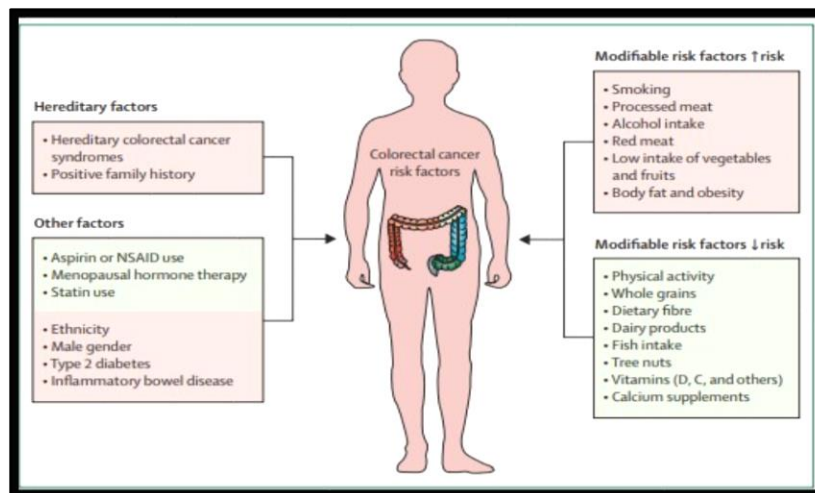


Figure5 : Facteurs de risque du cancer colorectal. (Dekker et al., 2019)

1.7-Physiopathologie :

Le cancer colorectal (CCR) est une maladie multifactorielle dont la physiopathologie repose sur une séquence d'événements moléculaires incluant des altérations génétiques, épigénétiques et inflammatoires, qui affectent plusieurs voies de signalisation cellulaires. Le développement tumoral suit quatre étapes : initiation, promotion, progression et métastase. L'initiation commence par des mutations irréversibles (ex : formation d'adduits à l'ADN) causées par des carcinogènes, menant à l'apparition d'adénomes. La progression tumorale est marquée par l'activation de voies comme Wnt/ β -caténine, RAS/RAF/MEK/ERK, PI3K/AKT/mTOR, TGF- β , ou encore Notch, responsables de la prolifération, de la résistance à l'apoptose et de la métastase. D'autres voies comme Hedgehog, Hippo, ou AMPK modulent également le microenvironnement tumoral et la plasticité cellulaire. Des phénomènes comme l'instabilité chromosomique (CIN), le phénotype CIMP, et l'instabilité des microsatellites (MSI) contribuent à la diversité moléculaire du CCR. Enfin, l'inflammation chronique, via des médiateurs comme NF- κ B ou IL-6/STAT3, joue un rôle central dans la promotion tumorale, en favorisant les mutations, la prolifération, et la dérégulation immunitaire. (Li et al., 2024)

1.8-Les voies de signalisation impliquées dans la cancérogenèse colorectale :

1.8.1-La voie Wnt/APC/ β -caténine :

La voie Wnt, ou voie APC/ β -caténine, est essentielle dans la carcinogenèse colorectale, étant activée dans 80 % des cancers colorectaux, qu'ils présentent des phénotypes CIN⁺ ou MSI⁺. La mutation du gène APC, responsable de 60 à 80 % des cas, perturbe la dégradation de la β -

caténine, entraînant son accumulation et sa migration dans le noyau, où elle active des gènes favorisant la prolifération, comme c-MYC. Cette activation peut aussi résulter de mutations de la β -caténine ou de TCF4, en particulier dans les tumeurs MSI+. Cette voie joue un rôle crucial dans la prolifération des cellules tumorales et la perte d'adhérence cellulaire, facilitant ainsi la migration et la progression de la tumeur (Laurent-Puig P. *et al.*, 2010)

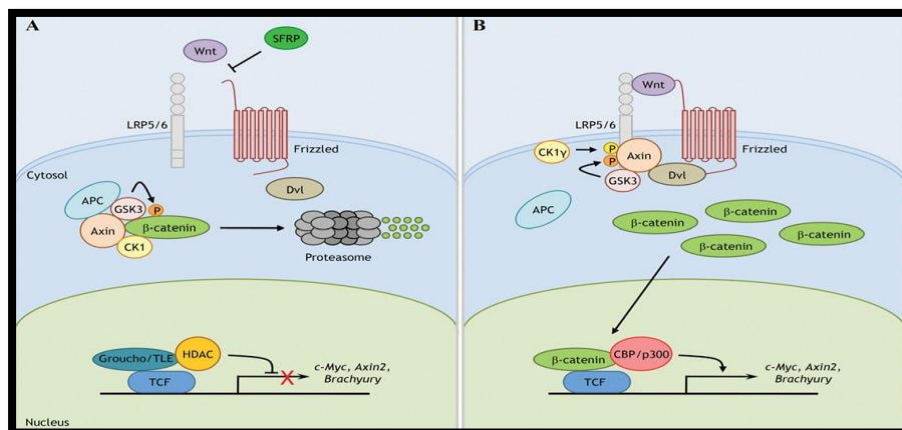


Figure 6 : Voie de signalisation Wnt/ β -caténine (Kim et al., 2013)

1.8.2-Voie EGFR/RAS/RAF/MAPK :

La voie de signalisation RAS–RAF–MAPK joue un rôle central dans le développement du cancer colorectal. Elle est activée par la liaison d'un facteur de croissance comme l'EGF au récepteur EGFR, déclenchant une cascade impliquant RAS, RAF, MEK et ERK. Cette cascade active des gènes régulant la prolifération cellulaire, la survie, l'angiogenèse et la résistance à l'apoptose (Bellio et al., 2021). Des mutations de KRAS ($\approx 40\%$) et de BRAF ($\approx 10\%$) sont fréquemment observées, rendant les cellules tumorales plus agressives et résistantes aux traitements anti-EGFR. Cette voie est particulièrement active dans les sous-types moléculaires CMS1 et CMS4, ce dernier étant associé à une forte inflammation, une angiogenèse accrue et une EMT, caractéristiques d'un cancer plus agressif (Malki et al., 2021). De plus, la mutation BRAF est un marqueur de mauvais pronostic et un outil prédictif pour guider les thérapies dans le cancer colorectal métastatique (Van Cutsem et al., 2019).

1.8.3-Voie PI3K/AKT :

Le mutant KRAS stimule la prolifération cellulaire via l'activation de la voie PI3K/AKT (Luo, 2020). Le statut mutationnel de PI3K, notamment au niveau de sa sous-unité catalytique alpha (PIK3CA), constitue un marqueur pronostique potentiel dans le cancer colorectal,

souvent associé à des mutations de KRAS et à un mauvais pronostic (Luo, 2020). Tant le KRAS sauvage activé que le KRAS mutant se lie directement à la PI3K, induisant sa stimulation et la production de PIP3 à la membrane plasmique, permettant ainsi la transmission du signal (Korzeniecki, 2020). Plusieurs molécules effectrices interviennent dans cette cascade, et les mutations de KRAS induisent une signalisation MAPK anormalement élevée dans les cellules tumorales (László, 2021). De plus, les mutations activatrices de PIK3CA, présentes dans plus de 25 % des CCR, constituent un mécanisme émergent d'activation de la voie PI3K (Armaghany, 2012).

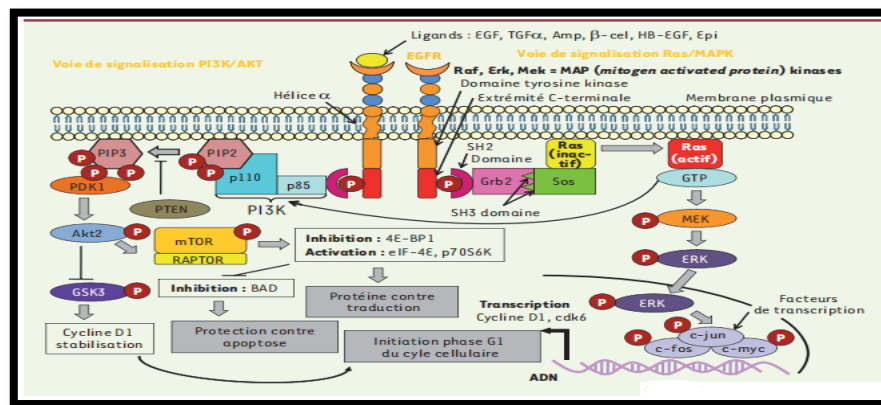


Figure7: LES VOIES RAS/RAF/MAPK et PI3K/AKT (Laurent-Puig et al., 2009)

1.8.4-La Voie TP53 :

La protéine p53 est un acteur central du maintien de la stabilité génétique, régulée en conditions normales par MDM2 et MDM4. En cas de stress cellulaire, elle est stabilisée et active des gènes impliqués dans l'arrêt du cycle, la réparation de l'ADN ou l'apoptose. Dans le CCR, environ 50 % des tumeurs présentent des mutations du gène TP53, souvent des mutations faux-sens entre les exons 4 et 8. Ces altérations entraînent soit une perte de fonction, empêchant la fixation à l'ADN, soit un gain de fonction conférant à p53 un rôle oncogène. La mutation de TP53 est liée à une forme plus agressive du CCR, une progression accélérée et une résistance aux traitements. En effet, l'efficacité de certaines chimiothérapies repose sur une p53 fonctionnelle. Par ailleurs, p53 inhibe des voies de survie comme PI3K/AKT via PTEN.(Lei, Shi & Zhu, 2024)

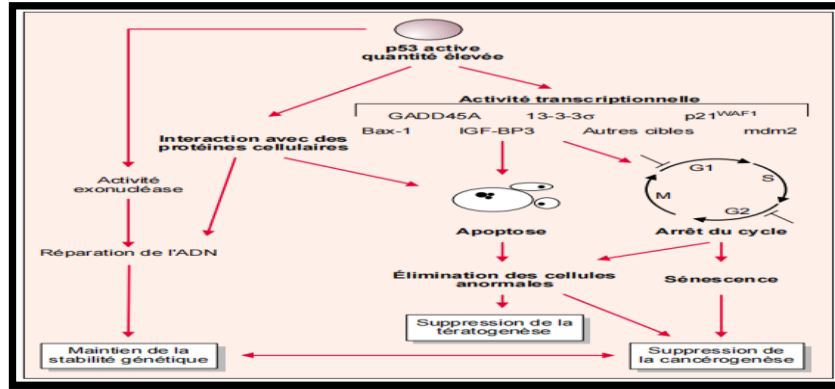


Figure8 : Voie TP53/MDM2 (Soussi, T. 2000).

1.8.5-Voie

TGF- β /SMAD

:

Le TGF- β est une cytokine multifonctionnelle impliquée dans la régulation du cycle cellulaire, l'apoptose et la différenciation. Dans le CCR, cette voie joue un double rôle : suppressive aux stades précoces en bloquant la prolifération, puis oncogène aux stades avancés en favorisant invasion, métastases et immunosuppression. Cette bascule est due à des mutations touchant ses récepteurs ou Smad4. La signalisation canonique implique TGFBR2, TGFBR1, Smad2/3 et Smad4, et est régulée par Smad7. L'altération de TGFBR2 ou Smad4 favorise la prolifération et l'angiogenèse par VEGF (Bakrim et al., 2024)

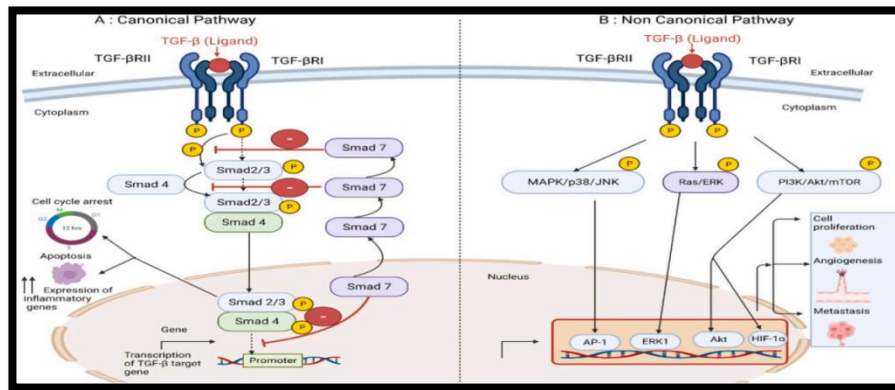


Figure9 : la voie de signalisation TGF- β (Chung et al., 2021)

1.9-Classification des carcinomes colorectaux :

1.9.1-Classification selon TNM :

La classification TNM repose sur trois critères principaux: la taille et la profondeur d'invasion de la tumeur (T), l'atteinte des ganglions lymphatiques ainsi que leur nombre (N), et la

présence éventuelle de métastases à distance (M). L'analyse combinée de ces éléments permet de déterminer le stade d'évolution du cancer colorectal (AJCC, 2017). (**tableau1**) (Annexe3)

1.9.2-Classification selon les stades :

Il existe 4 stades du cancer colorectal :

- **Le stade 0:** signifie que la tumeur est *in situ*, restant très superficielle sans atteinte des ganglions lymphatiques et sans métastase à distance.
- **Le stade I:** traduit une tumeur qui envahit la sous-muqueuse ou la couche musculuse de la paroi du côlon ou du rectum mais sans atteinte des ganglions lymphatiques et sans métastase à distance.
- **Le stade II:** signifie que les cellules cancéreuses ont traversé plusieurs couches de la paroi du côlon ou du rectum, mais sans atteinte des ganglions lymphatiques et sans métastase à distance.
- **Le stade III:** traduit un envahissement ganglionnaire proche de la tumeur par les cellules cancéreuses.
- **Le stade IV:** stade le plus sévère, signifie que le cancer s'est propagé au-delà du côlon ou du rectum, en formant des métastases dans des organes éloignés. (Mon Cancer, s.d.)

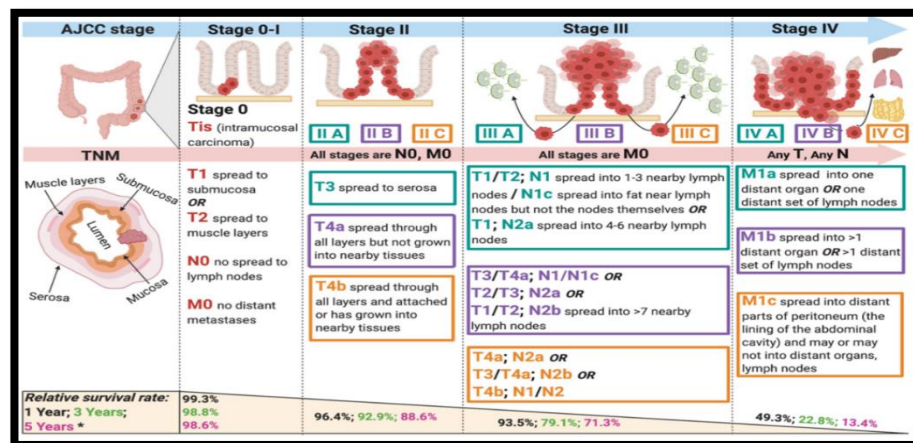


Figure 10: Les stades du cancer colorectal selon l'American Joint Committee on Cancer (AJCC), 8e édition . (Shek et al., 2021)

1.10-Diagnostic du cancer colorectal : Le diagnostic du CCR repose sur une approche en plusieurs étapes incluant l'examen clinique, les tests de dépistage, les examens endoscopiques, l'imagerie médicale, et l'analyse anatomopathologique.

1.10.1-Interrogatoire clinique et dépistage en population générale :

Le diagnostic commence par un interrogatoire clinique approfondi et un examen physique, incluant le toucher rectal. Un test immunologique de recherche de sang occulte dans les selles (FIT), représente un test, simple, non invasif et accessible, permet une détection précoce des cas suspects (Gupta S., 2022)

1.10.2-Imagerie pour le bilan d'extension :

L'imagerie joue un rôle fondamental dans le bilan d'extension. Des examens tels que le scanner abdomino-pelvien. L'IRM pelvienne, ou le PET-scan sont utilisés pour évaluer l'extension locale et à distance de la maladie (Cutsem E.V. et al., 2016).

1.10.3-Coloscopie et endoscopie :

La **coloscopie** constitue la méthode de référence pour le diagnostic du cancer colorectal. Elle permet une visualisation complète du côlon, l'ablation des polypes et la réalisation de biopsies. Elle réduit à la fois l'incidence et la mortalité du CCR.(Kolligs, 2016)

1.11-Manifestation clinique :

Le cancer colorectal (CCR) est souvent asymptomatique aux stades initiaux, ce qui peut considérablement retarder le diagnostic et la prise en charge. Lorsqu'il se manifeste, les signes cliniques sont généralement peu spécifiques, voire atypiques, comme des douleurs non localisées, une asthénie isolée ou une altération progressive de l'état général. Les symptômes les plus fréquents incluent des modifications du transit intestinal, la présence de sang dans les selles, des douleurs abdominales persistantes, une perte de poids inexplicée, une fatigue chronique et une anémie ferriprive. À un stade avancé, des complications graves peuvent survenir, telles qu'une occlusion ou une perforation intestinale, ainsi que la présence de métastases hépatiques ou pulmonaires révélatrices de la maladie. (Dekker et al., 2019; Navarro et al., 2017)

1.12-Traitement de cancer colorectal :

Le traitement du cancer colorectal (CCR) repose sur une approche multimodale qui associe :

1.12.1-Résection chirurgicale : La chirurgie est le principal traitement curatif du CCR, visant à retirer la tumeur avec des marges de sécurité et en respectant les plans anatomiques, particulièrement pour les tumeurs rectales où la résection du mésorectum est essentielle (Weiser & Garcia-Aguilar, 2019). Deux techniques sont utilisées : la chirurgie conventionnelle par laparotomie, réservée aux cas complexes, et la chirurgie mini-invasive par laparoscopie, qui offre des bénéfices en termes de récupération postopératoire et réduction des complications (Panis, 2007; Vennix et al., 2014).

1.12.2-Radiothérapie : particulièrement indiquée dans les cancers du rectum, en traitement néoadjuvant. Elle a pour objectif de réduire la taille tumorale avant la chirurgie et d'améliorer la résectabilité (Dekker et al., 2019).

1.12.3-Chimiothérapie : utilisée après la chirurgie (adjuvant), en néoadjuvant pour les cancers du rectum, ou en situation métastatique (Chiorean et al., 2020). Les principales molécules sont les fluoropyrimidines, comme le 5-FU et la capécitabine (Phelip et al., 2019), souvent associées à l'oxaliplatine (FOLFOX) ou à l'irinotécan (FOLFIRI). Le protocole FOLFIRINOX combine les trois pour les cas plus agressifs (DeStefanis et al., 2019). L'essai FOXTROT II explore la chimiothérapie néoadjuvante personnalisée chez les patients âgés (DeStefanis et al., 2019).

1.12.4-Thérapies ciblées : Les thérapies ciblées sont essentielles dans le traitement du CCR métastatique. Leur indication dépend du profil moléculaire tumoral, notamment les mutations KRAS, NRAS, BRAF et le statut MSI (DeStefanis et al., 2019). Les anti-angiogéniques comme le bevacizumab ciblent le VEGF (Holch et al., 2016).

1.12.5-Immunothérapie : L'immunothérapie est indiquée dans les CCR avec instabilité des microsatellites (MSI-H) ou déficience des systèmes de réparation des mésappariements (dMMR). Les inhibiteurs de points de contrôle immunitaire comme le pembrolizumab, le nivolumab et l'ipilimumab activent le système immunitaire contre les cellules tumorales (Galluzzi et al., 2014). D'autres approches expérimentales incluent les vaccins antitumoraux, les virus oncolytiques et les cytokines (Xiang et al., 2013; Fukuhara et al., 2016; Johdi & Sukor, 2020).

2.1-Présentation de service anatomopathologie :

C'est au sein du ce service d'Anatomie et de Cytopathologie du Centre Hospitalo-Universitaire Mustapha (Alger) que s'est déroulée notre étude rétrospective, portant sur une série de 238 patients atteints d'un cancer colorectal ayant bénéficié d'une chirurgie de résection colique et/ou rectale à des stades avancés, avec des grades de différenciation tumorale variables. Cette étude s'étant déroulée du mois de février au mois de mai 2025. Les caractéristiques clinicopathologiques analysées incluant l'âge, le sexe, le site tumoral, le type histologique (grade), ainsi que son stade évolutif ont été collectées.

2.2-Matériels et méthodes :

2.2.1-Matériels:

2.2.1.1-Matériel biologique :

Notre étude a été réalisée sur des tissus tumoraux fixés au formol et inclus en paraffine, sélectionnés dans des zones représentatives contenant au moins 10 % de cellules tumorales, sans nécrose ni inflammation significative.

2.2.1.2-Matériel non biologique : (Annexe 1) :

2.2.2-Méthodes:

Nous avons adopté trois principales techniques:

2.2.2.1-Technique Histopathologie:

L'étude histopathologique consiste en l'étude microscopique de prélèvements tissulaires obtenus par biopsie ou par dissection de pièces opératoires après chirurgie. L'anatomopathologie, quant à elle, repose sur l'examen macroscopique des lésions et l'analyse microscopique des cellules et tissus à l'aide de diverses techniques, en se basant principalement sur l'évaluation morphologique. Dans cette étude, des biopsies et pièces opératoires de cancers colorectaux provenant du service de chirurgie ont été analysées au Service d'Anatomie et de Cytopathologie. Les caractéristiques cliniques ont été consignées pour chaque patient sur une fiche de renseignements.

2.2.2.1.1-Examen macroscopique :

- ✓ Après la réception de la pièce opératoire, celle-ci est soigneusement lavée à l'eau courante afin d'éliminer le formol.
- ✓ Le pathologiste procède ensuite à la description macroscopique, en mesurant la longueur, la circonférence de la pièce, ainsi que la taille de la tumeur, et en décrivant son aspect.
- ✓ Des fragments sont prélevés à partir de la masse tumorale et des limites de résection chirurgicale.
- ✓ Ces fragments, découpés en fines tranches de 2 à 3 mm d'épaisseur et 1 à 2 cm de longueur, sont placés dans des cassettes en plastique identifiées par le numéro d'enregistrement, accompagné d'un chiffre romain pour chaque prélèvement.
- ✓ Chaque cassette est ensuite conservée dans du formol à 10 %.
- ✓ L'examen macroscopique permet ainsi de mesurer précisément la taille tumorale et de rechercher la présence éventuelle de ganglions atteints .Il est recommandé d'examiner au minimum 12 ganglions. **(voir l'annexe1, figure11)**

2.2.2.1.2- Les étapes de l'examen microscopique :

a) Fixation:

La fixation des prélèvements dans une solution de formaldéhyde à 10 % est essentielle pour conserver les structures tissulaires et les déterminants antigéniques. Elle limite l'autolyse et la putréfaction en préservant la morphologie cellulaire. Le volume de fixateur doit être dix fois supérieur à celui du prélèvement, avec un temps de fixation de 24 heures pour les biopsies et de 48 heures pour les pièces opératoires.

b) Circulation :

La circulation consiste à faire séjourner les prélèvements dans une série de liquides à l'aide d'un automate spécifique pendant 24 heures(**voir la annexe 1**). Cette technique a pour but de rigidifier les tissus afin de les maintenir intacts lors des manipulations. Elle se déroule en trois étapes principales:

b.1)

Déshydratation:

La fixation dans un agent fixateur contenant de l'eau rend le prélèvement mou. Pour assurer une bonne inclusion dans la paraffine, le prélèvement doit être entièrement déshydraté. Cette étape consiste à remplacer l'eau par de l'alcool en utilisant trois bains d'alcool de degré croissant (70°, 95°, 100°), avec une immersion de deux heures dans chaque bain. La déshydratation est réalisée automatiquement à l'aide d'un appareil de traitement des tissus comportant 12 bains d'alcool (xylène + éthanol) organisés en cercle, permettant un transfert automatique des paniers d'un bain à un autre avec agitation constante. Le cycle complet dure environ 22 à 24 heures.

b.2) Éclaircissement :

Après la déshydratation, l'éclaircissement consiste à remplacer l'éthanol par un solvant miscible avec la paraffine pour rendre le tissu plus transparent. Cette étape est réalisée en immergeant les tissus dans trois bains successifs de xylène, durant deux heures pour chaque bain.

b.3) Imprégnation :

L'imprégnation consiste à remplacer le solvant par la paraffine. La paraffine pénètre dans les tissus en utilisant trois bains successifs, de deux heures chacun, afin d'obtenir des fragments de tissus durs, prêts pour l'inclusion.

C) Enrobage et inclusion :

L'enrobage a pour but d'inclure les fragments tissulaires dans des blocs de paraffine afin de permettre la confection de coupes fines et régulières (2 à 5 µm). Les moules sont préchauffés à 60°C, puis les fragments sont placés avec une orientation correcte dans la paraffine liquide. Après fixation de la cassette sur le fragment, les moules sont refroidis sur une plaque froide avant d'être conservés au congélateur à 4°C, afin de solidifier les blocs et faciliter la coupe. (voir l'annexe1 figure12)

D) Confection des coupes:

La confection des coupes fines est réalisée à l'aide d'un microtome. Après avoir dégrossi les blocs de paraffine, des rubans tissulaires de 2 à 5 µm sont obtenus, puis étalés sur des lames codées après passage dans un bain-marie à 40-45°C pour éviter les plis. Ensuite, les lames

sont séchées dans une étuve à 65°C afin de fixer les coupes et éliminer la paraffine résiduelle. (voir l'annexe1 figure13)

2.2.2.1.3-La coloration à l'hématoxyline – Eosine (HE):

C'est une coloration topographique de routine permettant l'identification des noyaux et du cytoplasme. Cette technique associe une coloration nucléaire en bleu grâce à l'hématoxyline de Harris (colorant basique) et une coloration rose du cytoplasme grâce à l'éosine (colorant acide), est réalisée selon les étapes suivantes:

- ✓ **Un déparaffinage:** réalisé à l'aide de xylène (trois bains, 5min chaque bac) afin d'éliminer la paraffine.
- ✓ **Une réhydratation:** réalisée en utilisant (4 bains d'éthanol, 1min chaque bac) de degrés décroissants.
- ✓ **Une coloration à l'hématoxyline de Harris:** qui a teinté les noyaux en bleu (1bac de 3min).
- ✓ **Une coloration à l'éosine:** qui a teinté le cytoplasme en rose (1bac de 1min).
- ✓ **Une déshydratation:** par l'utilisation des bains d'éthanol de degrés croissants pour déshydrater, suivie d'une étape pour réaliser l'éclaircissement des tissus se fait dans un bain de xylène.
- ✓ **Réalisation du montage:** entre lame et lamelle en déposant une goutte de milieu de montage Eukitt. (voir l'annexe1 figure14)

➤ Observation microscopique :

La lecture de l'ensemble des lames a été faite à l'aide d'un microscope optique sur plusieurs grossissements (Gx4), (Gx10) et (Gx20) (Gx40) par le médecin pathologiste. Grâce à cette étape, le caractère tumoral des différentes lésions a bien été affirmé ; aboutissant ainsi à l'identification de la tumeur, en s'appuyant sur son phénotype cellulaire et tissulaire. Cette étape nous a permis donc, de juger si seule l'interprétation des coupes colorées par l'HE était suffisante pour le diagnostic du caractère malin ou bien d'autres techniques complémentaires immunohistochimiques ou de biologie moléculaire étaient indispensables.

2.2.2.2-Immunohistochimie :

La technique immunohistochimique permet de détecter et de localiser des antigènes (protéines membranaires, cytoplasmiques ou nucléaires) dans des coupes tissulaires, en utilisant des anticorps spécifiques révélés par une réaction colorimétrique enzymatique. Elle est très utile pour l'étude de la fonction cellulaire dans les tissus normaux et pathologiques.

Dans le cadre de notre étude, cette technique a été utilisée pour détecter l'expression intacte ou la perte des protéines du système MMR (MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2), afin de déterminer le statut de réparation des mésappariements (MSS ou MSI). Un total de 186 échantillons de tissus de CCR ont été étudiés.

2.2.2.2.1-Procédure de l'immun-détection de MLH1, MSH2, MSH3 et PMS2 :

➤ Préparation des coupes et incubation dans l'étuve :

- ✓ Réaliser des coupes de tissu tumoral, fixées au formol et incluses en paraffine, de 4 µm d'épaisseur, obtenues à l'aide d'un microtome.
- ✓ Les coupes ont été déposées sur des lames silanisées afin d'éviter leur décollement.
- ✓ Les lames ont été incubées à 37°C pendant 24 heures pour assurer l'adhérence du tissu à la lame. (voir l'annexe1 figure 15)

➤ Déparaffinage et réhydratation :

- ✓ Pour éliminer la paraffine, nous avons procédé à un déparaffinage réalisé dans trois bains de xylène (5 min chacun).
- ✓ La réhydratation été réalisée par 3 bains d'éthanol de degrés décroissants (100%, 95%, 70%) (5 min chacun).
- ✓ Le rinçage des lames été fait à l'eau distillée

➤ Démasquage antigénique :

- ✓ Les échantillons ont été tout d'abord mis dans la solution tampon TRS à PH 7,0
- ✓ L'antigène a été démasqué par préchauffage dans un bain-marie à une température entre 97°C à 100°C pendant 40 min .

- ✓ les échantillons sont refroidis à la température ambiante pendant 20 min et lavés à l'eau distillée. (voir l'annexe1 figure 16)
- **Délimitation avec crayon hydrophobe :**
- ✓ L'échantillon sur la lame a été encadré à l'aide d'un **DAKO-PEN** (stylo hydrophobe) pour éviter la dispersion des réactifs. (voir l'annexe1 figure 17)
- **Blocage de la peroxydase endogène :**
- ✓ Blocage des sites antigéniques non spécifiques a été réalisé par l'action du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) à la température ambiante pendant 20 minutes.
- ✓ Un rinçage des lames à l'eau distillée puis au PBS a été effectué pendant 5 à 10 minutes.
- **Application de l'anticorps primaire :**
- ✓ Les anticorps monoclonaux primaires anti-MMR de souris utilisés pour l'identification du statut MMR sont : anti-MLH1 ((G168-728), Cell marque), anti-MSH2 ((G219- 1129), Cell Marque), anti-MSH6 (SP93, Cell Marque), anti-PMS2 (EPR3947, Cell Marque) et de Leica.
- ✓ Les lames ont ensuite été incubées avec des anticorps primaires à la température ambiante pendant (40 min) dans une chambre humide .
- ✓ Puis un lavage des lames avec du tampon phosphate salin (PBS) pendant 5min (deux fois) (voir l'annexe1 figure18)
- **Application de l'anticorps secondaire :**
- Sont réalisées :
- ✓ Une première application à l'aide du HRP Amplificateur, suivi d'une incubation pendant 15 minutes, puis d'un rinçage.
- ✓ Ensuite, on applique le HRP Polymère Détecteur, également incubé pendant 15 minutes.

- ✓ À la fin, les lames sont placées dans une solution de lavage PBS pendant 5 minutes, à raison de trois lavages successifs. **(voir l'annexe1 figure19)**

Révélation :

- ✓ La révélation est effectuée à l'aide du DAB (diaminobenzidine) combiné à un chromogène.
- ✓ Le mélange est préparé en ajoutant 1 mL de DAB à une goutte de chromogène.
- ✓ Ce mélange permet de visualiser la réaction antigène-anticorps (AG-AC), grâce à la forte affinité du DAB pour les anticorps.
- ✓ Cette réaction enzymatique entraîne une coloration marron au niveau des structures contenant l'antigène.
- ✓ Les lames sont ensuite incubées pendant une durée de 20 secondes à 10 minutes, selon l'intensité de la coloration souhaitée.
- ✓ Un lavage avec une solution PBS est réalisé pour éliminer l'excès de réactif. **(voir l'annexe1 figure20)**

➤ **Contre-coloration :**

Les lames sont immergées dans une solution de l'hématoxyline de Mayer pendant 5min pour colorer les noyaux en bleu, puis rincées à l'eau courante. **(Voir l'annexe1 figure21)**

➤ **Montage :**

Eukitt est le milieu de montage déposé pour coller la lamelle sur la lame. **(Voir l'annexe1 figure22)**

➤ **Observation des lames :**

- ✓ Elle est effectuée en utilisant un microscope optique.

2.2.2.3-L'étude moléculaire :

Cette étude a été réalisée sur 150 patients. L'analyse moléculaire des mutations (KRAS, NRAS et BRAF) a été réalisée par PCR en temps réel (RT-PCR).

2.2.2.3.1-Principe de la PCR en temps réel :

La RT-PCR est une méthode d'amplification de l'ADN permettant la détection de séquences cibles au fur et à mesure de leur répllication. Elle repose sur l'utilisation de sondes

fluorescentes spécifiques, dont le signal augmente à chaque cycle en fonction de l'ADN amplifié, ce qui permet une détection rapide, sensible et spécifique de mutations génétiques comme celles des gènes *KRAS*, *NRAS* et *BRAF*.

Dans notre étude, l'analyse a été réalisée à l'aide de l'automate Idylla™.

2.2.2.3.2-Recherche des mutations:

L'étude des mutation **Idylla**™ *KRAS* et *NRAS* (Biocartis, Malines, Belgique), porte le marquage CE-IVD et permet la caractérisation de 23 de points chauds de mutation RAS dans les exons 2, 3 et 4, à savoir G12D, G12A, G12C, G13D, G12D, G12S, G12S, G12 V et G12R, A59T / E / G, Q61H, Q61K, Q61R / L, K117N et A146P / T / V. En plus, Le test de mutation **Idylla**™ *BRAF* utilise des réactions multiples de PCR et permet l'amplification de l'exon 600 de l'oncogène *BRAF*. Ce test Idylla ne nécessite ni déparaffinage, ni quantification de l'ADN ni d'isolement de l'ADN génomique, car les actions de déparaffinage, d'extraction d'ADN et de PCR sont entièrement automatisées et réalisées dans une cartouche à usage unique. Durant cette étude nous avons procédé à une évaluation du contenu en cellules tumorales, suivie d'un placement des coupes histologiques dans la cartouche Idylla™, et enfin il a été procédé à une lecture et interprétation des résultats. (voir l'annexe1 figure23)

✧ Analyse statistique

L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel Prism Graphpad version 6. Les variables qualitatives ont été comparées par le test du Chi carré ou le test exact de Fisher. Toutes les valeurs avec $p \leq 0,05$ ont été considérées comme statistiquement significatives.

3.1-Résultats :

3.1.2-Histopathologie et caractéristiques des patients :

Notre étude a porté sur 238 patients atteints exclusivement d'un adénocarcinome colorectal (CCR), ayant subi une résection chirurgicale du côlon et/ou du rectum, ou une résection d'un autre organe en cas de métastase (poumon, foie...) .Les caractéristiques clinicopathologiques enregistrées et analysées comprenaient le sexe, l'âge, le site tumoral primaire, le grade et le stade de la tumeur.

3.1.2.1-Répartition des cas de CCR selon le sexe :

Sur le total de 238 patients inclus dans l'étude, un nombre de 131 d'hommes contre 107 cas de femmes a été répertorié, avec un un sex-ratio hommes/femmes de 1,22.

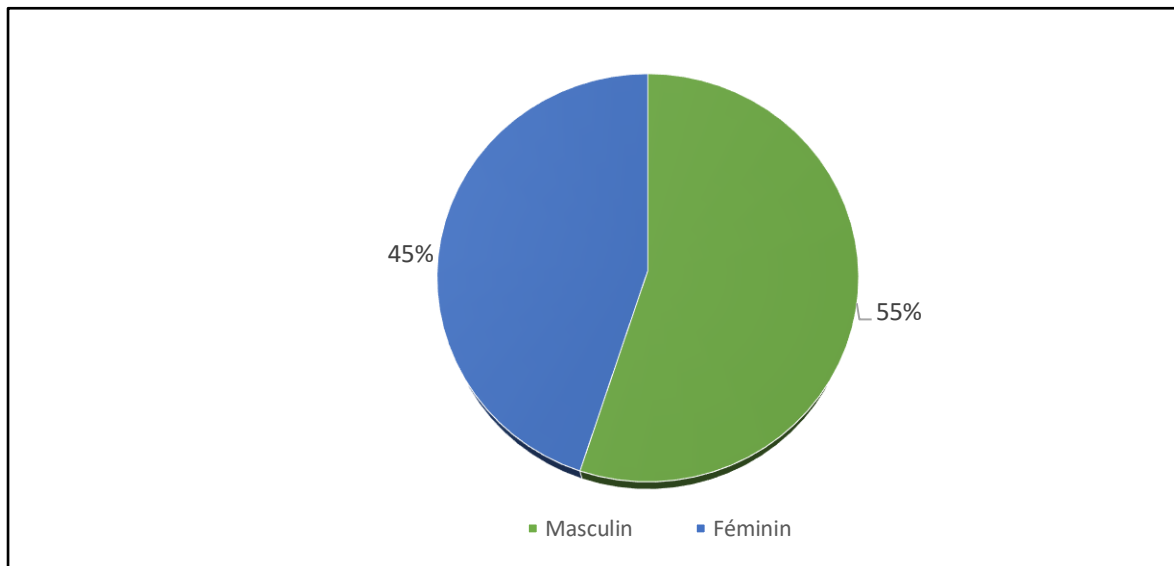


Figure 24: Répartition des cas de CCR selon le sexe.

3.1.2.2-Répartition des cas de CCR selon l'âge:

L'âge médian des patients est de 60 ans (19-94 ans) chez les patients atteints du cancer colorectal. La distribution globale des patients selon leur âge au moment du diagnostic met en évidence un pic au niveau l'intervalle d'âge ≥ 50 ans ($n= 198$). On remarque par contre une part importante de patients jeunes : 40 sont âgés de moins de 50 ans au diagnostic (soit 16,81 % de la cohorte).

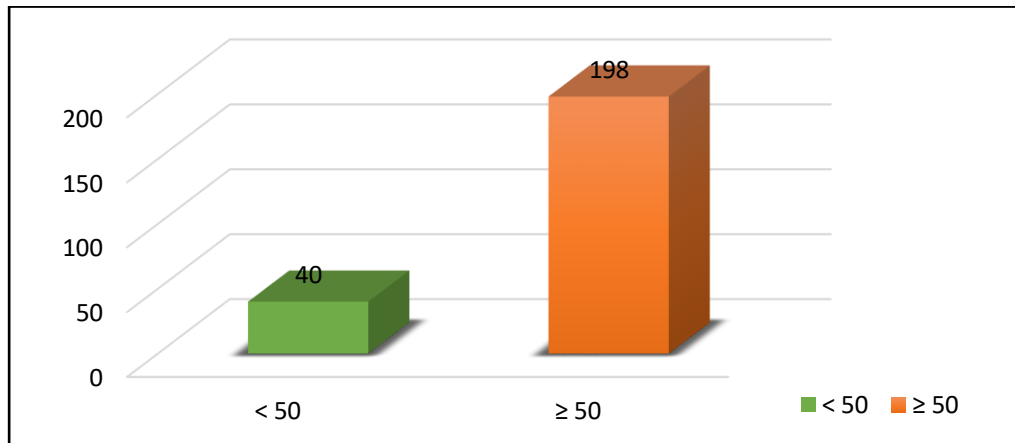


Figure 25: Répartition des patients selon l'âge

3.1.2.3-Répartition des cas de CCR selon la localisation de tumeur :

la localisation tumorale des patients atteints de CCR se présente comme suit :

- ✓ La localisation colite droite est présente chez 91 cas, ce qui représente 38,23%.
- ✓ La localisation colite gauche est présente chez 94 cas, ce qui représente 39,50%.
- ✓ La localisation rectale est présente chez 44 cas, ce qui représente 18,49%.
- ✓ 9 cas présentent des métastases qui proviennent de différents sites tumoraux et organes tels que le foie, le poumon, le péritoine etc..., ce qui représente 3,78%.

En observant cette répartition des adénocarcinomes selon la localisation tumorale, on note que la localisation colique gauche est le siège le plus fréquent avec 39,50%. Il convient de noter que les tumeurs localisées dans le cæcum, le côlon ascendant et le côlon transverse sont classées comme des tumeurs du côté droit, tandis que les tumeurs localisées dans le côlon descendant, le côlon sigmoïde sont considérées comme des tumeurs du côté gauche.

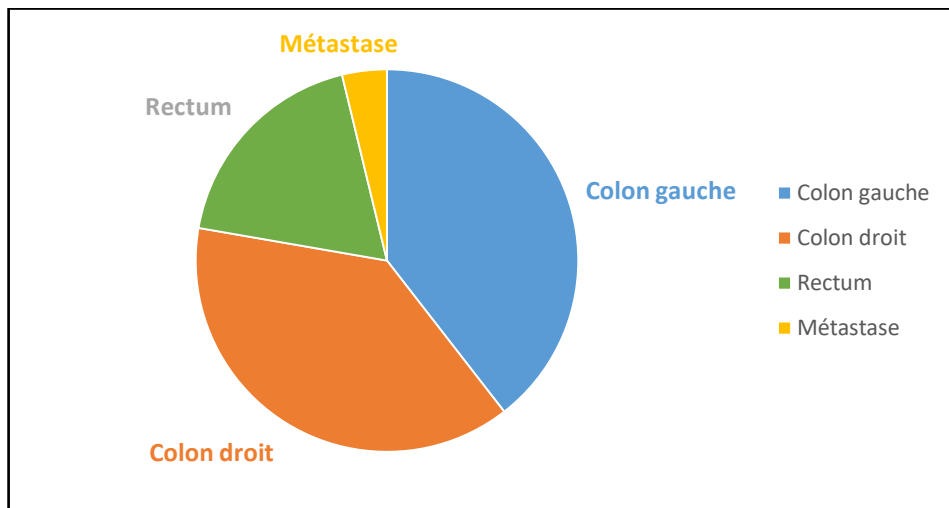


Figure 26 : Répartition des cas de CCR en fonction du localisation de tumeur

3.1.2.4-Répartition des cas de CCR selon la fonction du grade (degré) de différenciation:

Le sous-type histologique et le degré de différenciation des tumeurs ont été attribués selon la classification de l'OMS. L'analyse anatomo-pathologique a permis de reconnaître un grand nombre (107 cas) de lésions tumorales à type d'adénocarcinome bien différencié (ABD = 44,96 %).

En ce qui concerne les autres sous-types histologiques, le CCR peut être divisé en :

- ✓ Nous avons recensé 98 cas de cancer colorectal (CCR) de type adénocarcinome moyennement différencié (AMD), soit 41,18 % des cas. Cette catégorie inclut également les adénocarcinomes bien à moyennement différenciés, en raison de leur similarité morphologique et de leur comportement histologique intermédiaire.
- ✓ Par ailleurs, 16 cas de CCR (6,72 %) ont été classés comme carcinomes peu différenciés (APD), regroupant aussi les adénocarcinomes moyennement à peu différenciés, compte tenu de leur aspect histologique plus agressif.
- ✓ 17 cas de CCR de type carcinome mucineux (CM = 7,14 %).

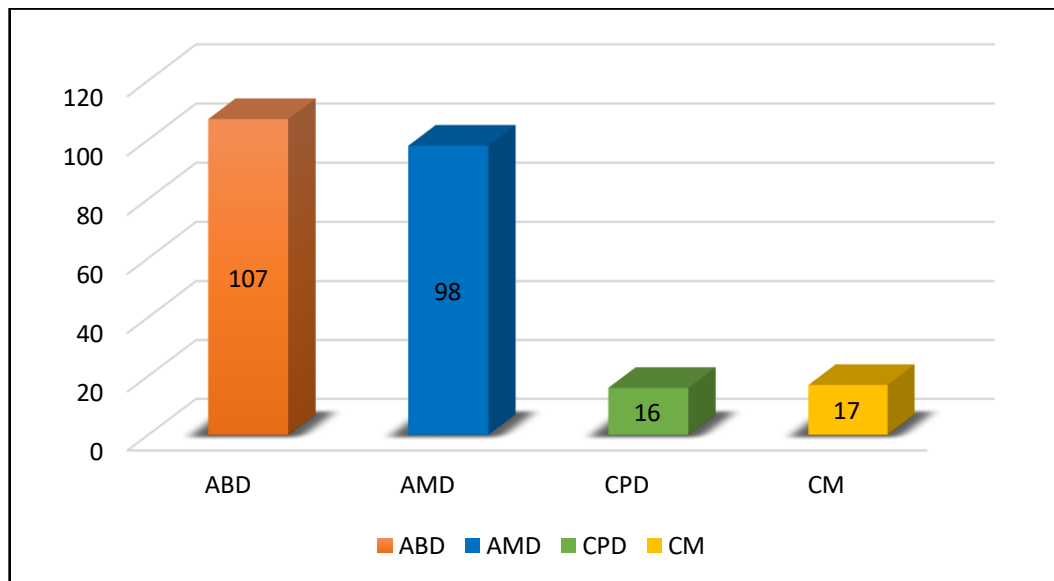


Figure 27 : Répartition des cas de CCR en fonction du grade.

3.1.2.5-Distribution des cas de CCR selon le stade :

Le système de stadification des métastases ganglionnaires tumorales (TNM) AJCC-UICC (8ème édition, 2017) , reste la référence en matière de pronostic du CCR nouvellement diagnostiqué. Les cas de CCR ont été répartis en fonction de la profondeur de l'invasion tumorale dans la paroi intestinale (pT), comme le montre la **figure 28**. La distribution des adénocarcinomes en fonction des stades montre que la majorité des patients a été tardivement diagnostiqué au stade II (47,48%). Dans notre série, nous avons aussi identifié :

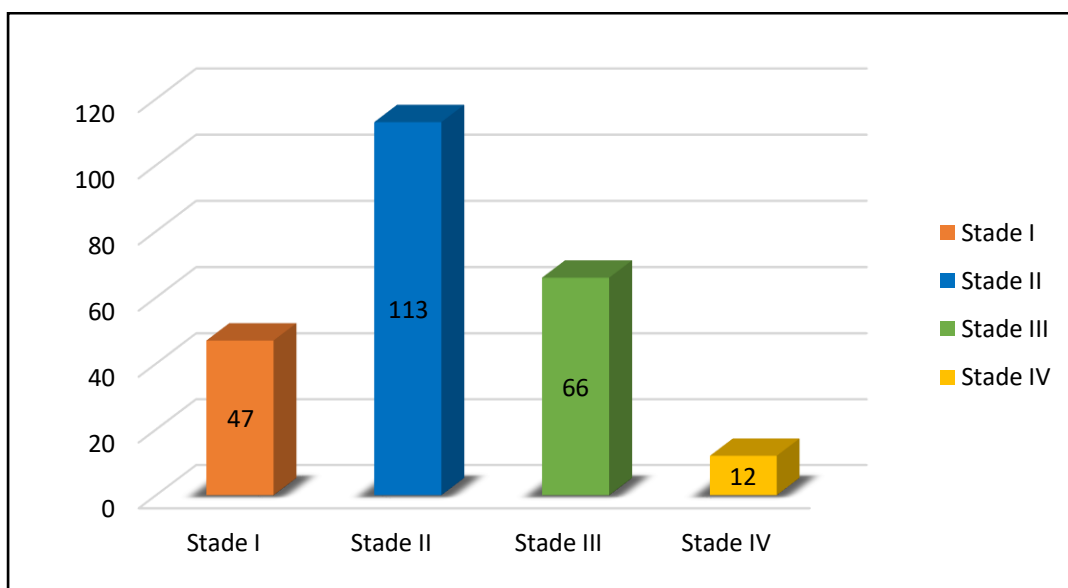
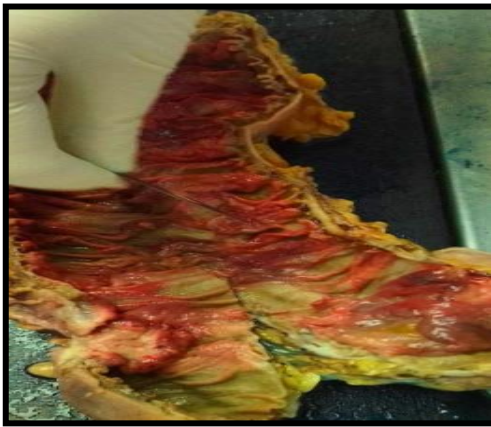


Figure 28: Distribution des cas de CCR selon le stade

3.1.3-Étude de l'histopathologie des tumeurs :

3.1.3.1-Examen macroscopique :



Ouverte

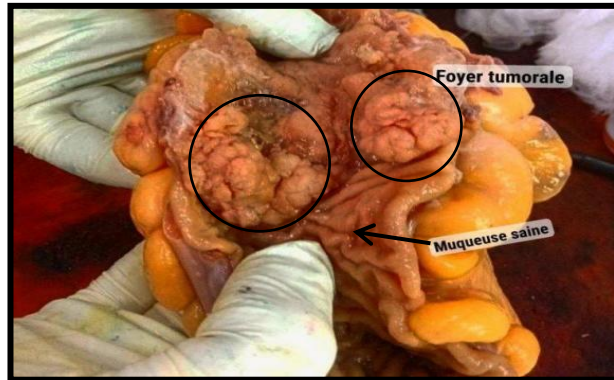


Fermer

Figure 29: Pièce du colectomie droit fermer et ouverte, mesurée 50 cm.



Masse tumoral



tumeur ulcéro-bourgeonnante

Figure 30: observation macroscopiques des tumeurs coliques en contraste avec la muqueuse saine

- Ces figures illustrent un foyer tumoral exophytique, arrondi et ferme, présentant un centre ulcéré entouré d'une muqueuse saine et plane. La masse tumorale apparaît légèrement plus foncée et hémorragique en comparaison avec le tissu sain adjacent.

3.1.3.2-Examen microscopique :

La paroi du côlon est composée de cinq couches histologiques distinctes représentées au niveau de **la figure 31**.

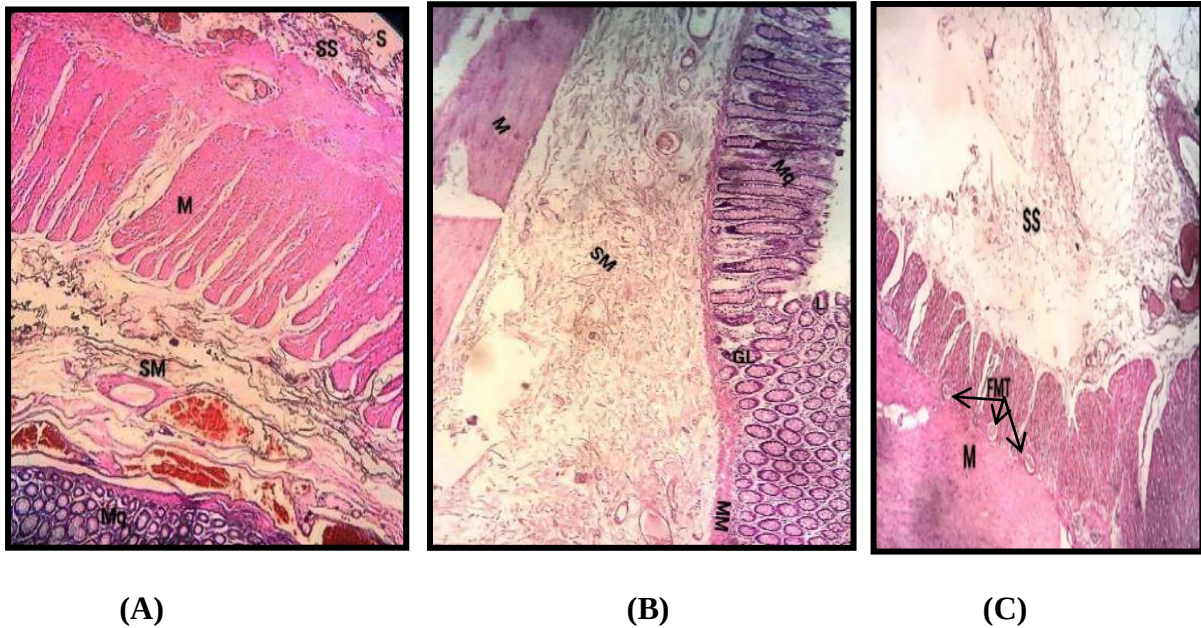


Figure 31 : Aspect histologique de la paroi colique normale du côlon (G.X20)

(A) **Mq**: muqueuse, **SM** : sous muqueuse, **M** : musculature, **SS** : sous séreuse, **S**: séreuse

(B) **Mq**: muqueuse, **MM**: musculature muqueuse, **SM** : sous muqueuse, **M** : musculature, **GL**:glande de Lieberkühn, **L**: lumière. (C) **M** : musculature, **SS** : sous séreuse, **FMT**:filets myentériques d'Auerbach.

- Ces coupes histologiques (G×20) illustrent la structure normale de la paroi colique, avec une organisation nette des couches : muqueuse, sous-muqueuse, musculature, sous-séreuse et séreuse. Les glandes de Lieberkühn sont bien visibles, sans anomalie.

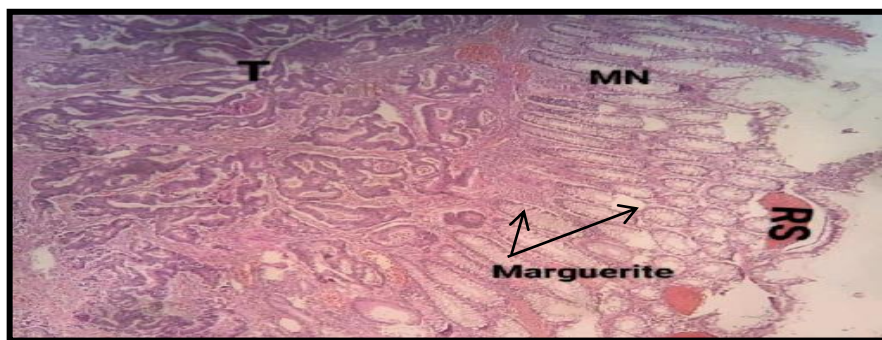


Figure32 : Aspect histologique d'un pièce opératoire rectal montre la muqueuse normale et la tumeur (forme irrégulier) (G.X10)

MN: muqueuse normal, **T**: tumeur, **RS**: ruches de sang

- Coupe histologique montrant une tumeur infiltrant la muqueuse rectale, avec un contraste net entre la muqueuse normale et le tissu tumoral, accompagné de structures vasculaires visibles.

3.1.3.3-Les différents sous-types histologiques du cancer colorectal :

La grande majorité des cancers colorectaux (plus de 90 %) sont des adénocarcinomes issus de l'épithélium de la muqueuse intestinale. Dans notre série, le sous-type le plus fréquent était l'adénocarcinome bien différencié (44.96 %). Le grade histologique, basé sur le degré de différenciation et notamment la formation glandulaire, constitue un critère pronostique important, indépendamment du stade TNM utilisé pour la classification tumorale.

✓ Adénocarcinome bien différencié (Grade 1):

Ce type représente la forme la plus fréquente dans notre série (44.96 %). Il est caractérisé par une organisation glandulaire conservée à plus de 95 %, traduisant un haut degré de différenciation. L'architecture des glandes de Lieberkühn reste globalement préservée malgré les modifications tumorales.

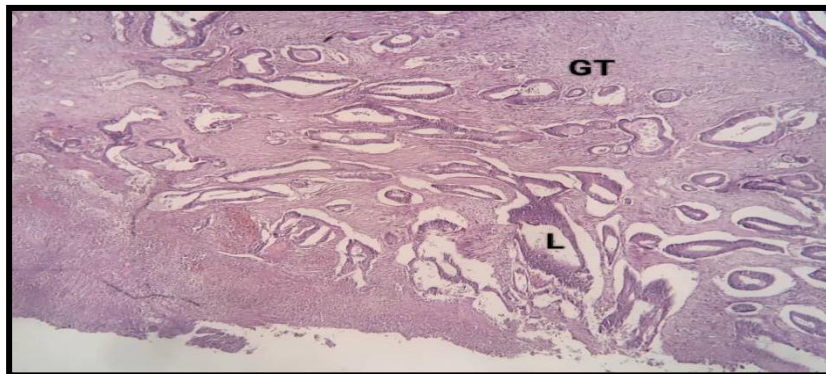


Figure 33:Aspect histologique du prélèvement biopsique révélant un adénocarcinome bien différencié et ulcéré du côlon droit, stade II. (G. X 10)

GT : glande tumorale, L: lumière

- Coupe histologique montrant un adénocarcinome bien différencié avec des structures glandulaires tumorales et une lumière conservée, correspondant à un stade II.

✓ Adénocarcinome moyennement différencié (Grade 2):

Présentant une différenciation intermédiaire, ce sous-type montre une formation glandulaire entre 50 et 95 %. Les cellules tumorales forment des lobules irréguliers, avec une perte partielle de l'organisation normale

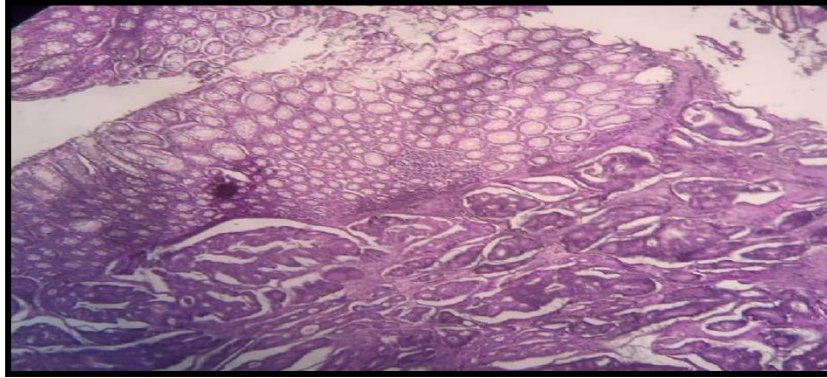
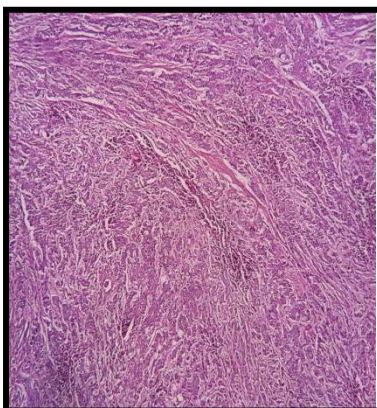


Figure 34: Aspect d'un adénocarcinome moyennement différencié (la muqueuse avec aspect cribriforme. (G. X 10)

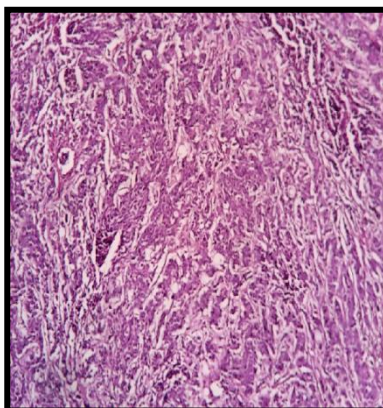
- Coupe histologique montrant un adénocarcinome moyennement différencié avec des structures glandulaires tumorales à architecture cribriforme, correspondant à un stade III.

✓ **Carcinome peu différencié (Grade 3):**

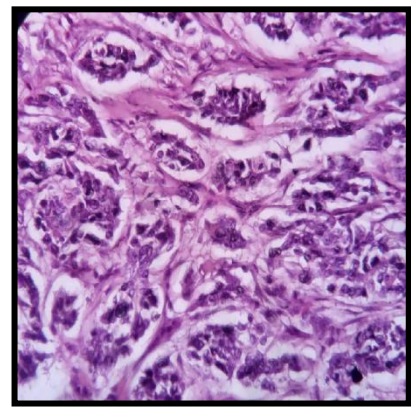
Ce type se caractérise par une différenciation faible, avec moins de 50 % de structures glandulaires. L'architecture tumorale est souvent solide, et les cellules apparaissent isolées ou en bague à chaton, traduisant une tumeur plus agressive.



(A)



(B)



(C)

Figure 35: Aspect histologique d'un carcinome peu différencié de colon droit stade III, colorés à HE (A) Gx 4; (B) G.10x et (C) Gx 40.

- Coupe histologique montrant un carcinome peu différencié avec une architecture tumorale solide et des cellules peu organisées, correspondant à un stade III.

✓ **Carcinome mucineux:**

Ce sous-type se définit par une abondance de mucine extracellulaire occupant plus de 50 % de la tumeur. Les cellules malignes y flottent dans des lacs de mucine, ce qui est associé à un comportement plus agressif.

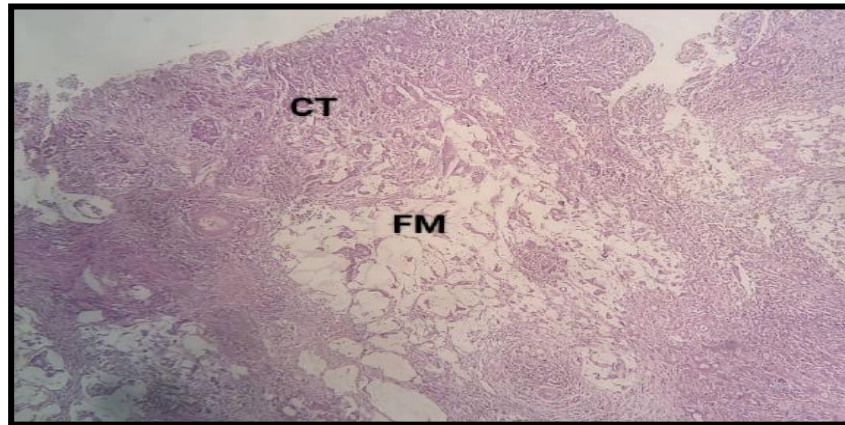


Figure 36 : Aspect histologique d'un carcinome mucineux colorectal, coloration H&E (Gx 4)

CT : cellule tumoral ; **FM :** flaques de mucine

- Coupe histologique montrant un carcinome mucineux colorectal avec des plages abondantes de mucine extracellulaire et des cellules tumorales en suspension dans les lacs de mucine, correspondant à un sous-type histologique agressif.

3.1.4-L'analyse immunohistochimique du statut MMR

Sur un total de 186 patients atteints d'un cancer colorectal, l'analyse immunohistochimique de l'expression des quatre protéines MMR montre que l'instabilité des microsatellites (MSI) était présente chez 18 cas (9,68%) ; 14 cas présentaient un phénotype MSI-H et 4 cas présentaient un phénotype MSI-L. La majorité des cas étaient des microsatellites stables (MSS) (168/186).

Il convient de noter que la détermination du statut MSI est réalisée en comparant le nombre de biomarqueurs instables. Si l'expression d'une seule protéine MMR est perdue, le phénotype est dit MSI-L (MSI-faible ou MSI-low). La tumeur est nommée MSI-H (MSI-élevé ou MSI-High), lorsqu'au moins deux protéines perdent leurs fonctions stables.

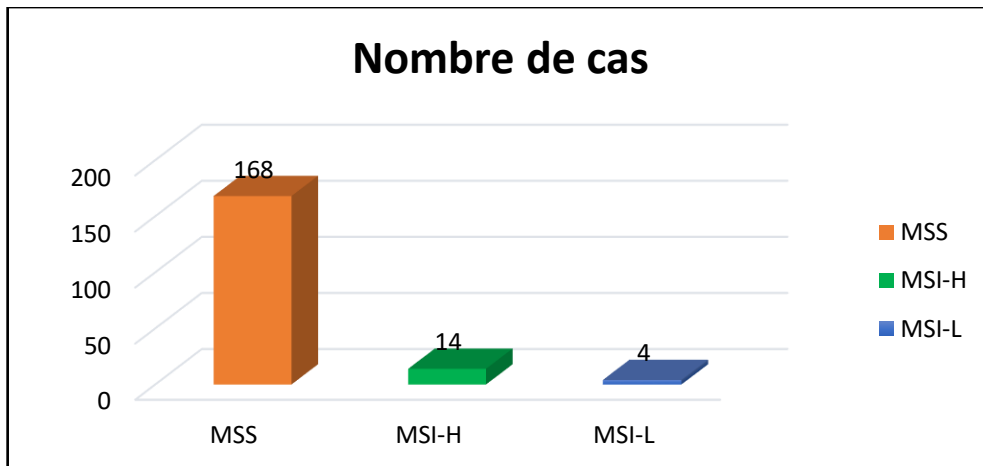


Figure 37: Évaluation du statut MMR

3.1.4.1-Immunodétection de MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2 :

L'expression des protéines du système MMR est considérée comme positive lorsqu'une coloration nucléaire est observée. Chaque lame a été accompagnée d'un contrôle positif (carcinome colorectal MSS) ainsi que d'un contrôle interne (lymphocytes, cellules des cryptes coliques, fibroblastes ou entérocytes adjacents). L'expression d'un phénotype pMMR (MSS) est retenue lorsque la coloration nucléaire est présente dans les cellules tumorales et les témoins internes. En revanche, un phénotype dMMR (MSI) est conclu en cas d'absence de marquage nucléaire tumoral pour une ou plusieurs protéines MMR, malgré une expression conservée dans les témoins internes.

➤ Profil MSS (Microsatellite Stable) ou pMMR (proficient Mismatch Repair) :

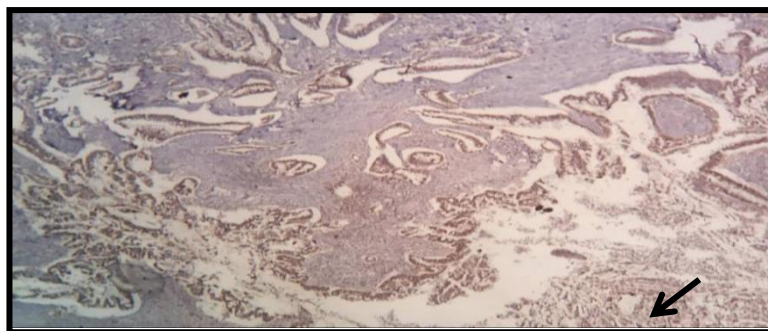


Figure 38: Le profil immunohistochimique montre l'expression positive de la protéine MLH1 dans les cellules tumorales du cancer colorectal. Les lymphocytes stromaux  servent de témoin interne positif. (G×10)

- L'expression positive de MLH1 dans les cellules tumorales suggère une absence de déficit en réparation de l'ADN. Les lymphocytes stromaux, en tant que témoin interne positif, confirment la validité technique du test. Le grossissement (×10) permet une visualisation histologique globale.

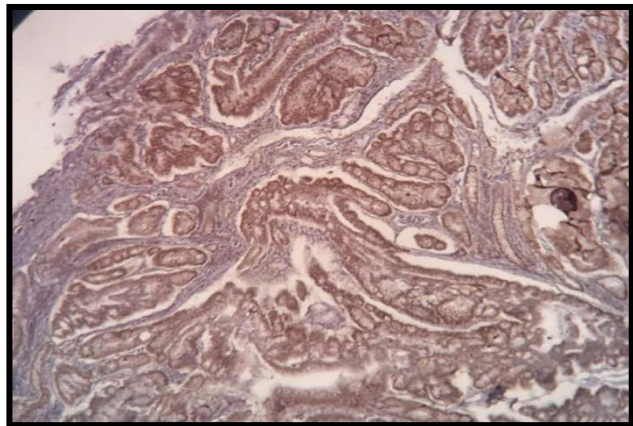
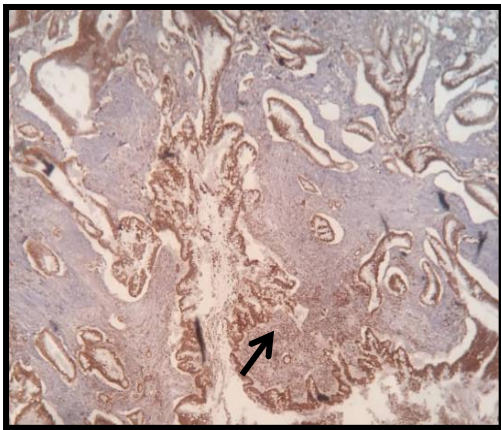


Figure39: Le profil immunohistochimique montre l'Expression positive de la protéine MSH2 dans les cellules tumorales du cancer colorectal. Les lymphocytes stromaux  servent de témoin interne positif. (G×10).

- L'expression positive de MSH2 dans les cellules tumorales suggère une absence de déficit en réparation de l'ADN. Les lymphocytes stromaux, en tant que témoin interne positif, confirment la validité technique du test. Le grossissement (×10) permet une visualisation histologique globale.

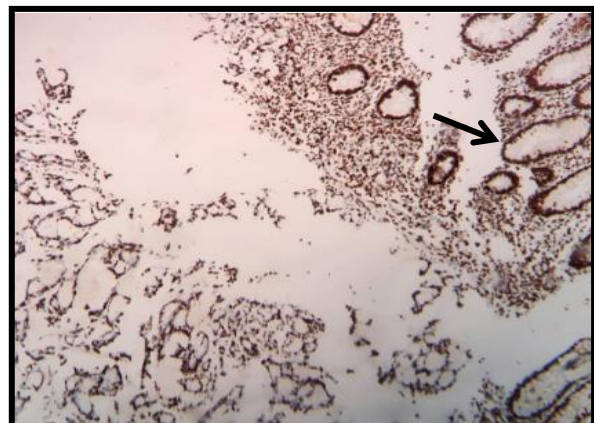
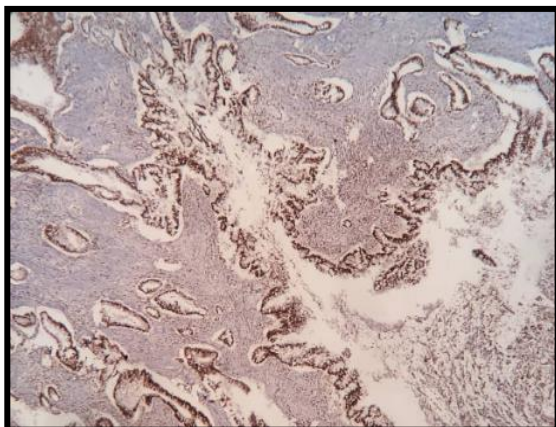


Figure40: Le profil immunohistochimique montre l'Expression positive de la protéine MSH6 dans les cellules tumorales du cancer colorectal. (G×10). Expression nucléaire ↑ du contrôle positif interne.

- L'expression positive de MSH6 dans les cellules tumorales suggère une absence de déficit en réparation de l'ADN. L'expression nucléaire dans les cellules témoins internes, en tant que contrôle positif, confirme la validité technique du test. Le grossissement (×10) permet une visualisation histologique globale.

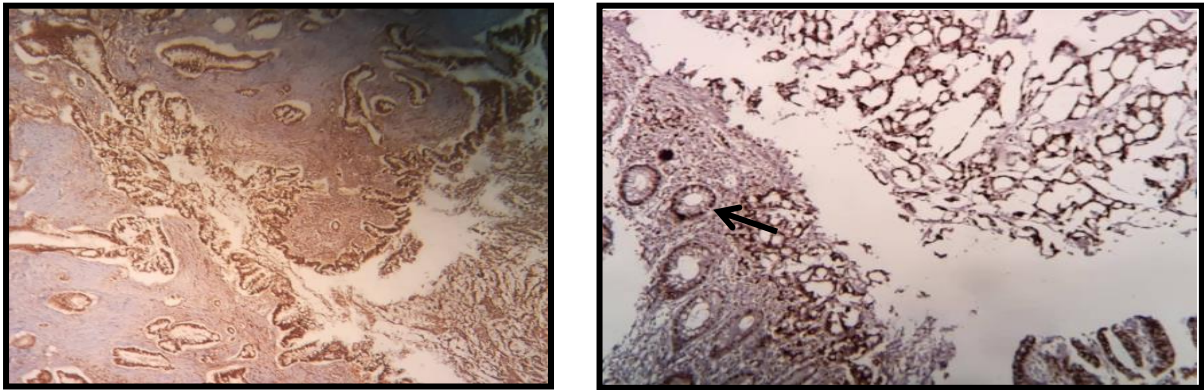
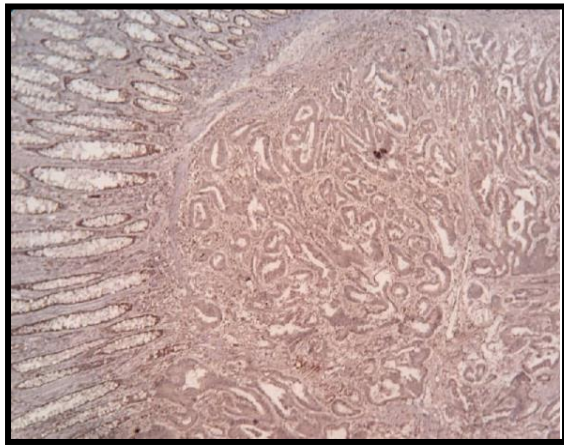


Figure41: Le profil immunohistochimique montre l'expression de la protéine PMS2 dans le cancer colorectal. (Gx10). Expression nucléaire ↑ du contrôle positif interne.

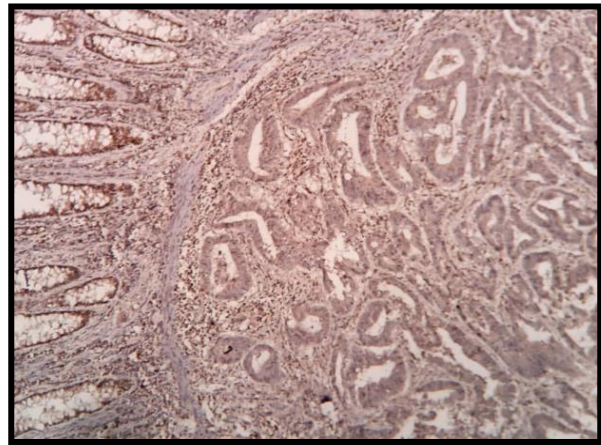
- L'expression positive de PMS2 dans les cellules tumorales suggère une absence de déficit en réparation de l'ADN. L'expression nucléaire dans les cellules témoins internes, en tant que contrôle positif, confirme la validité technique du test. Le grossissement (×10) permet une visualisation histologique globale.

➤ **Profil MSI (Microsatellite Instability) ou dMMR (Mismatch Repair déficient) :**

Figure42 : Profil immunohistochimique montrant une extinction nucléaire de la protéine MLH1 dans un cas de cancer colorectal (A) G ×4 ; (B) G ×10).



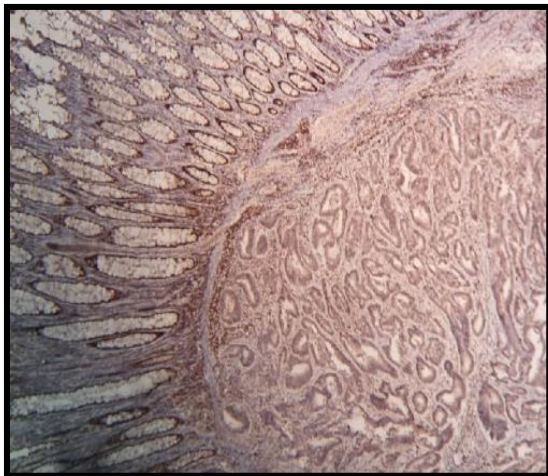
(A)



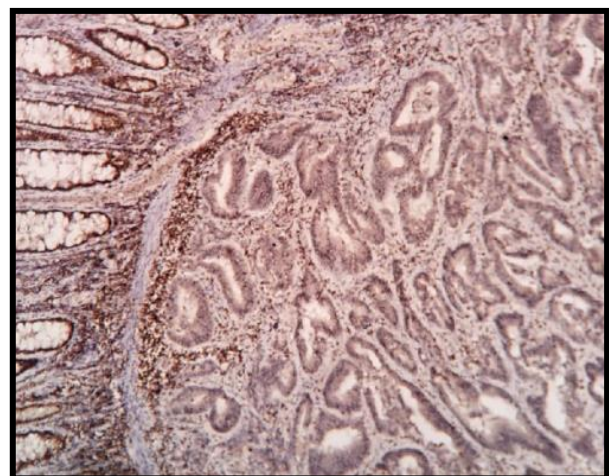
(B)

- La figure 42 montre une perte complète de l'expression nucléaire de MLH1 dans les cellules tumorales, observée aux grossissements $\times 4$ et $\times 10$. Ce profil évoque un défaut du système MMR.

Figure43 : Profil immunohistochimique montrant une extinction nucléaire de la protéine PMS2 dans un cas de cancer colorectal. (A) G $\times 4$; (B) G $\times 10$.



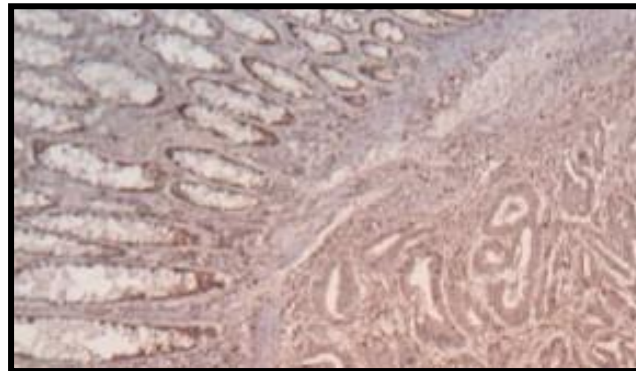
(A)



(B)

- La figure 43 montre une perte complète de l'expression nucléaire de PMS2 dans les cellules tumorales, observée aux grossissements $\times 4$ et $\times 10$. Ce profil évoque un défaut du système MMR.

Figure44 : Profil immunohistochimique montrant une extinction nucléaire de la protéine MSH6 dans un cas de cancer colorectal (G $\times 10$).



- La figure 44 montre une perte complète de l'expression nucléaire de MSH6 dans les cellules tumorales, observée aux grossissements $\times 10$. Ce profil évoque un défaut du système MMR.

3.1.4.2-Corrélation des protéines du système MMR avec les caractéristiques clinicopathologiques des patients et les différentes mutations :

3.1.4.2.1-Etude de la corrélation entre les protéines du système MMR et le sexe :

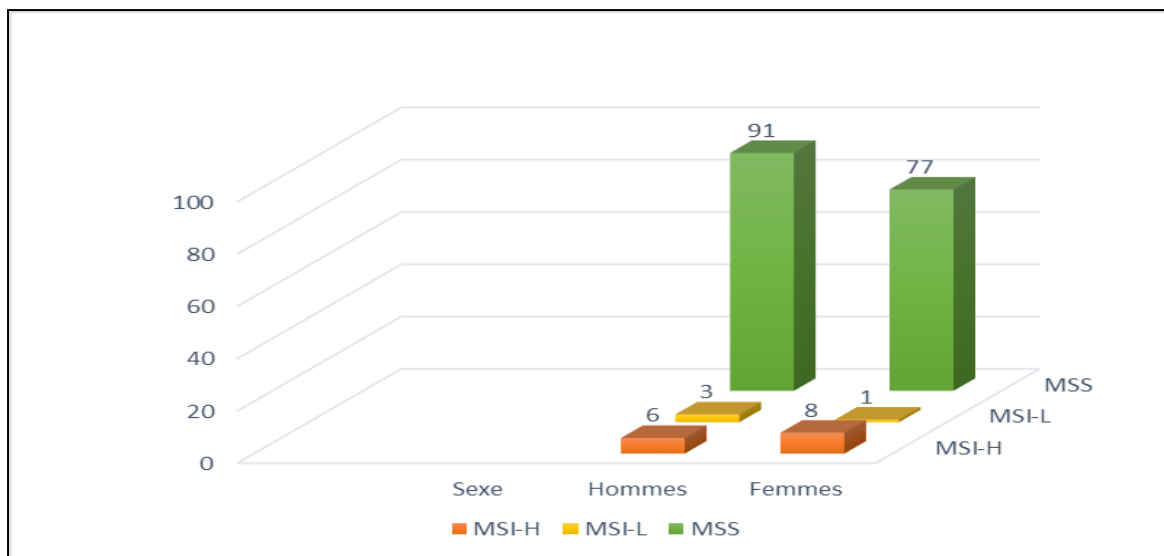


Figure45. Expression des protéines du système MMR en fonction du sexe

- La p-value = 0,4949, largement supérieure au seuil de signification de 0,05, indique l'absence de différence statistiquement significative entre le sexe (homme/femme) et le statut MSI (MSS, MSI-L, MSI-H). Autrement dit, la répartition du statut MSI ne semble pas influencée par le sexe dans l'échantillon étudié.

3.1.4.2.2-Etude de la corrélation entre l'âge et les protéines du système MMR :

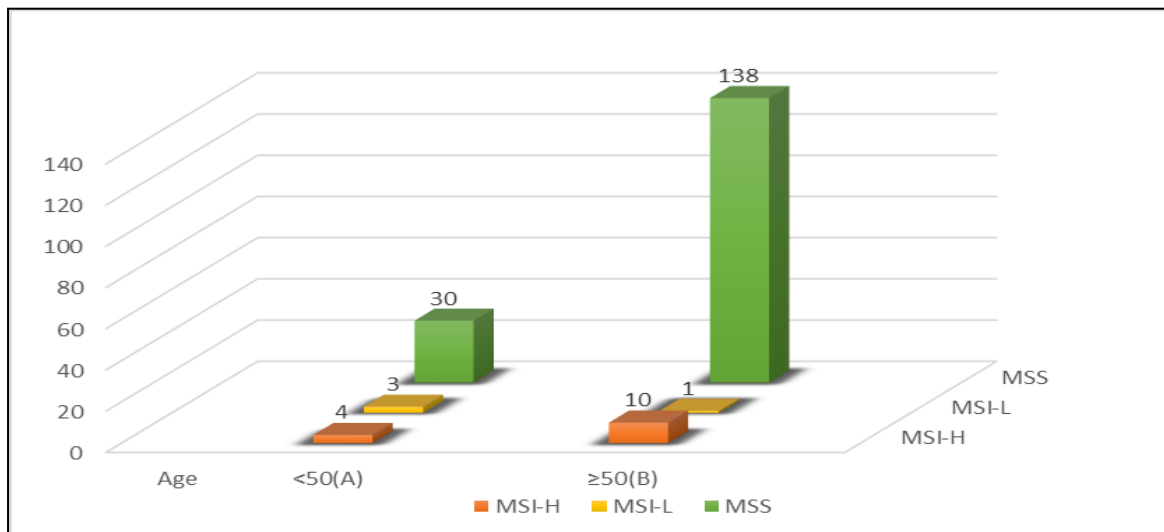


Figure46 : Evaluation du profil des protéines du système MMR en fonction de l'âge.

- Pour faciliter l'analyse statistique, les patients ont été répartis en deux groupes d'âge : moins de 50 ans et 50 ans ou plus. La corrélation entre l'expression des protéines du système MMR et l'âge s'est révélée statistiquement significative ($p < 0,05$). L'instabilité des microsatellites (MSI-H/MSI-L) a été retrouvée chez 7 patients de moins de 50 ans, contre 11 cas chez les patients âgés de 50 ans ou plus, suggérant une corrélation entre l'âge et le statut MSI dans les cas de cancer colorectal.

3.1.4.2.3-Etude de la corrélation entre le site tumoral et l'expression des protéines du système MMR :

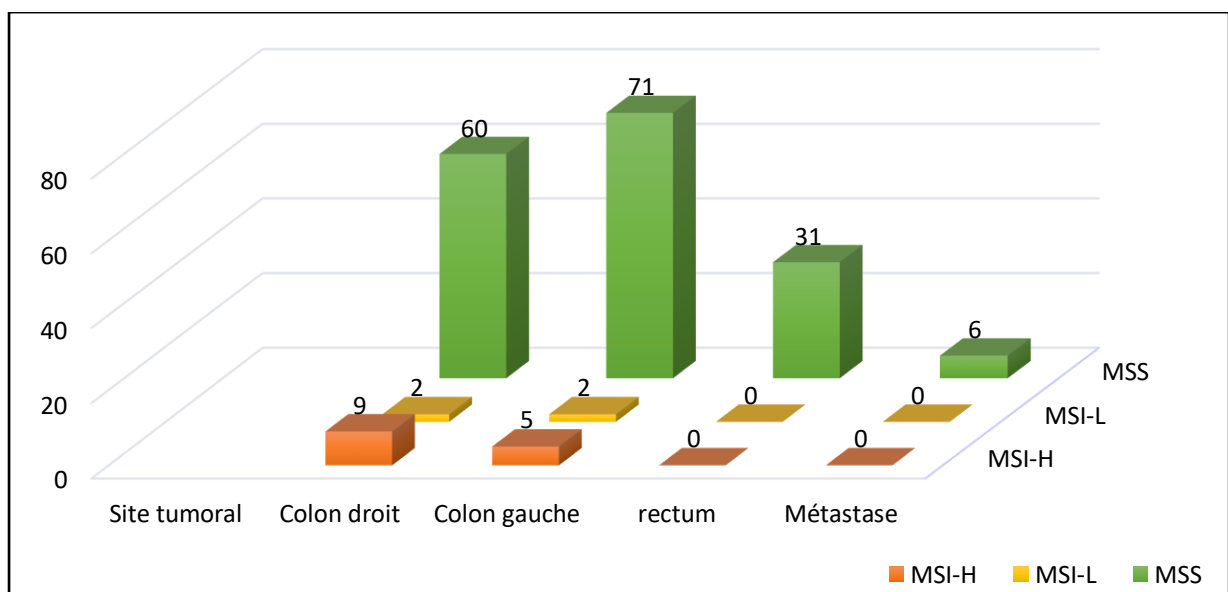


Figure47 : Expression des protéines MMR selon le site tumoral

- L'expression des protéines du système MMR (phénotype MSS) a été observée dans 131 cas de tumeurs coliques, tandis que 18 cas présentaient une instabilité des microsatellites de type MSI. De plus, le phénotype MSS a été retrouvé chez 31 patients atteints de cancer du rectum. Trois cas de métastases avec un phénotype MSS ont été identifiés. Une association statistiquement significative a été trouvée entre le statut MSI et la localisation tumorale ($p = 0,0078$), avec une prédominance des tumeurs MSI-H au niveau du côlon droit.

3.1.4.2.4-Etude de la corrélation entre l'expression des protéines du système MMR et le grade de différenciation :

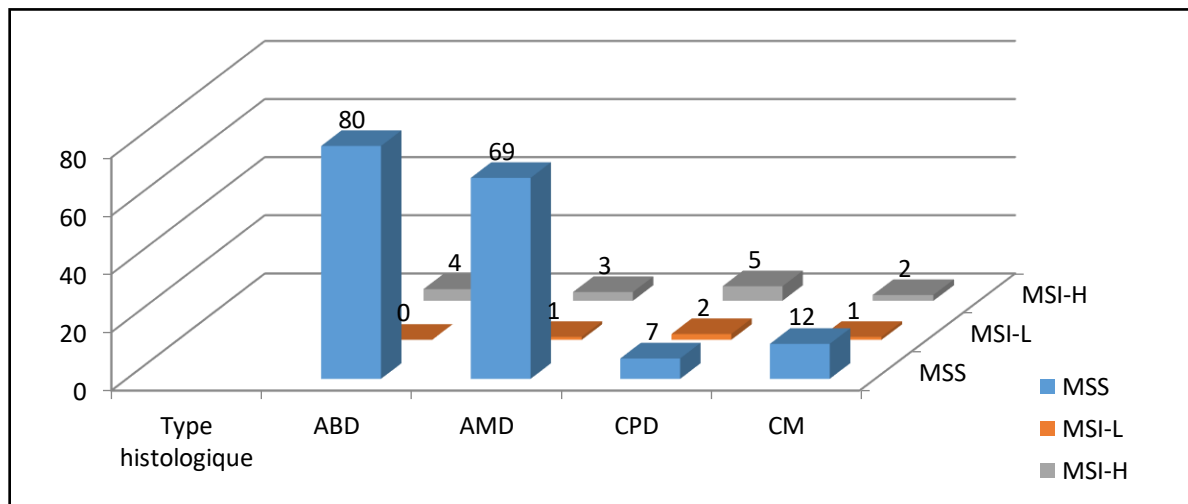


Figure48. Expression des protéines MMR en fonction du grade.

- Une faible proportion de tumeurs MSI (18 cas) a été identifiée dans l'ensemble de la population étudiée. Parmi ces cas MSI, 4 étaient des adénocarcinomes bien différenciés (ABD), 3 des carcinomes mucineux (CM), et 7 des carcinomes peu différenciés (CPD). De plus, notre étude montre que les carcinomes peu différenciés présentent une proportion relativement élevée de phénotypes MSI comparativement aux autres sous-types. L'expression ou la perte des protéines du système MMR est significativement corrélée au type histologique ($p = 0,0079$), indiquant une association entre le statut MSI et le sous-type histologique tumoral.

3.1.4.2.5-Etude de la corrélation entre l'expression des protéines du système MMR et le stade de la tumeur :

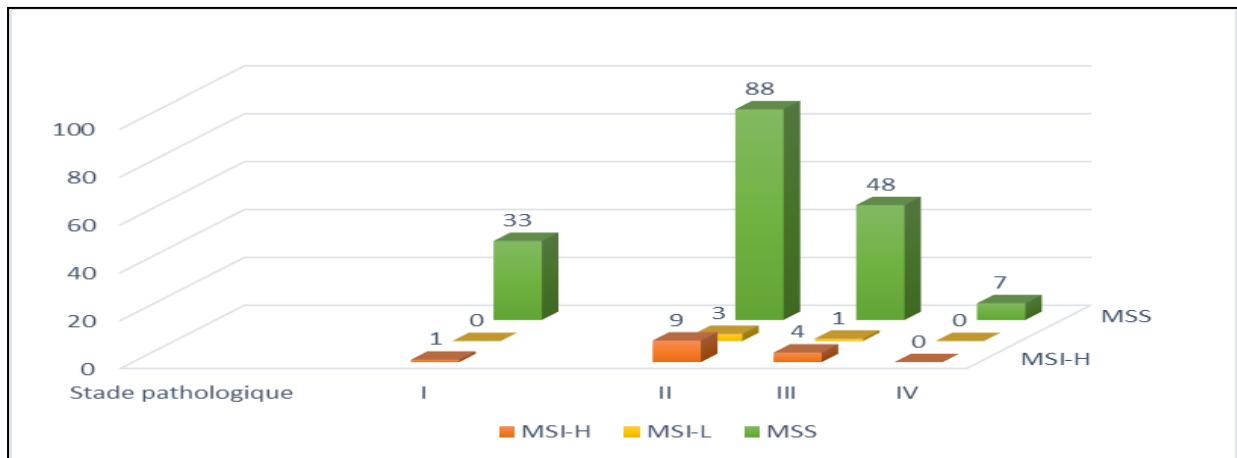


Figure49. Expression des protéines MMR en fonction du stade.

- La majorité des cas avec un phénotype MSS étaient diagnostiqués au stade II. Avec une représentation majoritaire des cas MSI-L et MSI-H au stade II avec une proportion respective de 75 et 64,29 %. Cependant, l'analyse statistique n'a pas mis en évidence de corrélation significative entre le statut MSI/MMR et les différents stades tumoraux $p = 0,6924$.

3.1.5-Détection des mutations des gènes KRAS, NRAS et BRAF par Idylla :

3.1.5.1- Evaluation des statuts KRAS, NRAS et BRAF :

- Le gène KRAS était muté chez 62,41 % des patients, alors que la mutation NRAS, n'était présente que chez 6,25 % des patients et le BRAF 10,42 %.

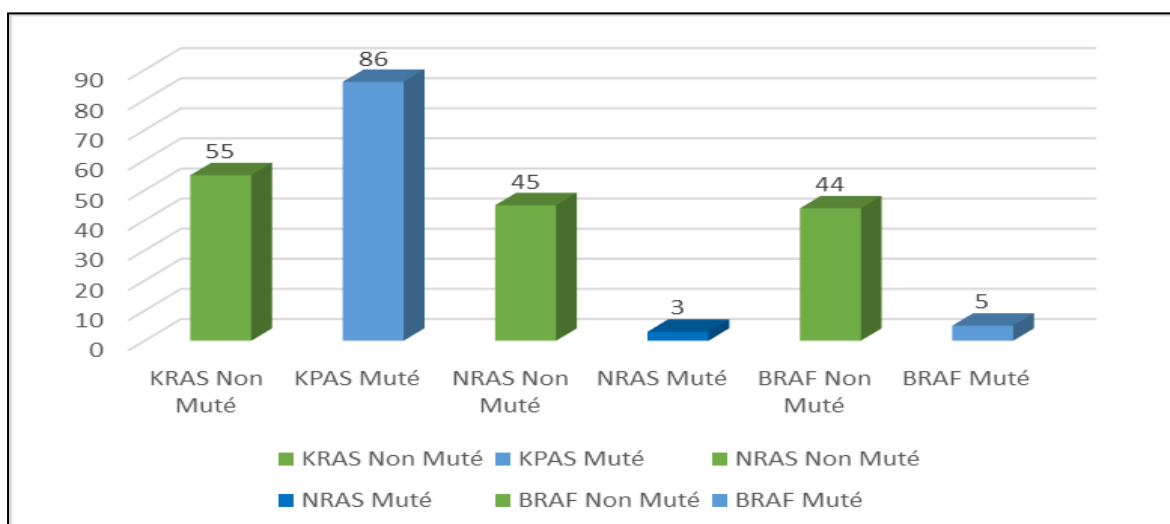


Figure50 : Evaluation des statuts KRAS, NRAS et BRAF.

Les mutations du gène KRAS sont majoritaires, représentant 91,67 % des cas mutés, avec une prédominance marquée au niveau de l'exon 2 (codons 12 et 13), notamment les substitutions G12D (36,46 %), G12V (23,96 %) et G13D (11,46 %). Les mutations des exons 3 (codons 61 et 146) et 4 (codons 59 et 117) sont plus rares mais sont souvent associées à des phénotypes tumoraux plus agressifs. Les mutations NRAS (3,12 %), limitées aux codons 12, et BRAF V600E (5,21 %) restent peu fréquentes, mais cette dernière constitue une cible thérapeutique majeure. Ces résultats soulignent l'importance de cibler en priorité les exons 2 à 4 de KRAS ainsi que l'exon 15 de BRAF lors du profilage moléculaire, afin d'orienter la stratégie thérapeutique, notamment éviter les anti-EGFR en présence de mutations KRAS ou NRAS et envisager des inhibiteurs spécifiques en cas de mutation BRAF V600E.

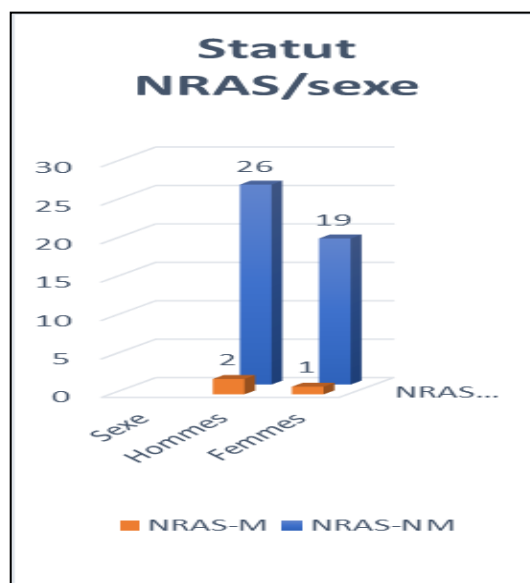
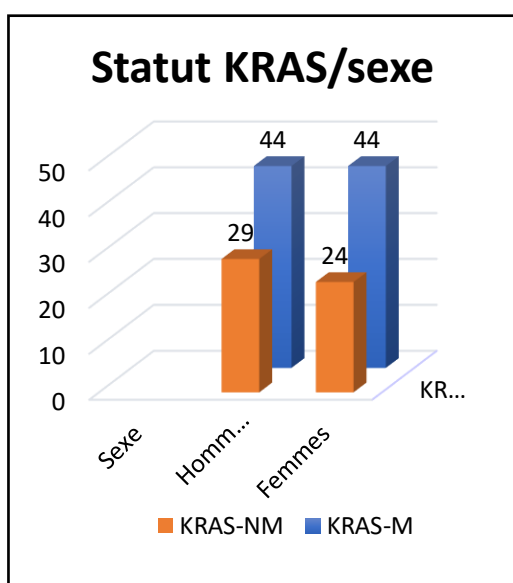
Tableau 2: Fréquence et distribution des mutations KRAS, NRAS et BRAF

Gène	Exon	Substitution nucléotidique	Codon	Mutation protéique	Nombre	%
KRAS	Exon 2	c.34G>A	12	G12D	35	36.46 %
		c.35G>T	12	G12V	23	23.96 %
		c.34G>C	12	G12C	1	1.04%
		c.35G>A	12	G12S	1	1.04%
		c.38G>A	13	G13D	11	11.46 %
	Exon 3	c.436G>C/A, c.437C>T	146	A146P/T/V	9	9.38%
		c.183A>C	61	Q61H	5	5.21%

Gène	Exon	Substitution nucléotidique	Codon	Mutation protéique	Nombre	%
		c.181C>A	61	G61H	1	1.04%
	Exon 4	c.175G>T	59	A59T	1	1.04%
		c.351A>C	117	K117N	1	1.04%
NRAS	Exon 2	c.34G>T	12	G12V	2	2.08%
		c.34G>A	12	G12D	1	1.04%
BRAF	Exon 15	c.1799T>A	600	V600E	5	5.21%

3.1.6-Corrélation des RAS et BRAF avec les caractéristiques clinico-pathologiques des Patients :

3.1.6.1-Evaluation des statuts KRAS, NRAS et BRAF en fonction du sexe :



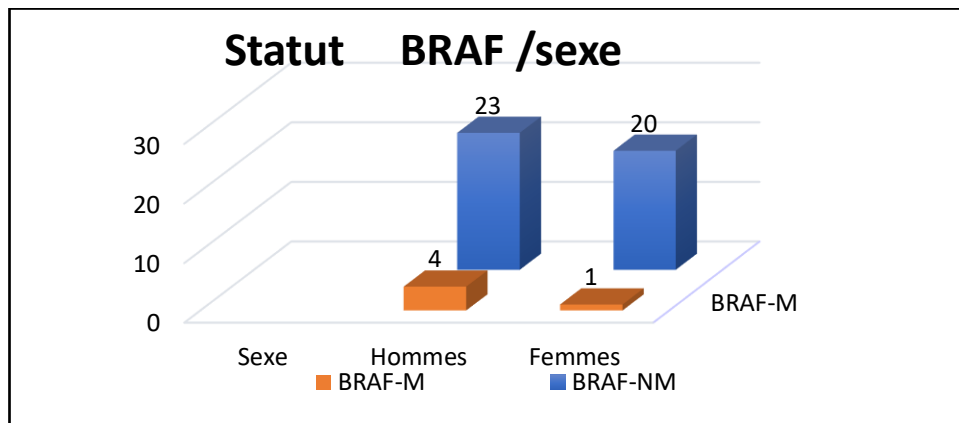
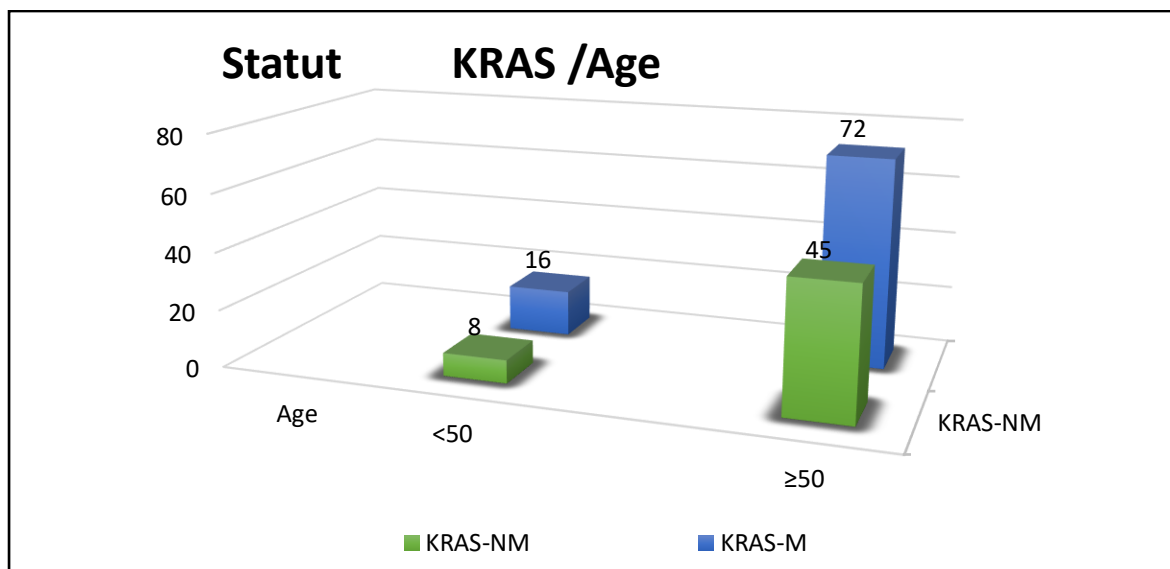


Figure51 : Association des altérations génétiques KRAS, NRAS et BRAF avec le sexe.

- Chez les hommes, les mutations de KRAS, NRAS et BRAF étaient présentes respectivement dans (50%), (66.67%) et (80%) des cas, alors que Chez les femmes, les mutations de KRAS, NRAS et BRAF ont été retrouvées respectivement dans (50%), (33.33%) et (20%) des cas.
- Malgré ces variations, l'analyse statistique n'a montré aucune association significative ($p > 0.05$) entre le sexe et les statuts mutationnels des gènes étudiés. Ainsi, le sexe ne semble pas influencer la présence de ces mutations.

3.1.6.2-Evaluation des statuts RAS et BRAF en fonction de l'âge :



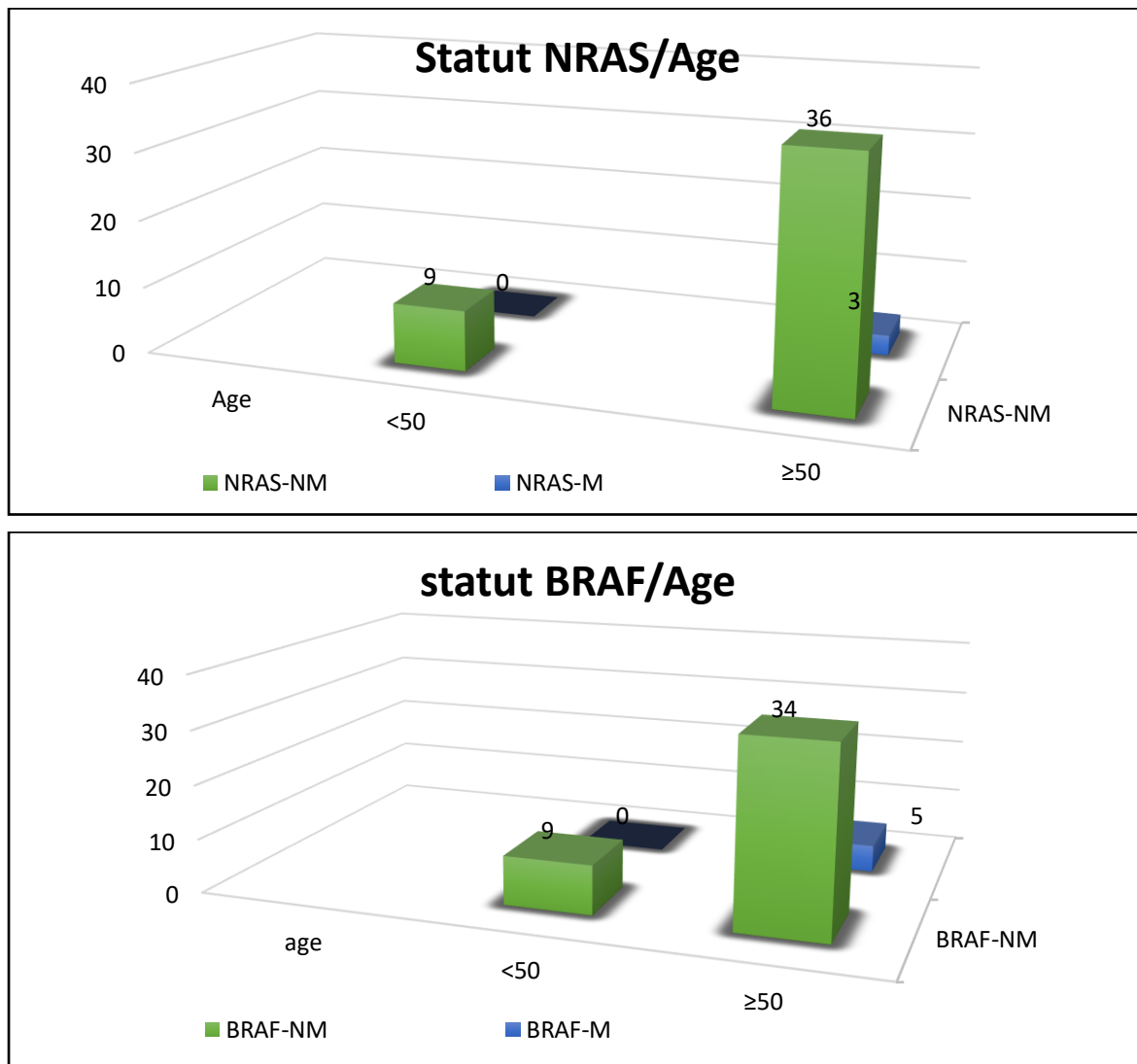


Figure52. Association des altérations génétiques KRAS, NRAS et BRAF avec l'âge.

L'analyse de l'association entre l'âge des patients (<50 ans, ≥50 ans) et les statuts mutationnels de KRAS, NRAS et BRAF n'a révélé aucune différence statistiquement significative ($p > 0,05$). Ces résultats suggèrent que, dans cette cohorte, l'âge ne constitue pas un facteur déterminant dans la survenue des mutations étudiées.

3.1.6.3-Etude de la relation entre le site tumoral et les statuts mutationnels KRAS, NRAS et BRAF :

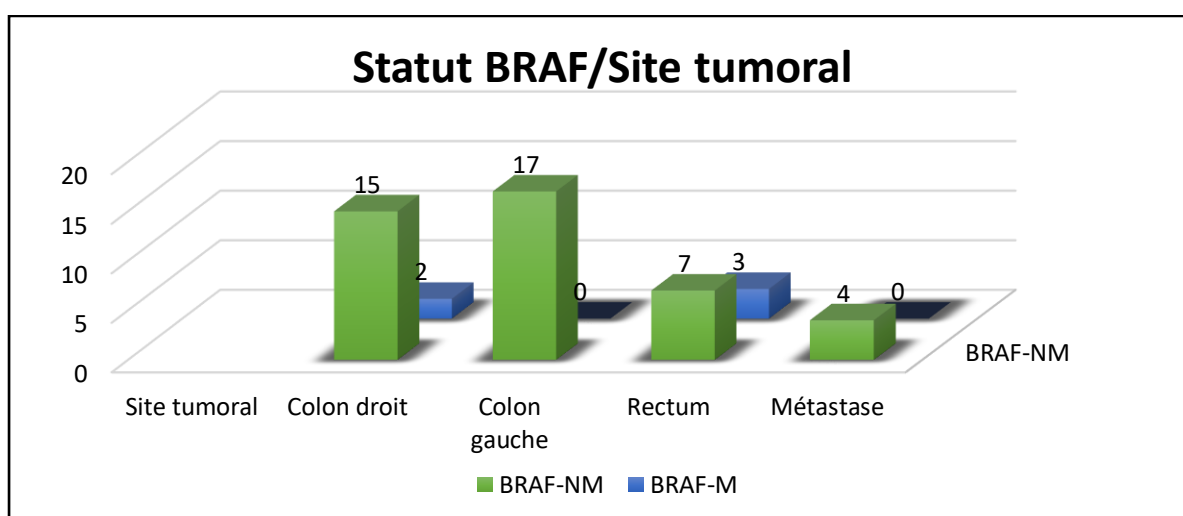
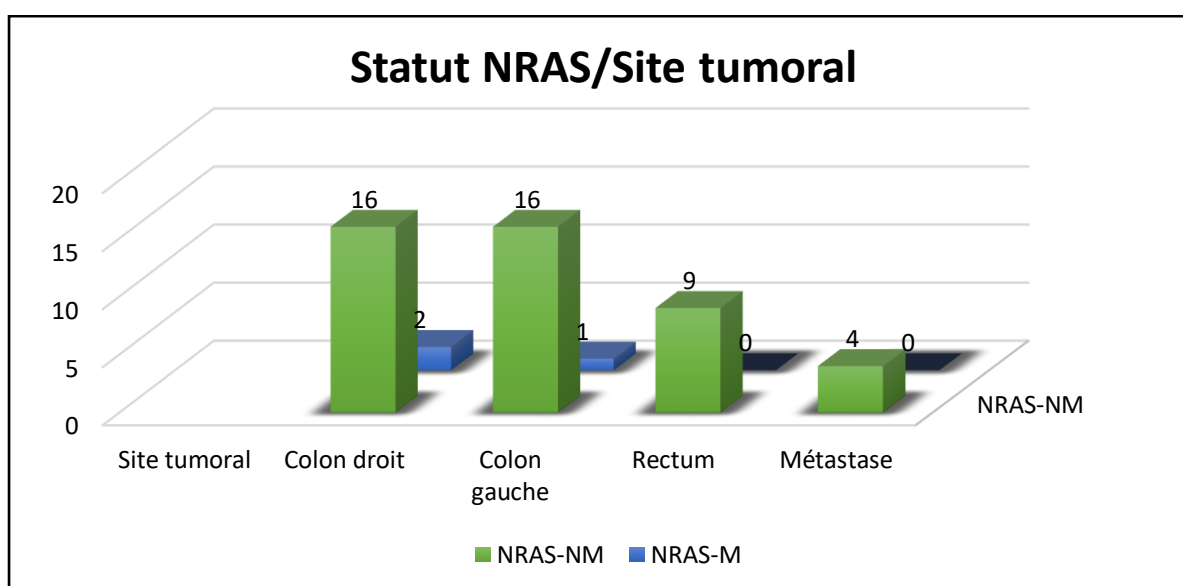
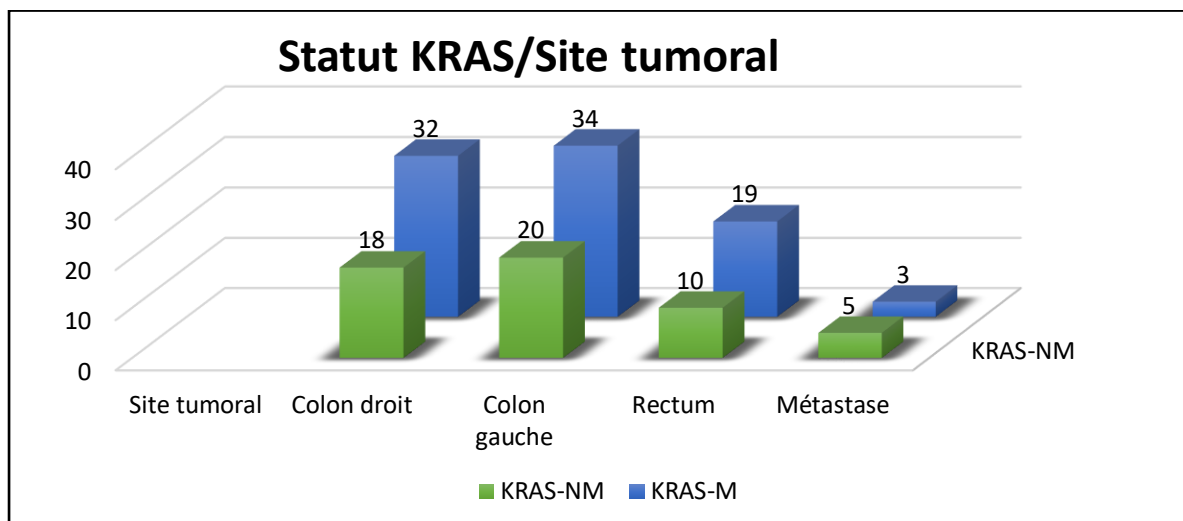
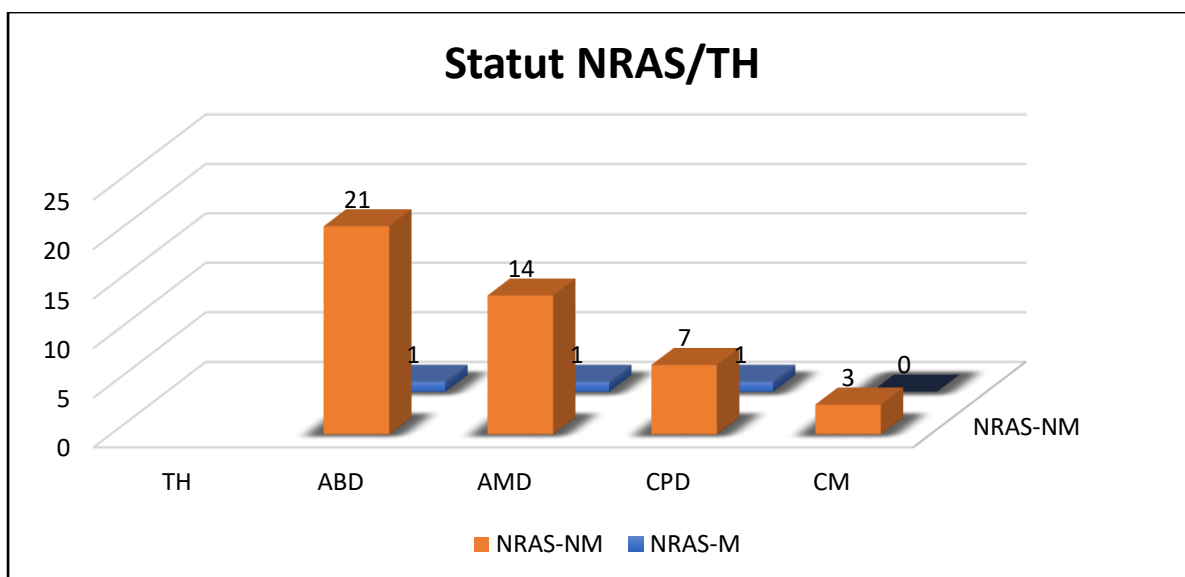
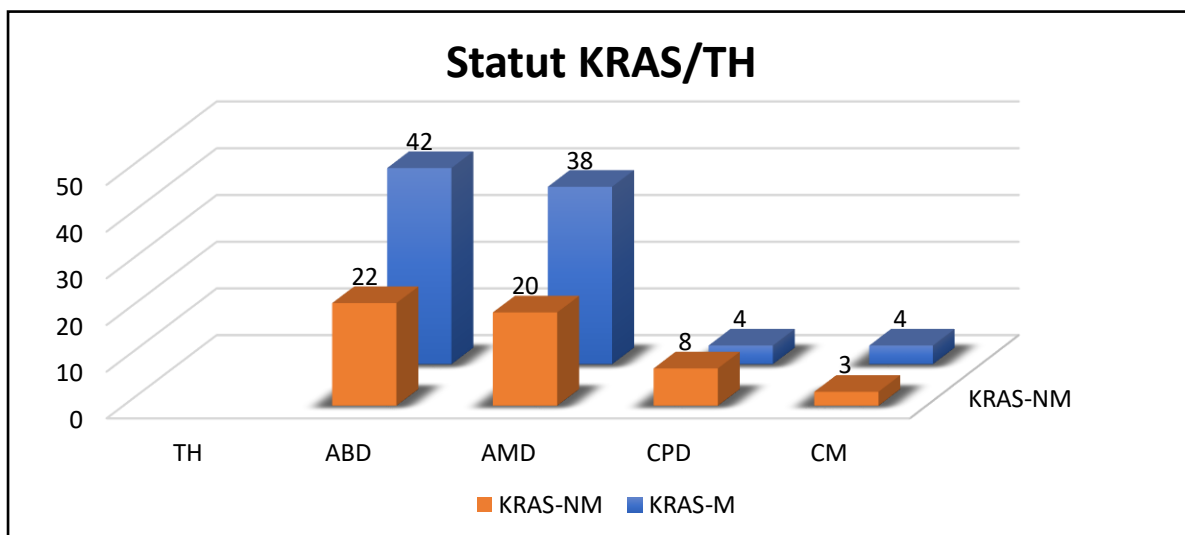


Figure53 : Association des altérations génétiques KRAS, NRAS et BRAF avec le site tumoral

Dans notre cohorte, la répartition des mutations de KRAS, NRAS et BRAF variait selon la localisation tumorale, mais aucune association statistiquement significative n'a été retrouvée.

- Au niveau du côlon droit, les mutations étaient présentes dans 36,36 % des cas pour KRAS, 66,67 % pour NRAS, et 40 % pour BRAF.
- Au niveau du côlon gauche, les fréquences étaient de 38,64 % pour KRAS, 33,33 % pour NRAS, et 0 % pour BRAF.
- Pour les tumeurs du rectum, les mutations de KRAS, NRAS et BRAF étaient observées respectivement dans 21,59 %, 0 %, et 60 % des cas.
- En situation métastatique, seules les mutations de KRAS ont été détectées dans 3,41 % des cas.

3.1.6.4- Corrélation entre le type histologique et les statuts KRAS, NRAS et BRAF :



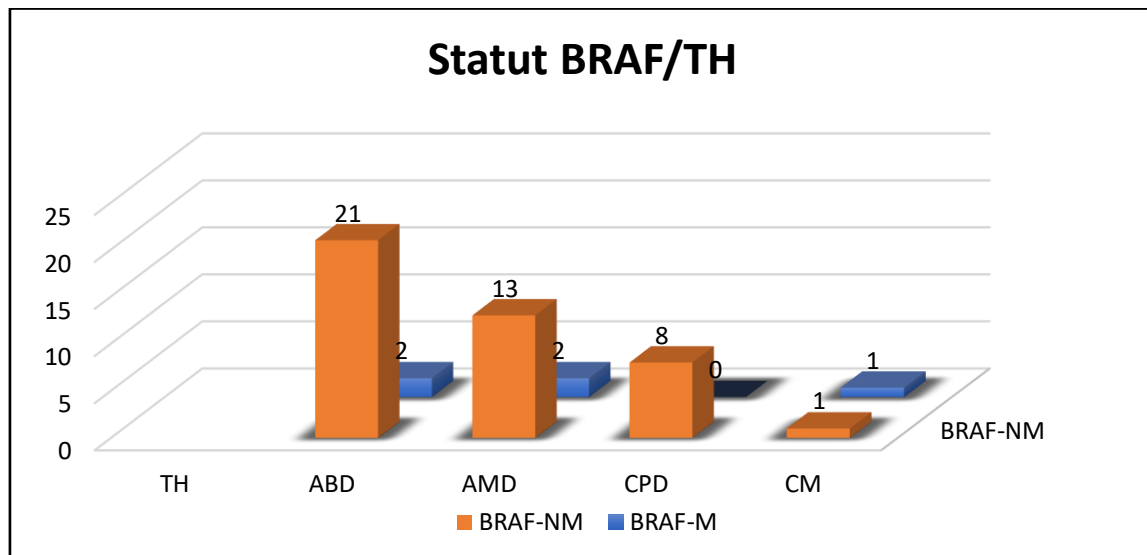


Figure54. Association des altérations génétiques KRAS, NRAS et BRAF avec le type histologique

- L'analyse de la distribution des mutations de KRAS, NRAS et BRAF selon les différents types histologiques (ABD, AMD, CPD, CM) n'a révélé aucune association statistiquement significative.
- Pour KRAS, la répartition des mutations selon les types histologiques montre une fréquence de 47,73 % en ABD, 43,18 % en AMD, 4,55 % en CPD et 4,55 % en CM, avec une absence de lien entre la mutation KRAS et le type histologique ($p > 0,05$). De plus, pour les mutations de types NRAS et BRAF, les fréquences variaient également selon les localisations sans que la différence ne soit significative ($p > 0,05$).

3.1.6.5-Corrélation entre le stade et les statuts KRAS, NRAS et BRAF :

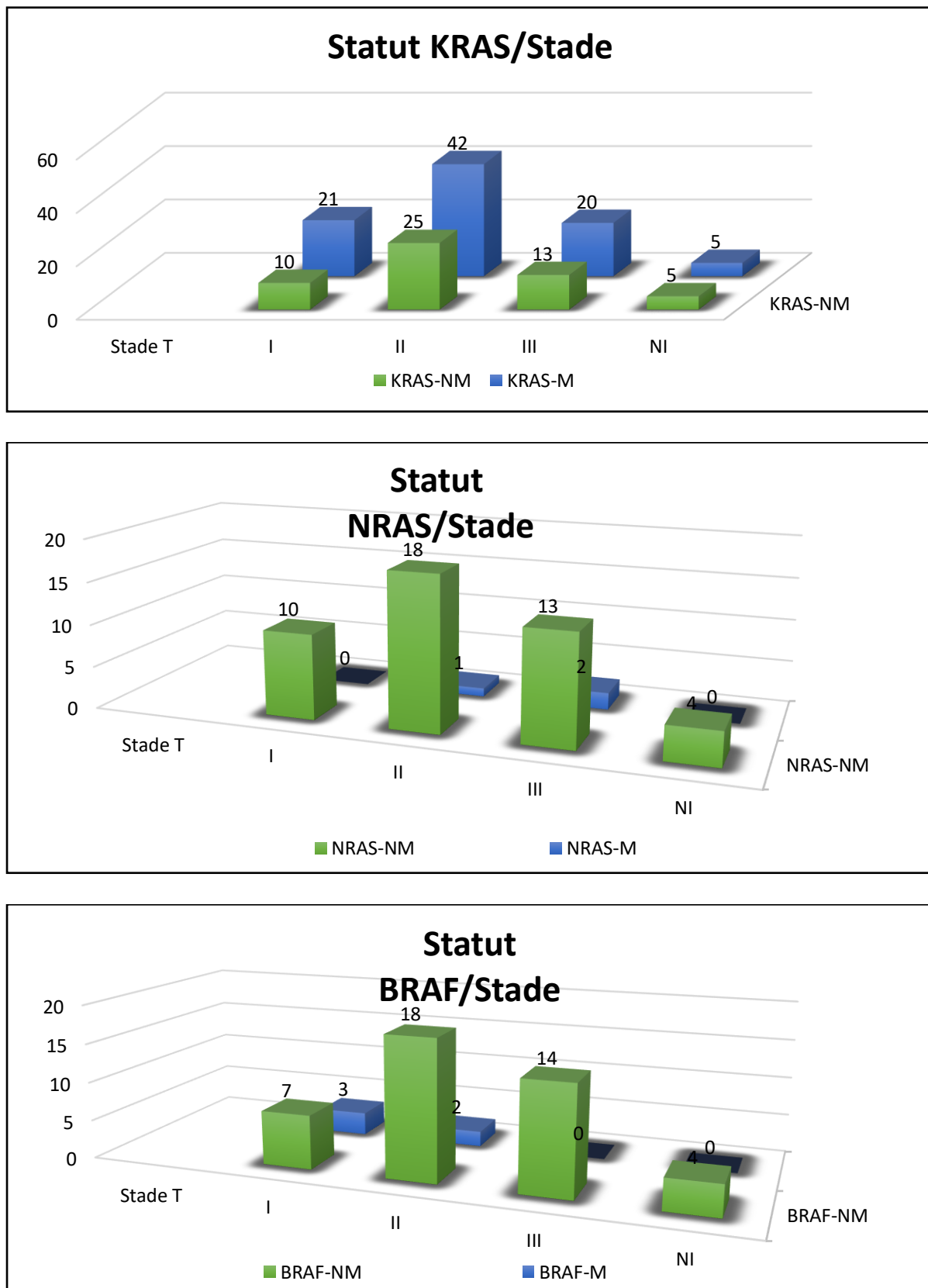


Figure55: Association des altérations génétiques KRAS, NRAS et BRAF avec le stade.

L'analyse de l'association entre les stades T de la tumeur (I, II, III, NI) et les statuts mutationnels a révélé une association statistiquement significative uniquement pour le gène KRAS. Les mutations de KRAS étaient plus fréquentes aux stades T I (23,86 %) et T II (47,73 %), et moins fréquentes aux stades T III (22,73 %) et NI (5,68 %). Une association significative entre le stade tumoral T et le statut mutationnel de KRAS a été remarquée ($p < 0,05$). En revanche, aucune association significative n'a été observée ni pour NRAS ni pour BRAF ($p > 0,05$), confirmant que la distribution des mutations de ces deux gènes ne varie pas selon les stades T.

3.2- Discussion :

Le CCR constitue un problème majeur de santé publique tant à l'échelle mondiale qu'en Algérie. Son, épidémiologie a évolué de manière significative au cours des dernières décennies. Plusieurs questions demeurent quant à son origine, ses caractéristiques moléculaires et son composant génétique. Cette étude explore les mutations des gènes KRAS, NRAS et BRAF, ainsi que le statut d'instabilité des microsatellites (MSI), en termes de fréquence, de distribution et de leur lien avec certains facteurs clinico-pathologiques dans une population algérienne atteinte de CCR. Ces résultats pourraient améliorer la compréhension des altérations génétiques impliquées et contribuer au développement de stratégies thérapeutiques plus ciblées.

3.2.1- Les caractéristiques clinicopathologiques des patients :

Le cancer colorectal est classé selon l'âge au moment du diagnostic en formes à début précoce (avant 50 ans) et à début tardif (après 50 ans). Bien qu'il soit plus fréquent chez les personnes âgées, de récentes études montrent une augmentation inquiétante de son incidence chez les adultes jeunes, notamment dans les pays occidentaux (Siegel et al., 2020). Dans notre étude, l'âge médian au diagnostic était de 60 ans, avec un intervalle allant de 19 à 94 ans. Ce chiffre est légèrement inférieur à celui rapporté en France (72 ans selon Santé Publique France, 2023), mais reste proche des moyennes rapportées dans des pays à population jeune : 54,5 ans au Maroc (El Housse et al., 2014), 58 ans en Arabie Saoudite (Mosli & Al-Ahwal, 2012), et 46,7 ans au Togo (Darré et al., 2014). Cette différence pourrait s'expliquer par la structure démographique jeune de l'Algérie, où plus de 54 % de la population a moins de 30 ans. Les recommandations actuelles, notamment celles de la US Preventive Services Task Force (USPSTF, 2021), incitent à débiter le dépistage du CCR à partir de 45 ans afin d'augmenter les chances de détection précoce. . En Algérie, 7 747 nouveaux cas ont été recensés en 2022, faisant du CCR le deuxième cancer le plus fréquent après le cancer du sein, avec un taux d'incidence standardisé de 12,0 pour 100 000 habitants. Il représente également la deuxième cause de mortalité par cancer, avec 4 862 décès (Global Cancer Observatory, 2022). L'occidentalisation du mode de vie algérien, caractérisée par une alimentation déséquilibrée, la sédentarité et l'obésité croissante, constitue un facteur de risque majeur. Une méta-analyse récente a montré que le surpoids et l'obésité augmentent le risque de CCR de 25 à 57 % (Ungvari et al., 2024).

Concernant l'incidence du CCR selon le sexe, plusieurs études préliminaires ont mis en évidence une prédominance masculine (El Agy et al., 2021; Richter et al., 2021; Meddah et

al., 2009; Arfaoui Toumi et al., 2014). Dans notre série, les hommes représentaient 55.04 % des cas contre 44.96 % de femmes, soit un sex-ratio hommes/femmes de 1.22, confirmant cette tendance observée dans la littérature.

Dans notre série, la plupart des tumeurs diagnostiquées étaient des adénocarcinomes bien différenciés qui étaient identifiés dans 44.96% des cas étudiés. L'étude histopathologique de Soraya,T et al en 2014, montre que l'adénocarcinome bien différencié est le type histologique prédominant retrouvé chez 110 patients, soit 83.58%, suivie des formes moyennement et peu différenciée avec des fréquences de 13.43%et 2.99%. Le sous-type histologique de l'adénocarcinome bien différencié pourrait présenter un bon pronostic chez les patients (Yoshida et al., 2018).

Cependant, selon nos résultats, la majorité des cas de CCR a été diagnostiqués au stade II (47,48 %), suivie du stade III (27,73 %). Ces constatations sont similaires à celles rapportées par Soraya T. et al., où la majorité des patients présentaient des tumeurs au stade IIA (pT3N0Mx), suivis de 12 cas (soit 17,64 %) au stade IIIC (pT3N2Mx) Soraya,T et al en 2014 .

3.2.2- Profils mutationnels des gènes KRAS, NRAS et BRAF et leurs corrélations avec les facteurs clinicopatologiques des patients :

3.2.2.1- Le gène KRAS :

Dans les cancers colorectaux, la fréquence de la mutation sur le gène KRAS est rapportée dans 35 à 45% des cas. Les plus fréquentes des mutations touchent le codon 12, suivi du codon 13 (Meng et al.,2021) . L'incidence de mutations KRAS dans notre série 62.41% (88/141) est proche de celles rapportées dans d'autres études chinoise, marocaine et danoise qui donnent respectivement 43.62%, 23.91% et 40% (Wan et al., 2024; Marchoudi et al., 2013; Oliveira et al., 2004).

Dans notre série, des mutations d'exons de KRAS en dehors de l'exon 2 ont été retrouvées chez 73.96% des patients de CCR, parmi lesquels 15.63% des patients présentent une mutation dans l'exon 3 de KRAS et 2.08% des patients présentent une mutation dans l'exon 4 de KRAS. Le taux des mutations KRAS dans l'exon 2 (73.96%) est plus élevé que celui décrit précédemment dans une autre recherche, touchant une autre population 17% (Venegas-Rodríguez et al., 2024). Les mutations les plus fréquentes dans notre étude étaient : c.35>A (G12D) ; 36.46%, c.35G>T (G12V) 23.96 ; et C.38G> A (G13D), ce résultat concorde avec

une autre étude ayant touchée une population européenne et ayant décrit que les sous-types de mutations les plus répandus en Europe sont G12D, G12V, G13D (Cefalì et al. (2021).

Concernant l'analyse de la corrélation des mutations KRAS et le groupe d'âge, notre étude a révélé une prévalence plus élevée de ces mutations chez les sujets plus âgés ≥ 50 (81.82 %). Ce résultat est confirmé par la littérature, notamment par Martianov et al. (2023) qui rapportent une fréquence plus élevée de ces mutations chez les patients ayant plus de 50 ans (50.2 %), et par Ye et al. (2015) qui décrivent cette mutation chez 39,8 % des patients ayant plus de 50 ans contre 22 % chez les plus jeunes. Yari et al. (2021) .

L'analyse des localisations tumorales a révélé une fréquence plus élevée des mutations KRAS dans les tumeurs du côlon gauche (38,82 %) dans la présente étude. Ce constat est en accord avec les résultats de El Agy et al. (2021), qui ont également rapporté une prédominance des mutations à ce niveau. À l'inverse, une étude de Dai et al. (2020) a mis en évidence une prévalence plus importante des mutations KRAS dans le côlon droit (45,52 %). Ces disparités pourraient s'expliquer par les différences de voies de carcinogenèse entre les segments droit et gauche du côlon, bien établies dans la littérature, ainsi que par des facteurs ethniques ou géographiques.

Concernant le grade de différenciation, les mutations KRAS étaient davantage observées dans les tumeurs bien différenciées (47,73 %) et moyennement différenciées (43,18 %). Cette distribution rejoint les observations de Wu et al. (2023), qui a noté une tendance similaire, bien que non significative statistiquement. De plus, les travaux de Liu et al. (2011) suggèrent que les tumeurs porteuses de mutations KRAS présentent une activité proliférative accrue, ce qui pourrait justifier leur fréquence dans des tumeurs à différenciation intermédiaire.

Par ailleurs, une association statistiquement significative entre les mutations KRAS et le stade TNM a été mise en évidence ($p = 0,0355$). Les mutations étaient principalement observées au stade II (47,73 %), puis au stade I (23,86 %) et au stade III (22,73 %). Ces données suggèrent une implication précoce de cette altération moléculaire dans le processus de carcinogenèse colorectale. Des résultats similaires ont été rapportés dans la littérature, notamment par Golder et al. (2023) dans le *Journal of Clinical Oncology*, qui ont également mis en évidence une corrélation significative entre mutations KRAS et stades TNM précoces (I à III). De même, Rasmy et al. (2019) ont observé une association entre ces mutations et des formes évolutives de la maladie, confortant l'hypothèse d'un rôle actif des mutations KRAS dans la progression tumorale dès les stades initiaux. Enfin, il convient de noter que les mutations RAS et BRAF

sont généralement mutuellement exclusives dans les tumeurs colorectales, ce qui souligne leur rôle distinct dans la biologie moléculaire de ces cancers.

3.2.2.2- Le gène NRAS :

Dans notre étude, les mutations du gène NRAS ont été identifiées chez 6,25 % des patients atteints de cancer colorectal (CCR), principalement localisées dans l'exon 2, avec des substitutions spécifiques p.G12V et p.G12D. Cette prévalence est cohérente avec les données de la littérature, où la fréquence des mutations NRAS dans le CCR varie généralement entre 2,2 % et 7 %.(Irahara et al., 2010; Schirripa et al., 2015; Peeters et al., 2015). Par ailleurs, notre analyse n'a révélé aucune corrélation statistiquement significative entre la présence de mutations NRAS et les caractéristiques clinicopathologiques des patients atteints de cancer colorectal. Ce résultat concorde avec les conclusions d'une étude française conduite par Rimbart et al. (2018), qui n'a également mis en évidence aucune association significative entre les mutations NRAS et les paramètres cliniques ou anatomopathologiques analysés.

3.2.2.3- Le gène BRAF :

Les mutations du gène BRAF sont présentes dans environ 8 à 12 % des cancers colorectaux (CRC) (Nakayama et al., 2020 ; De Roock et al., 2010). Dans notre étude, la fréquence observée est de 10,42 %, ce qui concorde avec les données rapportées chez les populations européennes (De Roock et al., 2010) mais reste inférieure aux taux observés dans certaines cohortes australiennes, pouvant atteindre jusqu'à 15 % (Phipps et al., 2012). Toutes les mutations identifiées étaient localisées dans l'exon 15, précisément au niveau du codon V600E, forme majoritaire des mutations BRAF dans le CRC (Nakayama et al., 2020).

Par ailleurs, aucune association statistiquement significative n'a été mise en évidence entre le statut mutationnel de BRAF et les caractéristiques clinicopathologiques des patients, ce qui est conforme aux résultats de Lochhead et al. (2013).

3.2.2.4- Evaluation du statut MSI :

Le statut MSI élevé (MSI-H) est associé à un meilleur pronostic dans le cancer colorectal (CCR) à un stade précoce, ainsi qu'à une absence de bénéfice du traitement adjuvant par 5-fluorouracile au stade II. Environ 12 à 20 % des CCR présentent un MSI-H secondaire à un déficit du système de réparation des mésappariements (MMR-D), avec une incidence plus élevée aux stades précoces (environ 20 % aux stades I et II, et 12 % au stade III) et plus faible

aux stades avancés ou métastatiques (4 à 5 %) (Tieng et al., 2021). De manière similaire, dans notre cohorte, le statut MSI-H a été observé chez la plupart des patients .

Dans notre étude, l'analyse du statut MSI en fonction des paramètres clinicopathologiques a révélé que le sexe des patients n'était pas significativement associé au phénotype MSI ($p > 0,05$). Ce résultat est en accord avec les conclusions de Tulin et al. (2018), n'ayant pas décrit de différence significative de survie en fonction du sexe chez les patients atteints de cancer colorectal MSI.

En revanche, une corrélation significative a été observée entre le statut MSI et l'âge des patients ($p = 0,0128$), les tumeurs MSI-H étant plus fréquentes chez les patients plus âgés. Cette tendance est confirmée par l'étude de Tong et al. (2024), ayant rapporté une association significative entre un âge avancé et le statut MSI-H .Concernant le site tumoral, notre étude a montré une association significative entre le statut MSI et la localisation dans le côlon droit. Ce constat est cohérent avec les résultats de Rantanen et al. (2023), ayant observé une prédominance des tumeurs MSI-H dans le côlon droit.

Pour le grade histologique, une association significative a également été mise en évidence ($p = 0,0079$), le phénotype MSI-H étant lié à des tumeurs peu différenciées. Cette observation est corroborée par les travaux de Tong et al. (2024), qui a noté que les tumeurs MSI-H présentent souvent un grade histologique élevé.

En revanche, aucune association significative n'a été trouvée entre le statut MSI et le stade tumoral. Ce résultat est en accord avec l'étude de Rantanen et al. (2023), qui n'ont pas identifié de corrélation significative entre le statut MSI et le stade d'évolution tumorale. Cela souligne l'importance de considérer les paramètres histologiques et topographiques dans la détection du MSI-H, qui pourrait orienter les décisions thérapeutiques, notamment en immunothérapie.

Conclusion :

L'ensemble de notre étude a permis de dresser un tableau détaillé et représentatif du profil moléculaire et clinicopathologique du cancer colorectal au sein d'une population algérienne. Grâce à une approche intégrée combinant l'histopathologie, l'immunohistochimie et la biologie moléculaire, en mettant l'accent sur les mutations des gènes KRAS, NRAS et BRAF, ainsi que sur le statut MSI. Nos résultats confirment la valeur de l'IHC dans la détection fiable de l'instabilité des microsatellites, un biomarqueur crucial pour l'éligibilité à l'immunothérapie, notamment les inhibiteurs de points de contrôle immunitaire.

L'analyse croisée des données moléculaires et pathologiques souligne l'importance de la médecine de précision dans le traitement du CCR. Nos résultats appuient l'intégration systématique du profil mutationnel RAS/BRAF et du statut MSI dans la pratique clinique algérienne, afin d'orienter les décisions thérapeutiques, en particulier les thérapies ciblées (anti-EGFR, anti-VEGF) et l'immunothérapie. Cependant, l'absence de données de survie constitue une limite de cette étude. Le manque de suivi longitudinal, dû à la provenance multicentrique des échantillons, empêche une corrélation directe entre les profils moléculaires et le pronostic.

À l'avenir, il serait pertinent de développer des études multicentriques avec un suivi à long terme, de renforcer l'accessibilité aux plateformes de biologie moléculaire dans les structures hospitalières algériennes, et d'intégrer progressivement des outils innovants comme la biopsie liquide (ADN circulant, exosomes) pour le suivi des patients. Ce travail pose ainsi les bases d'une meilleure prise en charge du cancer colorectal en Algérie, en phase avec les avancées internationales en oncologie de précision.

Références bibliographique:

- Mazouzi, C., Kerboua, E., Benyahia, R., Ferrah, N., & Aftis, R. (2024). Lung cancer: Epidemiology and risk factors. *International Journal of Medical, Pharmacy and Drug Research*, 8(1), 4–11. <https://doi.org/10.22161/ijmpd.8.1.2>
- Al-Shamsi, H. O., Jones, J., Fahmawi, Y., Dahbour, I., Tabash, A., Abdel-Wahab, R., ... & Wolff, R. A. (2016). Molecular spectrum of KRAS, NRAS, BRAF, PIK3CA, TP53, and APC somatic gene mutations in Arab patients with colorectal cancer: determination of frequency and distribution pattern. *Journal of gastrointestinal oncology*, 7(6), 882. <http://dx.doi.org/10.21037/jgo.2016.11.02>
- Ilie-Petrov, A. C., Cristian, D. A., Diaconescu, A. S., Chitul, A., Blajin, A., Popa, A., ... & Ardeleanu, C. M. (2024). Molecular Deciphering of Colorectal Cancer: Exploring Molecular Classifications and Analyzing the Interplay among Molecular Biomarkers MMR/MSI, KRAS, NRAS, BRAF and CDX2—A Comprehensive Literature Review. *Chirurgia*, 119, 136-155.
- Techno-Science.net. (n.d.). *Le côlon : définition, rôle et fonctions*. Récupéré de <https://www.techno-science.net/>
- Anatomie du colon et du rectum - Chirurgie digestive - APHP | Cancer du côlon & du rectum - L'anatomie - Infocancer ; Côlon : Anatomie, histologie, rôle et maladies | Kenhub)
- Cours pour étudiants de la deuxième année médecine. GROS-INTESTIN-colon. Fait par DR BOUSBA Maître Assistante. Université 3 Constantine Salah Boubnider .2022/2023
- Marecik, S., Park, J., & Prasad, L. M. (2018). *Rectal Anatomy: Clinical Perspective*. In G. J. Chang (Ed.), *Rectal Cancer* (pp. 1–20). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-16384-0_1
- Ponz de Leon, M., & Di Gregorio, C. (2001). Pathology of colorectal cancer. 2001; 33(4):372-88. Digestive and Liver. [https://doi.org/10.1016/S1590-8658\(01\)80095-5](https://doi.org/10.1016/S1590-8658(01)80095-5)
- Histologie et Pathologie des organes « LE CÔLON , RECTUM » <https://histologie.v.univ-montpellier.fr/index.php?module=detail&subaction=desc&vue=4&itm=126&g=1&d=1>
- AZZOUZ, Laura L. et SHARMA, Sandeep. Physiology, large intestine. In : *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing, 2023. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544331/>
- Achudhan Karunaharamoorthy, Arzt. (2023). Disponible sur le lien : <https://www.kenhub.com/en/library/anatomy/the-rectum>.

References Bibliographiques

- Arnold, M., Sierra, M. S., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2017). Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality. *Gut*, 66(4), 683–691. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2015-310912>
- Bray, F., Laversanne, M., Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Soerjomataram, I., & Jemal, A. (2024). Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 74(3), 229–263. <https://doi.org/10.3322/caac.21834>
- Boutedkjiret, L., Bouheraoua, A., Kadri, C., Khida, N., Haddouche, R., Oukaci, M., Djeghloul, G., Namaoui, M., Meguerba, O., Belaidi, A., Belarbi, A., & Bouamra, A. (2024). Registre des tumeurs d’Alger – Année 2022. Institut National de Santé Publique.
- Weledji EP. *The Etiology and Pathogenesis of Colorectal Cancer*. Clinics in Oncology. 2024;9:2046
- Haute Autorité de Santé (HAS). Cancer colorectal : modalités de dépistage et de prévention chez les sujets à risque élevé et très élevé. Rapport d’élaboration, mai 2017. pp. 16–18. Disponible sur : <https://www.has-sante.fr>
- Malki, A.; ElRuz, RA; Gupta, I.; Allouch , A. ; Vranic , S. ; Al Moustafa, A.-E. Mécanismes moléculaires de la progression et des métastases du cancer du côlon : perspectives et avancées récentes. *Int. J. Mol. Sciences* 2021, 1999 .22, 130. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms22010130>
- Tariq, K., & Ghias, K. (2016). Carcinogénèse du cancer colorectal : revue des mécanismes. *Cancer Biology & Medicine*, 13(1), 120–135. <https://doi.org/10.28092/j.issn.2095-3941.2015.0103>
- Yan L, Shi J, Zhu J. Cellular and molecular events in colorectal cancer: biological mechanisms, cell death pathways, drug resistance and signalling network interactions. *Discov Oncol*. 2024 Jul 20;15(1):294. doi: 10.1007/s12672-024-01163-1. PMID: 39031216; PMCID: PMC11265098.
- Weisenberger, D.J., Siegmund, K.D., Campan, M. et al. (2006). CpG island methylator phenotype underlies sporadic microsatellite instability and is tightly associated with BRAF mutation in colorectal cancer. *Nature Genetics*, 38(7), 787–793. [https://doi.org/10.1038/ng1834​;contentReference\[oaicite:0\]\[index=0\]](https://doi.org/10.1038/ng1834​;contentReference[oaicite:0][index=0])
- Pinheiro M, Moreira DN, Ghidini M. Colon and rectal cancer: An emergent public health problem. *World J Gastroenterol*. 2024 Feb 21;30(7):644-651. doi: 10.3748/wjg.v30.i7.644. PMID: 38515957; PMCID: PMC10950624.

References Bibliographiques

- Li, Q., Geng, S., Luo, H., Wang, W., Mo, Y. Q., Luo, Q., ... & Xu, B. (2024). Signaling pathways involved in colorectal cancer: Pathogenesis and targeted therapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 9(1), 266. <https://doi.org/10.1038/s41392-024-01953-7>.
- Laurent-Puig, P., Agostini, J., & Maley, K. (2010). Oncogénèse colorectale. *Bulletin du Cancer*, 97(11), 1311–1321. DOI: 10.1684/bdc.2010.1216. <https://doi.org/10.1684/bdc.2010.1216>
- Bellio, H., Fumet, J.-D., & Ghiringhelli, F. (2021). *Targeting BRAF and RAS in colorectal cancer*. *Cancers*, 13(9), 2201. <https://doi.org/10.3390/cancers13092201>
- Van Cutsem, E., Huijberts, S., Grothey, A., Yaeger, R., Cuyle, P. J., Elez, E., ... & Tabernero, J. (2019). Binimetinib, encorafenib, and cetuximab triplet therapy for patients with BRAF V600E–mutant metastatic colorectal cancer: safety lead-in results from the phase III BEACON colorectal cancer study. *Journal of clinical oncology*, 37(17), 1460-1469. <https://doi.org/10.1200/JCO.18.02459>
- Luo, Q., Chen, D., Fan, X., Fu, X., Ma, T., & Chen, D. (2020). KRAS and PIK3CA bi-mutations predict a poor prognosis in colorectal cancer patients: A single-site report. *Translational oncology*, 13(12), 100874. <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2020.100874>
- Korzeniecki, C., & Priefer, R. (2021). Targeting KRAS mutant cancers by preventing signaling transduction in the MAPK pathway. *European journal of medicinal chemistry*, 211, 113006. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.113006>
- László, L., Kurilla, A., Takács, T., Kudlik, G., Koprivanacz, K., Buday, L., & Vas, V. (2021). Recent updates on the significance of KRAS mutations in colorectal cancer biology. *Cells*, 10(3), 667. <https://doi.org/10.3390/cells10030667>
- Armaghany, T., Wilson, J. D., Chu, Q., & Mills, G. (2012). Genetic alterations in colorectal cancer. *Gastrointestinal cancer research: GCR*, 5(1), 19.
- Lei, Y., Shi, J., & Zhu, J. (2024). Cellular and molecular events in colorectal cancer: Biological mechanisms, cell death pathways, drug resistance and signalling network interactions. *Découvrez l'oncologie*, 15(294). <https://doi.org/10.1007/s12672-024-01163-1>
- Bakrim S, El Hachlafi N, Khalid A, Abdalla AN, El Omari N, Aboulaghras S, Sakran AM, Goh KW, Ming LC, Razi P, Bouyahya A. Recent advances and molecular mechanisms of TGF- β signaling in colorectal cancer, with focus on bioactive compounds targeting. *Biomed Pharmacother*. 2024 Aug;177:116886. doi: 10.1016/j.biopha.2024.116886. Epub 2024 Jun 29. PMID: 38945700.

References Bibliographiques

- Byrd, D. R., Brookland, R. K., Washington, M. K., Gershenwald, J. E., Compton, C. C., Hess, K. R., ... & Meyer, L. R. (2017). *AJCC cancer staging manual* (Vol. 1024). M. B. Amin, S. B. Edge, & F. L. Greene (Eds.). New York: springer.
- Mon Cancer. (s.d.). *Mécanismes des cancers colorectaux (forme héréditaire, sporadique)*. <https://mon-cancer.com/mon-cancer-colorectal/mon-cancer-colorectal-mecanismes>
- Gupta, S. (2022). Dépistage du cancer colorectal. *Cliniques d'hématologie/oncologie*, 36 (3), 393-414.
- Cutsem E.V., Cervantes A., Adam R., Sobrero A., Van Krieken J.H., Aderka D., ... et al. (2016). ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer. *Annals of Oncology*, 27(8), 1386–1422.
- Kolligs, F. T. (2016). Diagnostics and epidemiology of colorectal cancer. *Visceral medicine*, 32(3), 158-164. [doi:10.1159/000446488](https://doi.org/10.1159/000446488)
- Dekker, E., Tanis, P. J., Vleugels, J. L., Kasi, P. M., & Wallace, M. B. (2019). *Colorectal cancer*. The Lancet, 394(10207), 1467-1480. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)32319-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)32319-0)
- Navarro, M., Nicolas, A., Ferrandez, Á., & Lanás, A. (2017). *Colorectal cancer population screening programs worldwide in 2016: An update*. World Journal of Gastroenterology, 23(20), 3632–3642. <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i20.3632>
- Weiser, M. R., & Garcia-Aguilar, J. (2019). *Surgeon's perspective on colorectal cancer treatment*. Seminars in Oncology, 46(3), 177–184.
- Panis, Y. (2007). *Laparoscopie et cancer colorectal*. Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine, 191(6), 1239–1249.
- Vennix, S., Pelzers, L., Bouvy, N. D., Beets, G. L., Pierie, J. P., Wiggers, T., ... & Lacy, A. M. (2014). *Laparoscopic versus open total mesorectal excision for rectal cancer*. Cochrane Database of Systematic Reviews, 2014(4). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD005200.pub3>
- Chiorean, E. G., Rybicki, L. A., & Mangu, P. B. (2020). *Treatment of patients with late-stage colorectal cancer: ASCO resource-stratified guideline*. JCO Global Oncology, 6, 414–438. <https://doi.org/10.1200/JGO.19.00367>.
- Phelip, J. M., Tougeron, D., Léonard, D., Benhaim, L., Desolneux, G., Michel, P., ... & Adhoute, X. (2019). *Metastatic colorectal cancer (mCRC): French intergroup clinical practice guidelines for diagnosis, treatments and follow-up*. Digestive and Liver Disease, 51(10), 1357–1363. <https://doi.org/10.1016/j.dld.2019.05.035>.

References Bibliographiques

- Quezada-Diaz, F., Rahman, S., Azizi, A., et al. (2019). *Personalizing neoadjuvant chemotherapy in colon cancer: Rationale and design of the FOXTROT trial*. *Future Oncology*, 15(23), 2647–2655.
- DeStefanis, R. A., Kratz, J. D., Emmerich, P. B., & Deming, D. A. (2019). Targeted therapy in metastatic colorectal cancer: current standards and novel agents in review. *Current colorectal cancer reports*, 15, 61-69. [doi:10.1007/s11888-019-00430-6](https://doi.org/10.1007/s11888-019-00430-6).
- Holch, J., Stintzing, S., & Heinemann, V. (2016). Treatment of metastatic colorectal cancer: Standard of care and future perspectives. *Visceral Medicine*, 32(3), 178–183. <https://doi.org/10.1159/000446052>
- Galluzzi, L., Vacchelli, E., Bravo-San Pedro, J. M., Buqué, A., Senovilla, L., Baracco, E. E., ... & Kroemer, G. (2014). *Classification of current anticancer immunotherapies*. *Oncotarget*, 5(24), 12472. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.2998>.
- Fukuhara, H., Ino, Y., & Todo, T. (2016). *Oncolytic virus therapy: A new era of cancer treatment at dawn*. *Cancer Science*, 107(10), 1373–1379. <https://doi.org/10.1111/cas.13027>.
- Johdi, N. A., & Sukor, N. F. (2020). *Immunotherapy in colorectal cancer: Current and future strategies*. *The Malaysian Journal of Medical Sciences*, 27(4), 9–21.
- Xiang, B., Snook, A. E., Magee, M. S., & Waldman, S. A. (2013). *Colorectal cancer immunotherapy*. *Discovery Medicine*, 15(84), 301–308.
- Marck V. *Manuel de techniques d'anatomo-cytopathologie : théorie et pratique*. 1^{re} éd. Paris : Elsevier Masson ; 2010. 183 p. ISBN : 978-2-294-70844-2. <https://shop.elsevier.com/books/manuel-de-techniques-danatomo-cytopathologie/marck/978-2-294-70844-2>
- Global Cancer Observatory. (2022). *Algeria Fact Sheet*. International Agency for Research on Cancer. <https://gco.iarc.who.int/media/globocan/factsheets/populations/12-algeria-fact-sheet.pdf>
- Ungvari, Z., Fekete, M., Varga, P., Lehoczki, A., Fekete, J. T., Ungvari, A., & Györffy, B. (2024). *Overweight and obesity significantly increase colorectal cancer risk: a meta-analysis of 66 studies revealing a 25–57% elevation in risk*. *GeroScience*, 1–22. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11357-024-01375-x>
- Bray, F., Laversanne, M., Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Soerjomataram, I., & Jemal, A. (2024). *Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries*. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 74(3), 229–263. <https://doi.org/10.3322/caac.21834>

References Bibliographiques

- Siegel, R. L., Miller, K. D., Goding Sauer, A., Fedewa, S. A., Butterly, L. F., Anderson, J. C., ... & Jemal, A. (2020). Colorectal cancer statistics, 2020. *CA: a cancer journal for clinicians*, 70(3), 145-164.
- Institut National du Cancer (INCa). Panorama des cancers en France – Édition 2023. Boulogne-Billancourt : INCa, 2023.
- El Housse, H., Ajbara, W., Amsaguine, S., El Amrani, N., Drissi, H., Ahallat, M., & Radallah, D. (2015). Profils épidémiologique et anatomoclinique d'une population marocaine atteinte de cancer colorectal. *J Afr Cancer*, 7(2), 95-99.
- Mosli, M. H., & Al-Ahwal, M. S. (2012). Colorectal cancer in the Kingdom of Saudi Arabia: need for screening. *Asian pacific journal of cancer prevention*, 13(8), 3809-3813.
- Darré, T., Amégbor, K., Napo-Koura, G., Bagny, A., Bouglouga, O., Lawson, A. L., ... & Allasani, F. (2014). Histo-epidemiological profile of the colorectal cancers in Togo. *Journal Africain d'Hépatogastroentérologie*, 8, 226-229.
- Davidson, K. W., Barry, M. J., Mangione, C. M., Cabana, M., Caughey, A. B., Davis, E. M., ... & US Preventive Services Task Force. (2021). Screening for colorectal cancer: US Preventive Services Task Force recommendation statement. *Jama*, 325(19), 1965-1977.
- El Agy F., El Bardai S., El Otmani I., Benbrahim Z., Karim M.H., Mazaz K. et al. Mutation status and prognostic value of KRAS and NRAS mutations in Moroccan colon cancer patients: A first report. *PLoS One*. 2021;16(3): e 0248522.
- Richter M., Sonnow L., Mehdizadeh-Shrifi A., Richter A., Koch R., Zipprich A. German oncology certification system for colorectal cancer - relative survival rates of a single certified centre vs. national and international registry data. *InnovSurgSci*. 2021 ;6(2):67-73.
- Meddah D., Meddah B., Tir Touil A., Ghalek M., Sahraoui T. Étude épidémiologique du cancer du côlon chez des patients de l'Ouest algérien...*J. Afr. Cancer*.2009 ; 1:31-35.
- ArfaouiToumi A., Trabelsi M., Blel A., Aloui R., Ben HmidaM.,Hamza A ., et al.Immunohistochemical expression pattern of MMR proteins can specifically identify patients with colorectal cancer microsatellite instability. *Tumor Biol* 2014; 35:6283–6291.
- Soraya, T., Youcef, Z., Salah, A., Chahinez, M., Sabir, M., & Samy, K. (2014). Colorectal Cancer: Epidemiological Study, Clinical, Pathological and Immunohistochemical Examination in Patients of Eastern Algeria. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 26, 13-18.

References Bibliographiques

- Meng, M., Zhong, K., Jiang, T., Liu, Z., Kwan, H. Y., & Su, T. (2021). The current understanding on the impact of KRAS on colorectal cancer. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 140, 111717. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111717>
- Wan, X., Zhang, X., Xu, M., Zheng, Z., Zhou, Y., & Zhong, Z. (2024). Unveiling the role of KRAS in Chinese colorectal cancer patients: a positive influence on tumor mutational burden. *Translational Cancer Research*, 13(9), 4752.
- Marchoudi, N., Joutei, H. A. H., Jouali, F., Fekkak, J., & Rhaissi, H. (2013). Distribution of KRAS and BRAF mutations in Moroccan patients with advanced colorectal cancer. *Pathologie Biologie*, 61(6), 273-276. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2013.05.004>
- Oliveira, C., Westra, J. L., Arango, D., Ollikainen, M., Domingo, E., Ferreira, A., ... & Hofstra, R. M. (2004). Distinct patterns of KRAS mutations in colorectal carcinomas according to germline mismatch repair defects and h MLH1 methylation status. *Human molecular genetics*, 13(19), 2303-2311. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddh238>
- Venegas-Rodríguez, J. L., Hernández-Sandoval, J. A., Gutiérrez-Angulo, M., Moreno-Ortiz, J. M., González-Mercado, A., Peregrina-Sandoval, J., ... & Ayala-Madrigal, M. D. L. L. (2024). KRAS Exon 2 Mutations in Patients with Sporadic Colorectal Cancer: Prevalence Variations in Mexican and Latin American Populations. *Cancers*, 16(13), 2323.
- Hasbullah HH, Sulong S, Che Jalil NA, Abdul Aziz AA, Musa N, Musa M. KRAS Mutational Profiles among Colorectal Cancer Patients in the East Coast of Peninsular Malaysia. *Diagnostics (Basel)*. 2023 Feb 21;13(5):822. doi: 10.3390/diagnostics13050822. PMID: 36899966; PMCID: PMC10001354.
- Cefali, M., Epistolio, S., Palmarocchi, M. C., Frattini, M., & De Dosso, S. (2021). Research progress on KRAS mutations in colorectal cancer. *Journal of Cancer Metastasis and Treatment*, 7, N-A.
- Martianov, A. S., Mitiushkina, N. V., Ershova, A. N., Martynenko, D. E., Bubnov, M. G., Amankwah, P., ... & Imyaninov, E. N. (2023). KRAS, NRAS, BRAF, HER2 and MSI status in a large consecutive series of colorectal carcinomas. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(5), 4868.
- Martianov, A. S., Mitiushkina, N. V., Ershova, A. N., Martynenko, D. E., Bubnov, M. G., Amankwah, P., Yanus, G. A., Aleksakhina, S. N., Tiurin, V. I., Venina, A. R., Anuskina, A.

References Bibliographiques

- A., Gorgul, Y. A., Shestakova, A. D., Maidin, M. A., Belyaev, A. M., Baboshkina, L. S., Iyevleva, A. G., & Imyanitov, E. N. (2023). KRAS, NRAS, BRAF, HER2 and MSI status in a large consecutive series of colorectal carcinomas. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(5), 4868. <https://doi.org/10.3390/ijms24054868>
- Yari, A., Samoudi, A., Afzali, A., Karam, Z. M., Karimaldini, N. K., Abadi, M. F. S., ... & Ghasemi, A. (2021). Mutation status and prognostic value of KRAS and BRAF in Southeast Iranian colorectal cancer patients: First report from Southeast of Iran. *Journal of Gastrointestinal Cancer*, 52, 557–568. <https://doi.org/10.1007/s12029-020-00426-8>
- Ye, J. X., Liu, Y., Qin, Y., Zhong, H. H., Yi, W. N., & Shi, X. Y. (2015). KRAS and BRAF gene mutations and DNA mismatch repair status in Chinese colorectal carcinoma patients. *World journal of gastroenterology: WJG*, 21(5), 1595.
- El Agy, F., El Bardai, S., El Otmani, I., Benbrahim, Z., Karim, I. M. H., Mazaz, K., ... & Chbani, L. (2021). Mutation status and prognostic value of KRAS and NRAS mutations in Moroccan colon cancer patients: A first report. *PLoS One*, 16(3), e0248522.
- Dai, D., Wang, Y., Zhu, L., Jin, H., & Wang, X. (2020). Prognostic value of KRAS mutation status in colorectal cancer patients: a population-based competing risk analysis. *PeerJ*, 8, e9149.
- Wu, Y., Peng, X., Zhang, J., Wang, Y., Chen, H., & Deng, Y. (2023). Association between KRAS mutations and clinicopathological characteristics in colorectal cancer: A retrospective study of 182 cases. *Biomedical Reports*, 18(5), 54. <https://doi.org/10.3892/br.2023.1686>
- Liu, X., Jakubowski, M., & Hunt, J. L. (2011). KRAS gene mutation in colorectal cancer is correlated with increased proliferation and spontaneous apoptosis. *American Journal of Clinical Pathology*, 135(2), 245–252. <https://doi.org/10.1309/AJCP7FO2VAXIVSTP>
- Golder, A. M., Pennel, K. A., Mansouri, D., Horgan, P. G., Roxburgh, C. S., Biankin, A. V., ... & GPOL Group. (2023). The association between KRAS mutational status, clinicopathological factors including the preoperative systemic inflammatory response and outcomes in TNM stage I-III colon cancer.
- Rasmy, A., Fayed, A., Omar, A., & Fahmy, N. (2019). Effect of KRAS mutational status on disease behavior and treatment outcome in patients with metastatic colorectal cancer: intratumor heterogeneity and mutational status. *Journal of Gastrointestinal Oncology*, 10(5), 886.

References Bibliographiques

- Irahara, N., Baba, Y., Noshō, K., Shima, K., Yan, L., Dias-Santagata, D., ... & Ogino, S. (2010). NRAS mutations are rare in colorectal cancer. *Diagnostic molecular pathology*, 19(3), 157-163.
- Schirripa, M., Cremolini, C., Loupakis, F., Morvillo, M., Bergamo, F., Zoratto, F., ... & Falcone, A. (2015). Role of NRAS mutations as prognostic and predictive markers in metastatic colorectal cancer. *International journal of cancer*, 136(1), 83-90.
- Peeters, M., Kafatos, G., Taylor, A., Gastanaga, V. M., Oliner, K. S., Hechmati, G., ... & Van Krieken, J. H. (2015). Prevalence of RAS mutations and individual variation patterns among patients with metastatic colorectal cancer: A pooled analysis of randomised controlled trials. *European journal of cancer*, 51(13), 1704-1713.
- Rimbort, J., Tachon, G., Junca, A., Villalva, C., Karayan-Tapon, L., & Tougeron, D. (2018). Association between clinicopathological characteristics and RAS mutation in colorectal cancer. *Modern Pathology*, 31(3), 517-526.
- De Roock, W., Claes, B., Bernasconi, D., De Schutter, J., Biesmans, B., Fountzilas, G., Kalogeras, K. T., Kotoula, V., Papamichael, D., Laurent-Puig, P., Penault-Llorca, F., Rougier, P., Vincenzi, B., Santini, D., Tonini, G., ... Siena, S. (2010). Effects of KRAS, BRAF, NRAS, and PIK3CA mutations on the efficacy of cetuximab plus chemotherapy in chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer: A retrospective consortium analysis. *The Lancet Oncology*, 11(8), 753–762. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(10\)70130-3](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(10)70130-3)
- Lochhead, P., Kuchiba, A., Imamura, Y., Liao, X., Yamauchi, M., Nishihara, R., Qian, Z. R., Morikawa, T., Shen, J., Meyerhardt, J. A., Fuchs, C. S., & Ogino, S. (2013). Microsatellite instability and BRAF mutation testing in colorectal cancer prognostication. *Journal of the National Cancer Institute*, 105(15), 1151–1156. <https://doi.org/10.1093/jnci/djt173>
- Nakayama, I., Hirota, T., & Shinozaki, E. (2020). BRAF mutation in colorectal cancers: From prognostic marker to targetable mutation. *Cancers (Basel)*, 12(11), 3236. <https://doi.org/10.3390/cancers12113236>
- Phipps, A. I., Buchanan, D. D., Makar, K. W., Burnett-Hartman, A. N., Coghill, A. E., Passarelli, M. N., Baron, J. A., Ahnen, D. J., Win, A. K., Potter, J. D., & Newcomb, P. A. (2012). BRAF mutation status and survival after colorectal cancer diagnosis according to patient and tumor characteristics. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 21(10), 1792–1798. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-12-0674>

References Bibliographiques

- Tieng, F. Y. F., Abu, N., Lee, L. H., & Ab Mutalib, N. S. (2021). Microsatellite instability in colorectal cancer liquid biopsy—current updates on its potential in non-invasive detection, prognosis and as a predictive marker. *Diagnostics*, 11(3), 544. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11030544>.
- Tulin, A., Slavu, I., Tulin, R., Alecu, L., Jecan, RC, Orlov, C., Iaciu, CI, Stanculeanu, DL, Hainarosie, R., Pituru, S., Pantea Stoian, A., et Nitipir, C. (2018). Le sexe du patient joue-t-il un rôle dans la survie du cancer colorectal MSI ? *Journal of Mind and Medical Sciences* , 5 (1), 101-108. <https://doi.org/10.22543/7674.51.P101108>
- Tong, G., Zhang, G., Hu, Y., Xu, X., & Wang, Y. (2024). Correlation between mismatch repair statuses and the prognosis of stage I–IV colorectal cancer. *Frontiers in Oncology*, 13, 1278398. <https://doi.org/10.3389/fonc.2023.1278398>
- Rantanen P, Keränen A, Barot S, Ghazi S, Liljegren A, Nordenvall C, Lindblom A, Lindforss U. The prognostic significance of microsatellite instability in colorectal cancer: a Swedish multi-center study. *Int J Colorectal Dis*. 2023 Jul 17;38(1):197. doi: 10.1007/s00384-023-04480-z. PMID: 37458848; PMCID: PMC10352163.
- Yoshida, N., Nakanishi, M., Inoue, K., Yasuda, R., Hirose, R., Naito, Y., ... & Kishimoto, M. (2018). Pure well-differentiated adenocarcinoma is a safe factor for lymph node metastasis in T1 and T2 colorectal cancer: a pilot study. *Gastroenterology Research and Practice*, 2018(1), 8798405. <https://doi.org/10.1155/2018/8798405>.

Annexes

Annexe 1

Principaux matériels et produits nécessaires à l'examen histologique macroscopique et microscopique :



Automate de circulation



appareil d'inclusion en paraffine



Etuve



Microtome

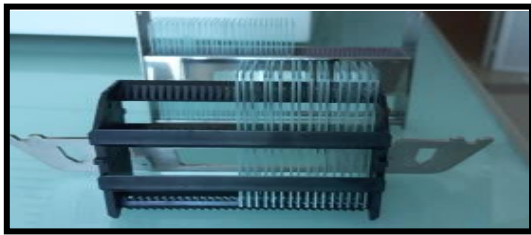


Baine marie



Plaque de vue macroscopique

Annexes



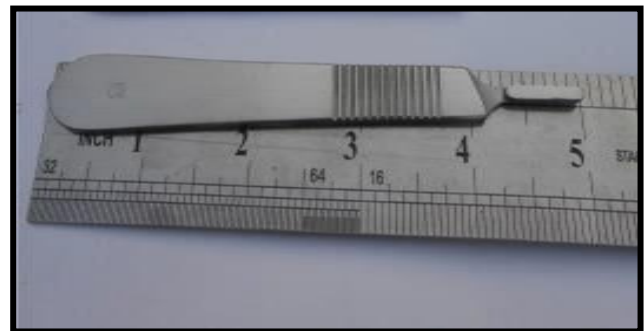
Support des lames



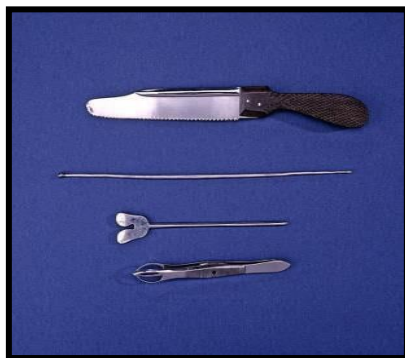
Moule



Cassette



Règle de mesure



Scalpel+ Pince + mousse



Gants



ciseaux

Les produits :

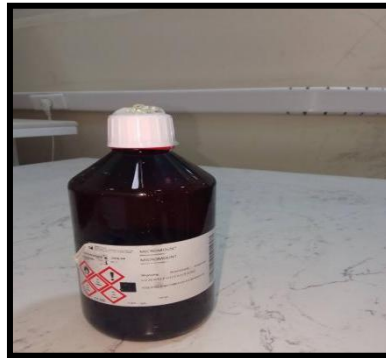
- Formaldéhyde à 10% (pour fixer le tissu)
- Alcool absolu 100% (pour déshydrater le tissu)
- Xylène (pour clarifier le tissu)
- Paraffine
- Hématoxyline (Colorant qui teinte les noyaux des cellules en bleu/violet)
- Eosine (Colorant qui teinte le cytoplasme en rose)

Annexes

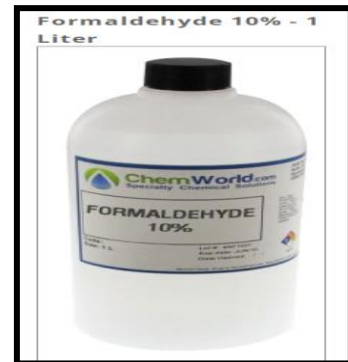
- Eukitt-colle synthétique (pour fixé lamelle)



Xylène



Eukitt-colle synthétique



Formaldéhyde à 10%



Alcool absolu 100%



Hématoxyline & Eosine



Paraffine solide

Les étapes de l'examen histologique :

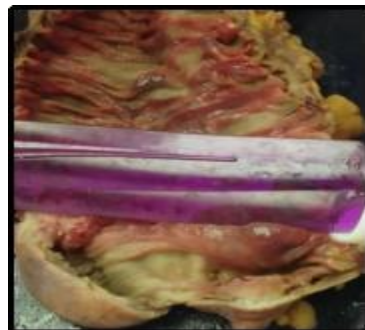




Figure 11 : Vue macroscopique de la pièce tissulaire et la mise dans des cassettes



Figure 12 : Enrobage et inclusion



Figure 13 : Confection des coupes et séchage des lames

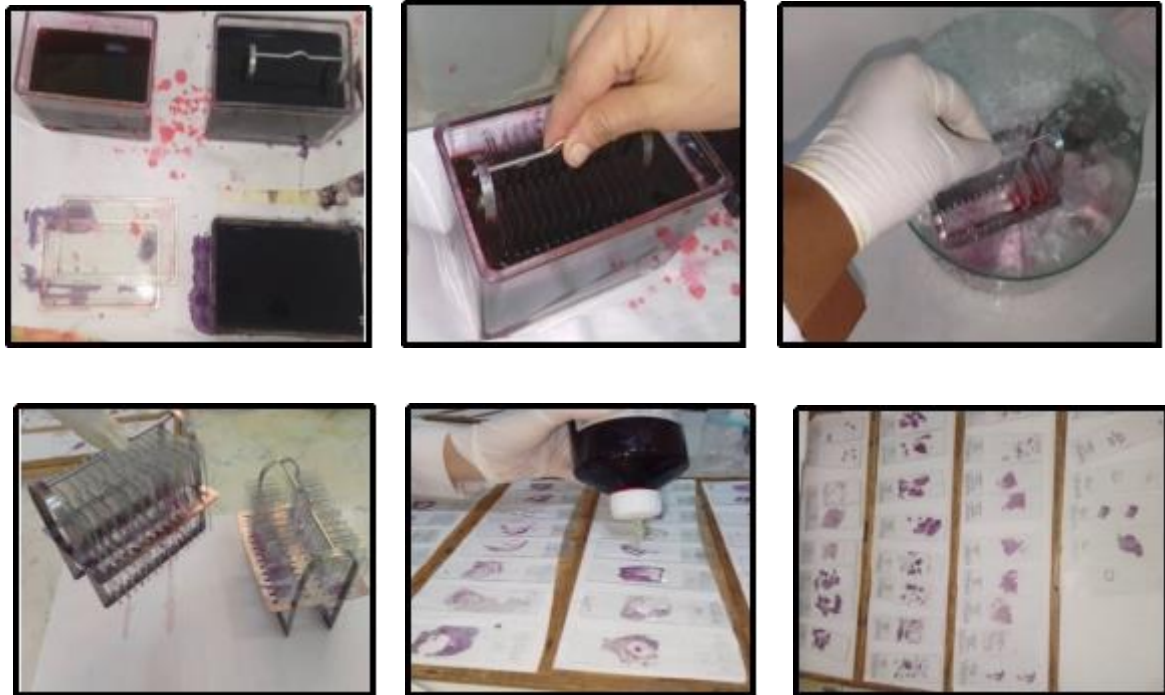


Figure 14 : La coloration à l'hématoxyline – Eosine (HE)

Principaux matériels et produits nécessaires à IHC :



Chambre humide



diaminobenzidine+ chromogène



Eukitt



HRP Amplificateur+HRP Polymère Détecteur (anticorps secondaires)



Les anticorps primaires (anti-MLH1 ; anti MSH2 ; anti MSH6 ; anti PMS2)

Les étapes de l'examen IHC :



Figure 15 : Préparation des coupes et incubation dans l'étuve.

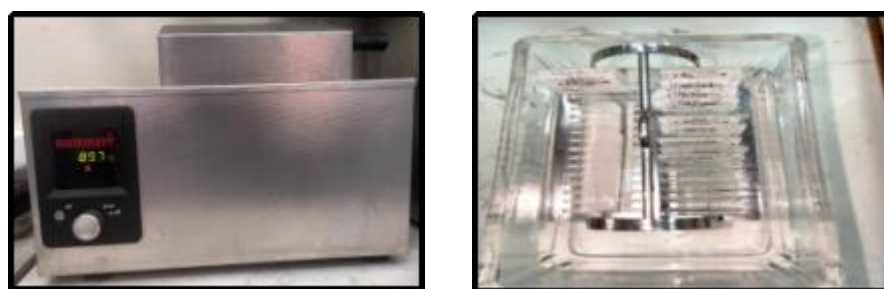


Figure 16 : Démasquage antigénique



Figure 17 : Delimitation avec crayon hydrophobe

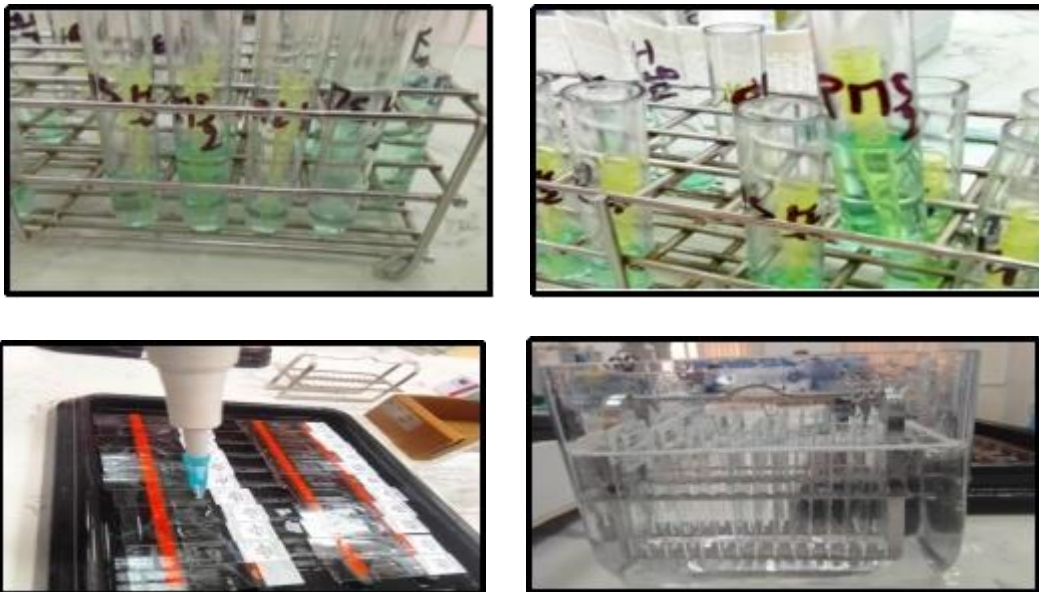


Figure 18 : Application de l'anticorps primaire



Figure 19: Application de l'anticorps secondaire



Figure 20 : Révélation chromogénique

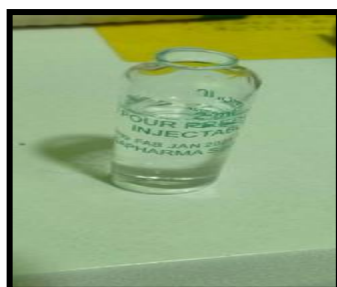


Figure 21 :Contre-coloration



Figure 22 : le montage

Principaux matériels et produits nécessaires à PCR Idylla :



EPI, BEPHARMA



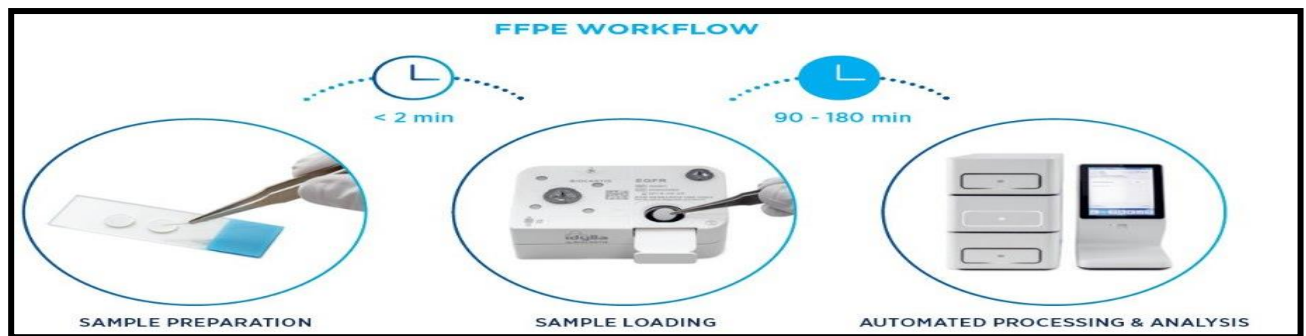
disques filtrants



FFPE + la lame



cartouche Idylla™ (KRAS; NRAS ; BRAF).



La plateforme de PCR Idylla

Les étapes de l'examen moléculaire (plateforme de PCR Idylla):





Figure 23: La plateforme de PCR Idylla

Annexe 2 :



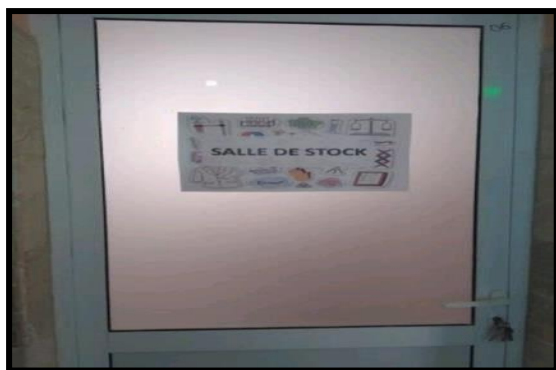
Salle de réception



Salle d'étude macroscopique



Salle des techniques histologique



Salle du stock



Salle d'étude microscopique

Annexe 3:

Stade	T	N	M
Stade 0	Tis	N0	M0
Stade I	T1, T2	N0	M0
Stade IIA	T3	N0	M0
Stade IIB	T4a	N0	M0
Stade IIC	T4b	N0	M0
Stade IIIA	T1, T2	N1	M0
	T1	N2a	M0
Stade IIIB	T3, T4a	N1	M0
	T2, T3	N2a	M0
	T1, T2	N2b	M0
Stade IIIC	T3, T4a	N2b	M0
	T4b	N1, N2	M0
Stade IVA	Tous T	Tous N	M1a
Stade IVB	Tous T	Tous N	M1b
Stade IVC	Tous T	Tous N	M1c

TableauI: Classification TNM des carcinomes colorectaux (AJCC, 2017)

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



UNIVERSITE DE BLIDA -1-
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Option : BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE

Chef d'option : Pr SAADI L.

Sous l'intitulé :

LE PROFIL MOLECULAIRE DU CANCER COLORECTAL

Réalisé par :

M^{lle} SILMI Mahdia

&

M^{lle} BOUHAMIDI ikram

Soutenu le : 07 juillet 2025

Devant le jury composé de :

M ^{me} BOKRETA S.	Maitre de conférences B	Université de Blida -1-	Présidente
M ^{me} KESKAS S.	Maitre Assistante A	Université de Blida -1-	Examinatrice
M ^{me} BENCHABANE S.	Maitre de conférences A	Université de Blida -1-	Promotrice
M ^{me} AMIR Zine-Charaf	PROFESSEUR	CHU Mustapha (Alger)	Co-Promotrice