

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE SAAD DAHLAB - BLIDA 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

## Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master dans le domaine SNV

Filière Sciences Biologiques

Option : Biologie moléculaire et cellulaire

Thème

# ***PROFIL D'EXPRESSION DE GALECTINE-3 ET MUCINE-1 DANS LE CANCER COLORECTAL***

Présenté par :

Date de soutenance : 14/07/2022 a 11h00

\*MERAGHNI Mehdi

\*KHELIL CHERFI Amina

Devant le jury composé de :

<b>• Nom</b>	<b>Grade / Lieu</b>	<b>Qualité</b>
<b>• Mme RAHIM I.</b>	<b>MCA/USDB1</b>	<b>Présidente</b>
<b>• Mr. BOUDJBOUB Y.</b>	<b>Professeur /CHU Frantz Fanon</b>	<b>Examineur</b>
<b>• Mme CHALAL N.</b>	<b>MCA/USDB1</b>	<b>Promotrice</b>
<b>• Mme BENDIMRED T.</b>	<b>MAA/CHU Beni Messous</b>	<b>Co-promotrice</b>
<b>• Mme Charaallah A.</b>	<b>MCA/USDB1</b>	<b>Invité d'honneur</b>

**Promotion : 2021-2022**



## ***REMERCIEMENTS***

Avant toute chose ; nous remercions DIEU le tout puissant, qui nous a permis de réaliser ce modeste travail ; qui nous a ouvert les portes du savoir et qui nous a donné la force et la volonté de poursuivre nos études.

Au terme de ce travail, Nous tenons à exprimer toute notre reconnaissance et remerciements à notre promotrice madame **CHALAL.N** pour ses conseils et son aide durant la période de travail. Nos remerciements vont également au professeur **BENDIMRED.T** notre Co-promotrice, d'avoir accepté de participer à notre encadrement, qu'elle trouve ici nos sincères gratitudee.

Nous souhaitons adresser nos remerciements à notre chef d'option Madame **SAADIL** pour la richesse et la qualité de son enseignement qui déploient de grands efforts pour assurer à leurs étudiants une formation actualisée.

Nos vifs remerciements vont également aux membres de jury Madame **RAHIM** et Monsieur **BOUDJBOUB** Pour l'intérêt qu'elles ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Nous exprimons nos sincères remerciements, au Professeur **SLIMANI** qui nous a accueillies au niveau du laboratoire d'anatomopathologie de l'hôpital ISAAD HASSANI. Ainsi que toute l'équipe de service d'anatomopathologie qui nous ont aidés à réaliser les techniques utilisées dans cette étude.



Je dédie ce mémoire à

### A MES PARENTS BIEN-AIMES

Je vous dédie ce mémoire en reconnaissance de tout l'amour et de toute l'affection que Vous n'avez jamais cessé de me prodiguer.

Il n'est pas de mots assez forts pour exprimer mon immense amour et ma profonde Gratitude pour toutes les sacrifices et les efforts pour mon éducation.

Vous m'avez toujours guidé, soutenue, conseillé avec la plus grande des sagesses. Je prie Dieu, le tout puissant, de vous accorder santé et longue vie afin que je puisse Vous combler à mon tour sans jamais vous décevoir.

Que Dieu vous protège

A ma sœur Nour El houda

A mon frère Tarek

A mon cousin Ramzi

A ma meilleure amie Amira

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, la reconnaissance et le Respect que j'ai pour vous. Vous m'avez aidée, soutenue, protégée, guidée et conseillée durant toutes mes années d'étude. Je prie Dieu le tout puissant de vous accorder santé, et beaucoup de bonheur.

A mes amis : Rayen, Sami, Midou, Wassim, Lyes, Tamim, Kamel.

Je prie Dieu de tout cœur qu'il vous garde très longtemps auprès de nous.



*Tout d'abord, louange à « Allah » le tout généreux qui nous a guidés sur le droit chemin tout au long du travail et nous a inspiré. Sans sa miséricorde, ce travail n'aura pas abouti.*

***Papa, Maman, Amine et Douaa** , si j'en suis arrivée là aujourd'hui, c'est grâce à vous ! Un « IMMENSE » MERCI n'est pas assez fort ... Merci pour tout ce que vous avez fait pour moi, d'être là dans les bons comme dans les mauvais moments... de croire en moi, en mes capacités, Merci de m'avoir aidé durant toutes ces années d'étude.*

*Vous n'avez jamais cessé de m'encourager, de me donner cette force, cette poigne pour y arriver, et cela tous les jours. Vous êtes ce qu'il y a de plus précieux pour moi, j'espère qu'en ce jour vous serez fiers de moi. Puisse Dieu vous procurer santé, bonheur et prospérité.*

## Résumé

De par sa fréquence et sa gravité, le cancer colorectal (CCR) constitue un problème majeur de santé publique, affectant toutes les populations sans aucun discernement. Ce type de cancers est classé en 2<sup>ème</sup> position en Algérie avec un taux annuel de 6000 nouveaux cas.

Ce travail avait pour objectif principal d'étudier le profil d'expression de la Galectine 3 (GAL-3) et la Mucine 1 (MUC-1) chez les patients atteints du cancer colorectal. D'autre part, ce travail visait à estimer la fréquence du cancer colorectal au sein du service d'anatomie pathologique du CHU Isaad Hassani de Beni Messous, dans le but de faire ressortir les particularités épidémiologiques et clinico-anatomopathologiques de ce type de cancers.

Une enquête rétrospective a été effectuée sur les patients atteints de cancer colorectal, recensés dans le laboratoire d'anatomie pathologique de Beni Messous, durant la période comprise entre le 1<sup>er</sup> Janvier 2019 et le 10 Avril 2022. De plus, une étude anatomopathologique a été faite prospectivement sur 5 cas via une analyse histologique et immunohistochimique au moyen de deux anticorps monoclonaux à savoir : l'anti-GAL-3 et l'anti-MUC-1.

Au total 188 cas de cancer colorectal ont été enregistrés. L'âge moyen des patients était de  $60.44 \pm 14.69$  ans, avec une prédominance masculine de 55 %. Le sex-ratio (H/F) était de 1,23. La localisation tumorale la plus répandue était le colon droit caractérisant 51 % des cas, avec une prédominance de l'adénocarcinome bien différencié noté chez 54 % des cas. De plus l'étude rétrospective révèle une surexpression de GAL-3 chez 2% des cas, tandis que la MUC-1 était surexprimée chez uniquement 0.5% des cas. La majorité des patients (60 %) ont bénéficié de plusieurs cures de chimiothérapie et /ou radiothérapie. D'autre part, l'analyse immunohistochimique des cas étudiés prospectivement, nous a permis de mettre en évidence 3 cas surexprimant la GAL- 3 et un autre cas surexprimant, à la fois la GAL-3 et la MUC-1.

Au terme de notre étude, il en ressort que les cancers colorectaux sont fréquemment diagnostiqués au sein du service d'anatomie pathologique du CHU de Beni Messous. De plus, ce travail a pu mettre en évidence quelques particularités épidémiologiques et clinico-anatomopathologiques du cancer colorectal. En revanche, il serait très remarquable de poursuivre cette étude, en augmentant le nombre des échantillons étudiés pour avoir des résultats plus significatifs. Il serait également très intéressant d'utiliser des outils moléculaires plus performants afin d'identifier de nouveaux marqueurs d'intérêt diagnostique, pronostique voire même thérapeutique.

**Mots-clés** : Cancer colorectal, enquête rétrospective, immunohistochimie, profil d'expression, GAL-3, MUC-1, marqueurs.

## Abstract

Due to its frequency and seriousness, colorectal cancer (CRC) constitutes a major public health problem, affecting all populations without any discernment. This type of cancer is ranked 2nd in Algeria with an annual rate of 6,000 new cases.

The main objective of this work was to study the expression profile of Galectin 3 (GAL-3) and Mucin 1 (MUC-1) in patients with colorectal cancer. On the other hand, this work aimed to estimate the frequency of colorectal cancer in the pathological anatomy department of the CHU Isaad Hassani in Beni Messous, in order to highlight the epidemiological and clinico-anatomopathological particularities of this type of cancer.

A retrospective survey was carried out on patients with colorectal cancer, identified in the pathological anatomy laboratory of Beni Messous, during the period between January 1, 2019 and April 10, 2022. In addition, an anatomopathological study was carried out prospectively on 5 cases via a histological and immunohistochemical analysis using two monoclonal antibodies, namely: anti-GAL-3 and anti-MUC-1.

A total of 188 cases of colorectal cancer were recorded. The mean age of the patients was  $60.44 \pm 14.69$  years, with a male predominance of 55%. The sex ratio (M/F) was 1.23. The most common tumor location was the right colon characterizing 51% of cases, with a predominance of well-differentiated adenocarcinoma noted in 54% of cases. In addition, the retrospective study reveals an overexpression of GAL-3 in 2% of cases, while MUC-1 was overexpressed in only 0.5% of cases. The majority of patients (60%) received several courses of chemotherapy and/or radiotherapy. On the other hand, the immunohistochemical analysis of the cases studied prospectively, allowed us to highlight 3 cases overexpressing GAL-3 and another case overexpressing both GAL-3 and MUC-1.

At the end of our study, it appears that colorectal cancers are frequently diagnosed in the pathological anatomy department of the University Hospital of Beni Messous. In addition, this work was able to highlight some epidemiological and clinico-anatomopathological particularities of colorectal cancer. On the other hand, it would be very remarkable to continue this study, by increasing the number of samples studied to obtain more significant results. It would also be very interesting to use more efficient molecular tools to identify new markers of diagnostic, prognostic or even therapeutic interest..

**Keywords:** Colorectal cancer, retrospective survey, immunohistochemistry, expression profile, GAL-3, MUC-1, markers.

## ملخص

يشكل سرطان القولون والمستقيم (CRC) ، بسبب تواتره وخطورته ، مشكلة صحية عامة رئيسية ، تؤثر على جميع السكان دون أي تمييز. ويحتل هذا النوع من السرطان المرتبة الثانية في الجزائر بمعدل سنوي قدره 6000 حالة جديدة.

كان الهدف الرئيسي من هذا العمل هو دراسة ملف تعريف تعبير (GAL-3) (Galectin 3) و Mucin 1 ((MUC-1)) في مرضى سرطان القولون والمستقيم. من ناحية أخرى ، يهدف هذا العمل إلى تقدير مدى انتشار سرطان القولون والمستقيم في قسم التشريح المرضي في مستشفى CHU إسعاد حساني ببني مسوس ، من أجل إبراز الخصائص الوبائية والتشريحية السريرية المرضية لهذا النوع من السرطان.

تم إجراء مسح بأثر رجعي على مرضى سرطان القولون والمستقيم ، الذي تم تحديده في مختبر التشريح المرضي ببني مسوس ، خلال الفترة ما بين 1 يناير 2019 و 10 أبريل 2022. بالإضافة إلى ذلك ، تم إجراء دراسة تشريحية مرضية مستقبلياً على 5 حالات عبر تحليل نسيجي وكيميائي مناعي باستخدام اثنين من الأجسام المضادة أحادية النسيلة ، وهما: مضادات GAL-3 ومضادة لـ MUC-1.

تم تسجيل 188 حالة إصابة بسرطان القولون والمستقيم. كان متوسط عمر المرضى  $60.44 \pm 14.69$  سنة ، مع غلبة الذكور بنسبة 55%. كانت نسبة الجنس (M / F) 1.23. كان موقع الورم الأكثر شيوعاً هو القولون الأيمن الذي يميز 51% من الحالات ، مع غلبة سرطان غدي جيد التباين لوحظ في 54% من الحالات. بالإضافة إلى ذلك ، كشفت الدراسة بأثر رجعي عن الإفراط في التعبير عن GAL-3 في 2% من الحالات ، بينما تم الإفراط في التعبير عن MUC-1 في 0.5% فقط من الحالات. تلقى غالبية المرضى (60%) عدة دورات من العلاج الكيميائي و / أو العلاج الإشعاعي. من ناحية أخرى ، سمح لنا التحليل الكيميائي المناعي للحالات المدروسة مستقبلياً بتسليط الضوء على 3 حالات مفردة في التعبير عن GAL-3 وحالة أخرى مفردة في التعبير عن كل من GAL-3 و MUC-1.

في نهاية دراستنا ، يبدو أن سرطانات القولون والمستقيم يتم تشخيصها بشكل متكرر في قسم التشريح المرضي في مستشفى بني مسوس الجامعي. بالإضافة إلى ذلك ، كان هذا العمل قادراً على تسليط الضوء على بعض الخصائص الوبائية والتشريحية السريرية لسرطان القولون والمستقيم. من ناحية أخرى ، سيكون من اللافت للنظر مواصلة هذه الدراسة ، من خلال زيادة عدد العينات المدروسة للحصول على نتائج أكثر دلالة. سيكون من المثير للاهتمام أيضاً استخدام أدوات جزيئية أكثر كفاءة لتحديد العلامات الجديدة للتشخيص أو الإنذار أو حتى الاهتمام العلاجي.

**الكلمات المفتاحية:** سرطان القولون والمستقيم ، المسح بأثر رجعي ، الكيمياء النسيجية المناعية ، ملف التعبير ، GAL-3 ، MUC-1 ، العلامات.

## LISTE DES ABREVIATIONS

---

**ADK:** Adénocarcinome

**AGE:** Age Glycation End-products

**AJCC:** American Joint Commission on Cancer

**AKT:** Protein kinase-B

**APC:** Adenomatous Polyposis Coli

**Bcl-2:** B cell lymphoma-2

**CCR:** cancer colorectal

**CDK4:** Cyclin-dependent kinase 4

**CIMP:** CpG Island Methylator Phenotype

**CRD :** Carbohydrate recognition domain

**DCs :** cluster de différenciation

**DNMT:** ADN méthyltransférase

**EGF:** epithelial growth factor

**EGFR:** epithelial growth factor receptor

**ERK:** extracellular signal regulated kinase

**GAL-3:** galectine-3

**IC :** instabilité chromosomique

**kDa:** kilo Daltons

**LAM:** Lysosome associated membrane protein

**LEF1:** Lymphoid Enhancer Factor 1

**LGALS3 :** gène codant pour la galectine-3

**MAPK:** Mitogen-activated protein kinase



## LISTE DES ABREVIATIONS

---

**MIP:** MUC1 Inhibitory Protein

**MMR:** Mis Match Repair

**MSI :** instabilité des séquences microsatellites

**MUC 1:** mucine 1

**NF-KB:** Nuclear Factor Kappa-B

**PAF:** La polypose adénomateuse familiale

**STAT:** signal transducer and activator of transcription

**TCF:** T-cell Factor

**TNM:** tumor node metastasis

**UICC:** Union for International Cancer Control

**VEGF** Vascular Endothelial Growth Factor

**VNTR:** various number of tandem repetition

## LISTE DES FIGURES

---

<b>Figure 1:</b> Localisation des CCR.....	3
<b>Figure 2:</b> Estimation de la mortalité due aux cancers en Europe en 2016 .....	4
<b>Figure 3 :</b> Estimation de la mortalité due aux cancers en Algérie en 2016 .....	4
<b>Figure 4:</b> stades du CCR.....	7
<b>Figure 5:</b> la voie Wnt/APC/ $\beta$ -caténine impliquée dans l'état de repos et l'état actif.....	8
<b>Figure 6:</b> la voie de l'instabilité chromosomique et la de l'instabilité microsatellitaire .....	9
<b>Figure 7:</b> Les altérations génétiques et epi-génétiques qui provoquent la promotion tumorale colique .....	10
<b>Figure 8:</b> les traitements utilisés chez les patients atteints de CCR .....	11
<b>Figure 9:</b> Présentation de la correspondance entre les exons et les domaines protéiques.....	12
<b>Figure 10:</b> Fonctions biologiques de la galectine-3 .....	13
<b>Figure 11:</b> Rôle de Gal-3 dans la régulation des voies de signalisation Cellulaire.....	14
<b>Figure 12 :</b> Représentation schématique de MUC1 .....	19
<b>Figure 13 :</b> MUC1 et la voie Wnt/ $\beta$ -caténine/TCF/LEF .....	20
<b>Figure 14 :</b> Rôle anti-adhérent de MUC1 dans le cancer .....	21
<b>Figure 15:</b> Illustration de technique d'immunohistochimie indirect.....	22
<b>Figure 16 :</b> Prévalence du cancer durant la période d'études.....	24
<b>Figure 17 :</b> Répartition de cas selon l'année de recrutement .....	25

## LISTE DES FIGURES

---

<b>Figure 18 :</b> Répartition des cas par sexe.....	26
<b>Figure 19:</b> Répartition de cas par tranche d'âge.....	28
<b>Figure 20 :</b> Répartition des patients selon l'âge par sexe.....	36
<b>Figure 21 :</b> Répartition des cas selon le siège du CCR.....	37
<b>Figure 22:</b> Répartition des cas selon le T-tumeur primitive.....	38
<b>Figure 23:</b> Répartition des cas selon le N-ganglions lymphatiques régionaux.....	39
<b>Figure 24 :</b> Répartition des cas selon le degré de différenciation.....	40
<b>Figure 25 :</b> Répartition des cas selon les stades de différenciation.....	41
<b>Figure 26:</b> Répartition des cas selon les traitements administrés.....	42
<b>Figure 27:</b> Répartition des cas selon l'expression de GAL-3.....	43
<b>Figure 28:</b> Répartition des cas selon l'expression de MUC-1.....	43
<b>Figure 29 :</b> photomicrographie d'une muqueuse colique a l'état normal.....	44
<b>Figure 30:</b> photomicrographie d'un adénocarcinome colique bien différencié.....	45
<b>Figure 31:</b> photomicrographie des follicules lymphoïde qui ont subits une infiltration par les cellules tumorales.....	46
<b>Figure 32:</b> photomicrographie d'un embolie vasculaire dans un tissu tumoral.....	47
<b>Figure 33:</b> photomicrographie de l'expression immunohistochimique positive et négative de la GAL3 dans le cas d'un adénocarcinome colique au microscope photonique à fort grossissement x400.....	48
<b>Figure 34:</b> photomicrographie de l'expression et la sur-expression de la MUC1 dans le cas d'un adénocarcinome colique.....	49

## LISTE DES TABLEAUX

---

<b>Tableau 1 :</b> Les critères de la 8 <sup>ème</sup> édition de la classification TNM.....	6
<b>Tableau 2 :</b> Biomarqueurs de diagnostic pronostic et prédictif des cancers coliques.....	7
<b>Tableau 3 :</b> Les modalités de dépistage dépendent du niveau de risque .....	8
<b>Tableau 4 :</b> Résultats d’observations microscopiques des tissus tumoraux après la technique immunohistochimie.....	15

# SOMMAIRE

---

<b>INTRODUCTION</b> .....	1
<b>PARTIE I : RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
<b>CHAPITRE 1 : Généralités sur le cancer colorectal</b> .....	3
1.1. Définition .....	3
1.2.Épidémiologie .....	3
1.3. Facteurs de risque .....	5
1.4.Classification .....	5
1.4.1. Classification Anatomopathologique.....	5
1.4.2. Classification Moléculaire .....	7
1.5. Mécanismes moléculaires de la cancérogenèse colorectale.....	8
1.5.1. Prédisposition génétique et cancer sporadique.....	8
1.5.2 Altérations épigénétiques.....	10
1.6. Dépistage et diagnostic .....	11
1.6.1. Dépistage .....	11
1.6.2. Diagnostic colique .....	11
1.6.3. Diagnostic rectal .....	11
1.7. Traitement.....	12
1.7.1 Approches thérapeutiques conventionnelles.....	12
1.7.2 Immunothérapie.....	13
<b>CHAPITRE 2 : Implication de la galectine 3 et la mucine 1 dans le cancer colorectal</b>	
2.1. Introduction.....	15
2.2. Galectine 3.....	15
2.2.1. Définition.....	15
2.2.2. Aspects structurels .....	16

## SOMMAIRE

---

2.2.3. Sites d'expression tissulaires et cellulaires.....	17
2.2.4. Implications physiopathologiques .....	18
2.3. Mucine 1.....	20
2.3.1. Définition.....	20
2.3.2. Structure et fonction.....	21
2.3.3 Muc 1 et voie de signalisation.....	22
2.4. Contribution de la Gal3 et Muc 1 dans le déclenchement et la progression tumorale.....	24
2.4.1. Rôle de la Galectine 3 dans le cancer colorectal.....	24
2.4.2. Rôle de la Mucine 1 dans le cancer colorectal.....	24

### **PARTIE II : PARTIE PRATIQUE**

<b>I. Matériel.....</b>	<b>27</b>
I.1. Matériel biologique .....	27
I. 2. Matériel non biologique .....	27
<b>II. Méthodes .....</b>	<b>27</b>
II.1. Enquête rétrospective.....	27
II. 2. Etude anatomopathologique.....	28
II. 3. Etude immunohistochimique .....	31
<b>III. Résultats et discussion .....</b>	<b>34</b>
III.1 Enquête rétrospective .....	34
III.2 Résultats anatomopathologique .....	47
III.2.1. Résultats histologiques .....	47
III.2.2. Résultats immunohistochimiques.....	49
<b>IV. Conclusion .....</b>	<b>52</b>

### **Références bibliographiques**

### **ANNEXES**



# ***Introduction***



# INTRODUCTION

---

De par sa fréquence et sa gravité, le cancer colorectal (CCR) constitue un problème majeur de santé publique, affectant toutes les populations sans aucun discernement. Ce type de cancers représente la 3<sup>ème</sup> cause de décès dans le monde, avec environ 1,8 million nouveaux cas et 881 000 décès enregistrés en 2018 et classé en 2<sup>ème</sup> position en Algérie, avec un taux annuel de 6000 nouveaux cas [1].

La cancérogenèse colorectale est considérée comme étant un processus multiphasique est très complexe, où interfèrent des facteurs de risque endogènes et environnementaux. La majorité des études incriminent une alimentation riche en viande rouge, en calorie, en graisses et pauvre en fibres comme étant corrélée à un risque accru de cancer colorectal [2]. Et ce, contrairement à un régime alimentaire riche en fruits, légumes, poissons, viandes blanches et en céréales entières qui est associé à un faible risque de développement de ce type de cancers. En outre, l'obésité, le surpoids et la sédentarité concourent fortement à l'accroissement du taux d'incidence des cancers colorectaux. De plus, l'exposition professionnelle à l'amiante a été également suspectée dans ce sens [3].

A l'époque où la médecine personnalisée prend de plus en plus de l'envergure, il est indispensable de connaître les différents événements moléculaires qui régissent la progression tumorale. Depuis quelques années déjà, les galectines ainsi que les mucines font l'objet d'un intérêt grandissant au profit de la découverte des biomarqueurs exploitables. Mis à part leurs implications physiologiques, ces glycoprotéines régulent différents aspects de la progression tumorale, dont la résistance à la chimiothérapie, l'immunoévasion et le potentiel métastatique étant donné que leur expression est souvent dérégulée dans plusieurs types de cancer. Il est évident donc, qu'une meilleure caractérisation de leur expression et de leurs fonctions permettra de développer de nouveaux outils pour le diagnostic, le pronostic et le traitement des patients atteints du cancer [4].

De nos jours, l'identification des biomarqueurs tumoraux dans le CCR, s'appuie principalement sur l'investigation des niveaux d'expression de protéines d'intérêt ou sur l'étude de la séquence ou l'amplification des gènes correspondants [5].

L'une des techniques envisagées pour la détermination du profil d'expression des différentes protéines corrélées à la carcinogenèse telles que : GAL-3 et MUC-1 dans le cas du cancer colorectal, est l'immunohistochimie [6]. Cette dernière permet de mettre en évidence



## INTRODUCTION

---

la présence ou l'absence d'expression de ces protéines dans le tissu tumoral par rapport au tissu sain [7]. Ce type d'analyse est généralement considéré comme étant moins lourd et moins coûteux que d'autres approches allélotypiques et permet donc, de cibler le gène en cause et de rechercher, en complémentarité avec d'autres outils plus performants de biologie moléculaire, d'éventuelles mutations constitutionnelles contribuant à la carcinogenèse colorectale notamment dans les familles prédisposées au CCR de type HNPCC [8].

L'efficacité de la galectine-3(GAL-3) et mucine-1(MUC-1) en tant que marqueurs diagnostiques, pronostiques voire même thérapeutiques chez les cancéreux, a fait l'objet de plusieurs travaux de recherche à travers le monde dont le nombre ciblant le cancer colorectal est limité par rapport aux autres types de cancers.

En Algérie, aucune publication n'a été précédemment réalisée dans ce sens. C'est donc, dans cette perspective et en vue de comparer nos résultats à ceux des autres travaux que s'inscrit l'étude rétrospective et prospective, que nous avons menée. Ce qui pourrait donc concourir à l'élaboration de nouvelles stratégies pour optimiser la prise en charge du cancer colorectal.

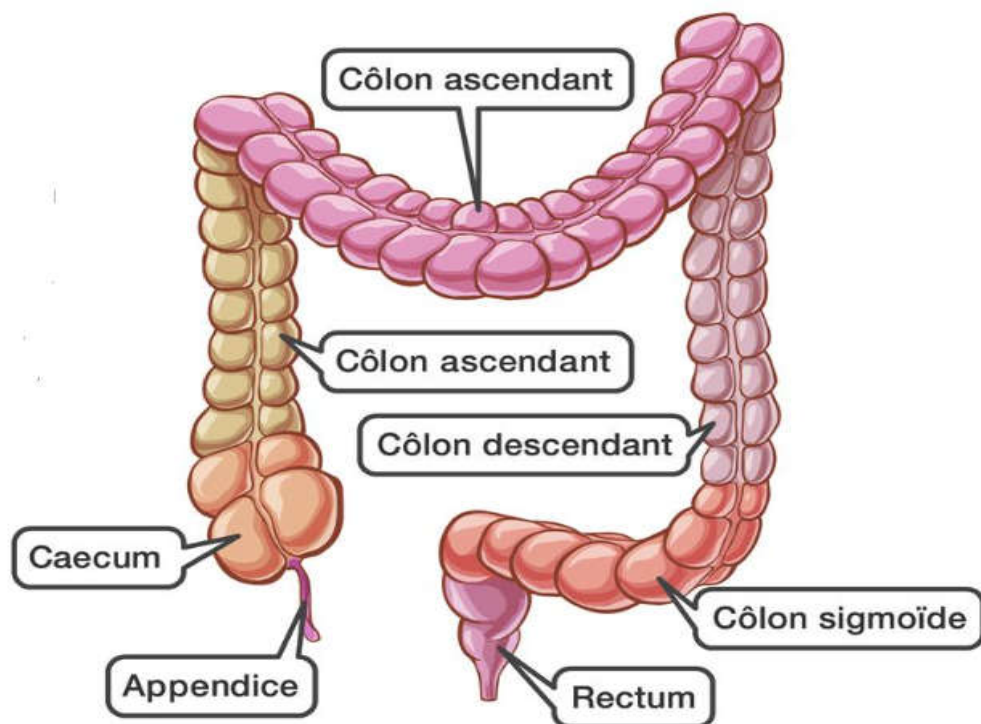
En dehors du volet épidémiologique de notre étude, nous avons principalement mis l'accent sur l'étude, à la fois prospective et rétrospective, du profil d'expression immunohistochimique de GAL-3 et MUC-1 dans le cancer colorectal, en faisant valoir leur intérêt diagnostique ainsi que leur rôle dans l'orientation de la démarche thérapeutique.

## Chapitre I : Généralités sur le cancer colorectal

### I.1. Définition

Le cancer colorectal (CCR) commence généralement par des tumeurs précancéreuses appelées polypes au niveau des glandes de la muqueuse intestinale du rectum ou du colon qui se développent évoluant vers une tumeur maligne [9].

Environ 60% des cas de CCR sont localisés dans le colon, principalement dans le colon sigmoïde. Lorsque la lésion est à moins de 15 cm du rectum, 40 % des CCR affecteront le rectum (**Figure 1**) ; [10].

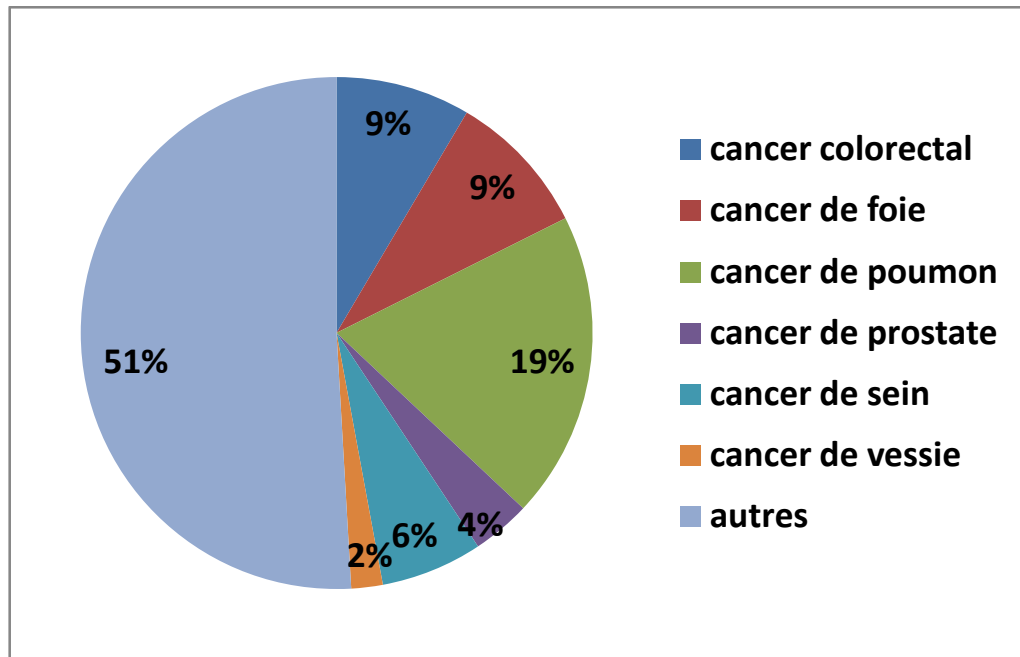


**Figure 1** : Localisation des cancers colorectaux [10].

### I.2. Epidémiologie

#### En Europe

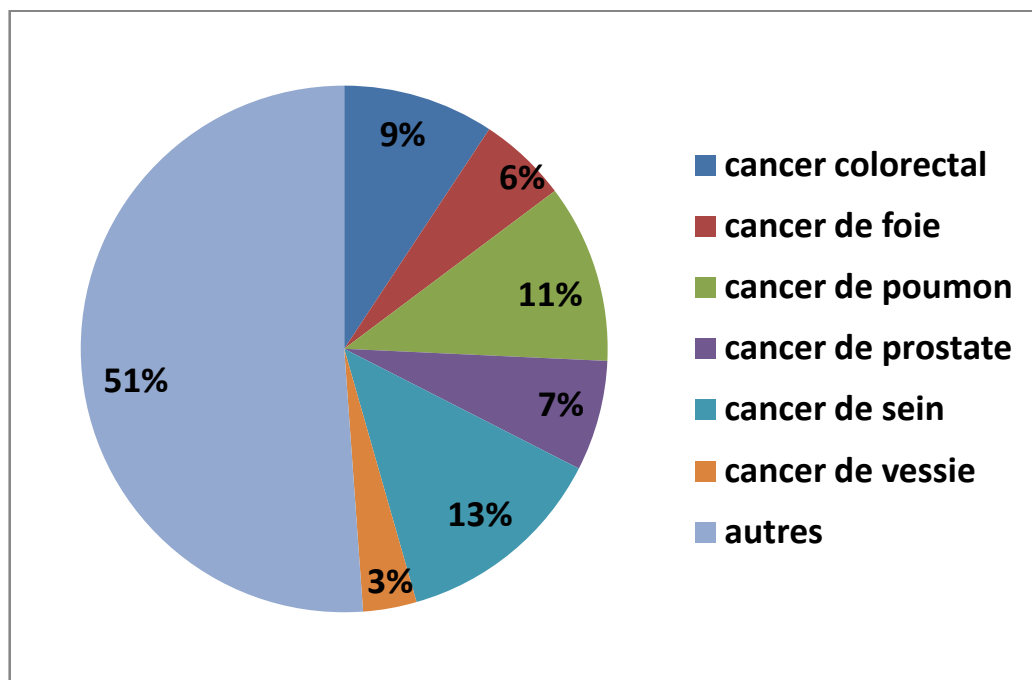
Le cancer colorectal est l'un des cancers les plus fréquents en Europe, d'ailleurs il est classé en troisième rang après le cancer du poumon et de foie chez l'homme par contre chez la femme il est classé en deuxième position après le cancer du sein. Le cancer colorectal survient majoritairement après 50 ans (5 % de cas avant cet âge). Le sex-ratio hommes/femmes est de 1 pour le cancer du côlon et est de 2 pour le cancer du rectum. Bien que leur incidence et aussi leur mortalité diminuent depuis 2005 (**Figure 2**) ; [11].



**Figure 2** : Estimation de la mortalité due aux cancers en Europe en 2016 [11].

### En Algérie

L'incidence du cancer colorectal en Algérie s'est multipliée par 4 depuis 2012 et elle continue d'augmenter, ce type de cancer est devenu une deuxième cause de mortalité chez les hommes et les femmes. En 2016, le taux des CCR est d'environ 6.000 nouveaux cas enregistrés chaque année (**Figure 3**) ; [12].



**Figure 3** : Estimation de la mortalité due aux cancers en Algérie en 2016 [12].

## I.3. Facteurs de risque

Plusieurs facteurs de risque peuvent contribuer au développement du cancer colorectal à savoir [13] :

### ✚ Age et sexe

Le risque du cancer colorectal augmente progressivement à partir de l'âge de 50 ans ainsi que la fréquence chez l'homme et plus élevée que chez la femme.

### ✚ Mode de vie

Une alimentation riche en viande rouge, graisse animale, Alcool et tabac provoquent un déclenchement du cancer colorectal.

### ✚ Surpoids et obésité

Surpoids et obésité sont des facteurs qui favorisent la carcinogénèse tumorale ce qui est dû au régime alimentaire non respecté.

### ✚ Maladies inflammatoires

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin telle que la maladie de Crohn, le diabète de type II, la rectocolite hémorragique RCH ou encore l'utilisation chronique d'anti-inflammatoires non stéroïdiens provoquent la promotion du cancer au niveau du rectum notamment au niveau colique.

### ✚ Antécédent personnel ou familial d'adénome colorectal

Entre 60 et 80 % des cancers recto coliques se développent à partir d'un adénome en fonction de la taille et du degré de progression. Cette dernière peut être héréditaire, comme dans la polypose adénomateuse familiale (PAF) ; [14].

### ✚ Syndrome de Lynch

Le CCR héréditaire est causé par des mutations au niveau des gènes MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2 qui provoquent généralement une instabilité des microsatellites qui est un facteur important dans la progression tumorale [15,16].

## I.4. Classification

### I.4.1 Classification anatomopathologique

Le système de classification des cancers TNM (tumor/node/metastasis) est un système qui décrit l'extension d'une tumeur maligne dans un organe particulier. Ce système est mis à jour périodiquement par les experts d'*Union for International Cancer Control (UICC)* et d'*American Joint Commission on Cancer (AJCC)* qui sont arrivés à la 8<sup>ème</sup> édition de la classification TNM parue en 2017 [17].

## ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE : CHAPITRE 1

Comme illustré dans le **tableau I** la classification se base sur les résultats de l'examen histopathologique après une chirurgie selon trois principaux critères en l'occurrence [18] :

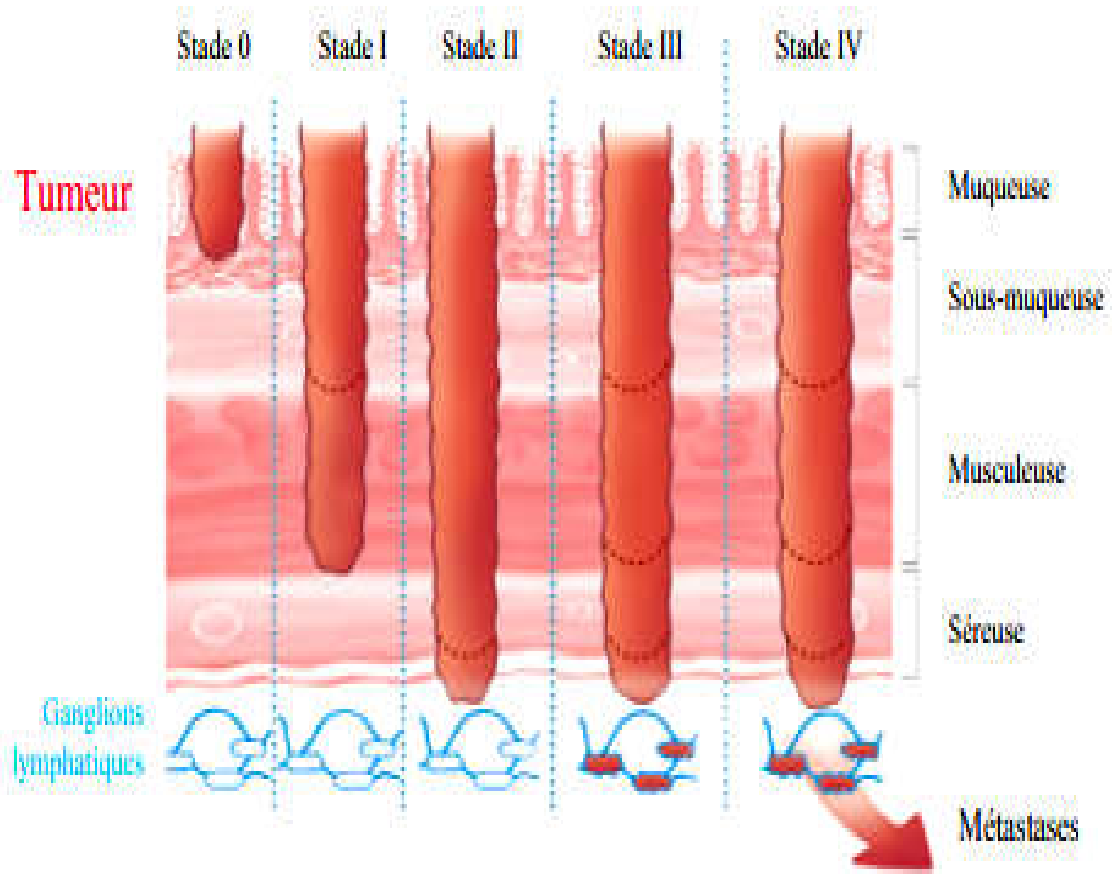
- ❖ **(T)** : L'extension de la tumeur primaire
- ❖ **(N)** : Extension dans les ganglions lymphatiques régionaux
- ❖ **(M)** : Extension à distance

**Tableau I** : les critères de la 8<sup>ème</sup> édition de la classification TNM [19,20].

Grade	Degré d'infiltration
<b>T0</b>	Pas de tumeur
<b>Tis</b>	Carcinome in situ (intra-épithélial avec franchissement de la membrane basale)
<b>T1</b>	Infiltrer la sous-muqueuse
<b>T2</b>	Infiltrer la musculature
<b>T3</b>	Infiltrer la sous-séreuse ou le tissu péri-rectal non péritonisé
<b>T4a</b>	Infiltration du péritoine viscéral, avec perforation tumorale
<b>T4b</b>	Envahissement par la tumeur d'organe adjacent
Niveau d'extension	Rapport métastase ganglionnaire
<b>pN0</b>	Si les ganglions lymphatiques ne sont pas atteints mais que le nombre minimal n'est pas atteint
<b>pN1</b>	Métastases dans 1 à 3 ganglions lymphatiques régionaux
<b>N1a</b>	métastase dans 1 seul ganglion régional
<b>N1b</b>	métastases dans 2 – 3 ganglions lymphatiques régionaux
<b>N1c</b>	nodules tumoraux (c'est-à-dire satellites) dans la sous-séreuse ou dans les tissus mous non péritonéalisés péri-coliques ou péri-rectaux sans atteinte ganglionnaire lymphatique
<b>pN2</b>	Métastases dans 4 (ou plus) ganglions lymphatiques régionaux
<b>N2a</b>	Métastases dans 4 à 6 ganglions lymphatiques régionaux
<b>N2b</b>	Métastases dans 7 (ou plus) ganglions lymphatiques régionaux
Stade d'extension	Evolution de métastase
<b>M0</b>	absence de métastase
<b>M1</b>	présence de métastases
<b>M1a</b>	Métastases de plusieurs organes ou péritonéales.
<b>M1b</b>	Métastases de plusieurs organes ou péritonéales.

# ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE : CHAPITRE 1

Cette classification TNM permet de définir plusieurs stades (0, I, II, III, IV) dont la prise en charge et le pronostic diffèrent (**Figure 4**) ; [21].



**Figure 4:** Les stades d'infiltration du cancer colorectal dans la muqueuse colique [21]

## I.4.2. Classification moléculaire

Les bio-marqueurs mentionnés dans le **tableau II** sont principalement utilisés pour le diagnostic moléculaire des cancers. Aujourd'hui ils sont utilisés sur des biopsies, pièces opératoires ou dans le sang circulant.

Afin d'évaluer exactement le stade de développement des tumeurs au moment du dépistage plusieurs catégories de biomarqueurs ont été identifiées dont : B-raf, EGFR et K-ras.

Ces marqueurs permettent de prédire la réussite ou l'échec des traitements conventionnels et d'orienter ainsi le protocole thérapeutique [21 ,22].

# ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE : CHAPITRE 1

**Tableau II** : Biomarqueurs de diagnostic et de pronostic des cancers coliques [21]

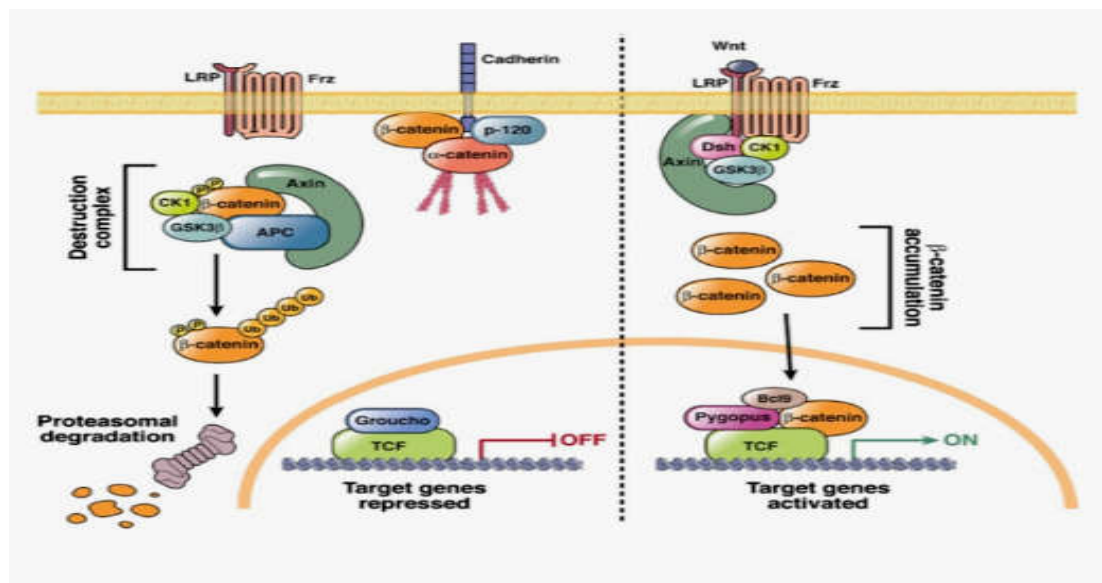
Biomarqueurs	Anomalie génétique	Valeur biologique	Thérapie indiquée
<b>B-raf</b>	Mutation	Mauvais pronostic	Panitumabab (Anti-EGFR)
<b>EGFR</b>	Expression	Prédictive d'une réponse aux inhibiteurs de la voie de signalisation induite par l'EGF	Lmatinib(Anti-tyrosine kinase)
<b>K-ras</b>	Mutation	Prédictive d'une résistance aux anti-EGF	Cetuximb (anti-EGFR)

## I.5.Mécanismes moléculaires de la cancérogenèse colorectale

### I.5.1 Prédiposition génétique et cancer sporadique

Dans un contexte sporadique, la polypose adénomateuse familiale (PAF) est un syndrome héréditaire du cancer colorectal comme le syndrome de Lynch, sauf que ce dernier est sans polypose [23].

La mutation du gène *APC*, situé en 5q2, est souvent l'évènement précoce reconnaissable dans la carcinogénèse. Cette mutation est impliquée dans la survie et dans la prolifération des tumeurs notamment dans la migration et l'adhésion cellulaire [24].Cependant ce contrôle s'effectue en modulant le taux cellulaire de  $\beta$ -caténine, un régulateur transcriptionnel de la voie de signalisation *Wnt* (Figure 5) ; [25].



**Figure 5**: la voie de signalisation wnt- $\beta$ -caténine dans l'état actif et état de repos [26].

# ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE : CHAPITRE 1

La transformation de l'adénome en carcinome est un résultat d'une accumulation d'évènements cellulaires conduisant, à terme, à la perte du contrôle prolifératif [27,28].

Les patients touchés par le syndrome de Lynch sont porteurs de mutations au niveau des gènes *hMSH2* ou *hMLH1* ou *PMS2* qui sont impliqués dans le système MMR (MisMatchRepair) des bases de l'ADN durant la réplication (Figure 6).

Les erreurs successives qui ont lieu dans ce processus de réparation engendrent une instabilité des séquences microsatellites (MSI) responsables de l'initiation et de la progression tumorale [29,30].

Les cancers colorectaux sporadiques sont associés aux facteurs immunologiques et environnementaux résultent la transformation de la muqueuse intestinale en carcinome invasif suite d'acquisitions séquentielles d'altérations génétiques [31].

La mise en évidence de tous ces évènements par un ensemble important d'études mécanistiques, a permis la classification du CCR selon deux voies majeures d'instabilité génomique conduisant au CCR [32].

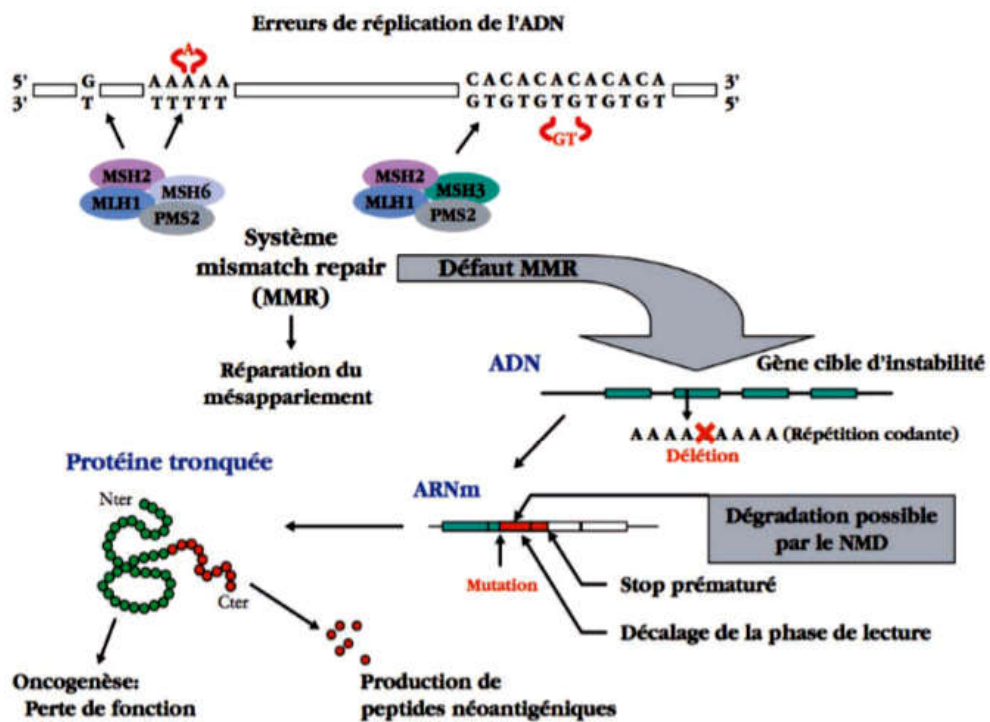


Figure 6 : la voie de l'instabilité chromosomique (IC) et la de l'instabilité microsatellitaire (MSI) ; [33-35].



# ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE : CHAPITRE 1

Dans la voie de l'IC, les séquences de la carcinogenèse colorectale débutent par l'apparition des polyadénomes bénins, Après une série d'altérations génétiques multiples. Ces polyadénomes sont transformés en adénomes avancés de haut grade et à la progression vers un cancer invasif [36-38].

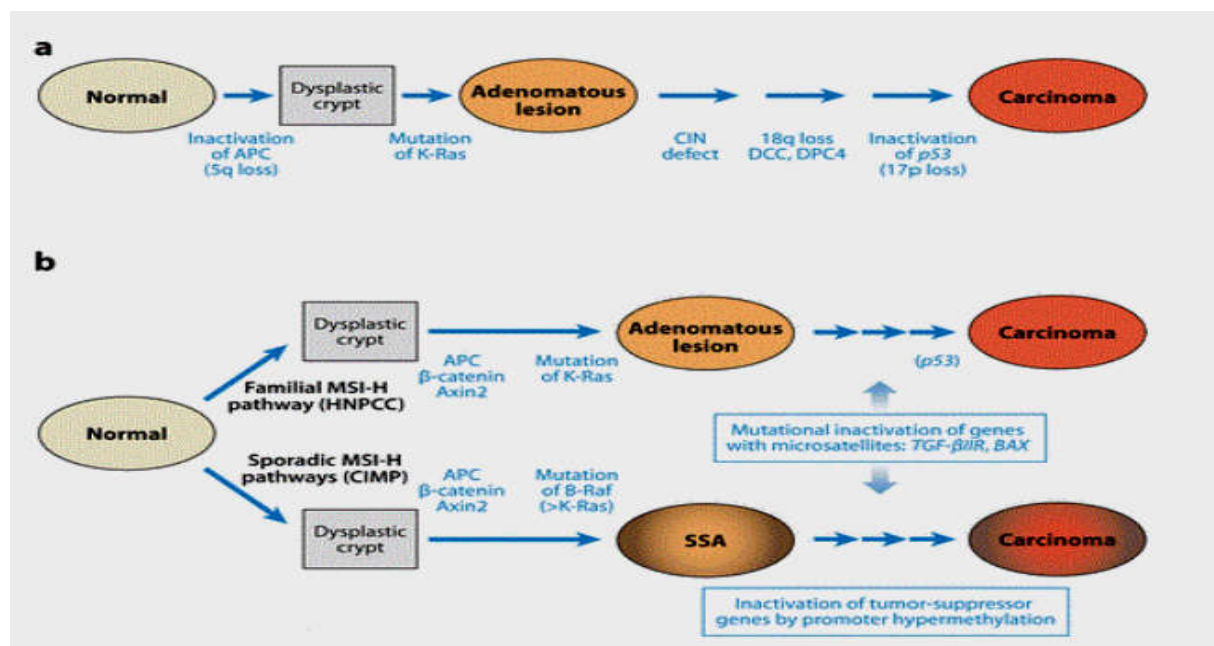
Dans la voie de l'IMS, les tumeurs sont caractérisées par une accumulation de mutations liée à un défaut dans le mécanisme de réparation des mésappariements de l'ADN (MMR) [39,40].

Ce défaut entraîne de nombreuses mutations au niveau des points de contrôle du cycle cellulaire, dans l'apoptose et dans la prolifération cellulaire. Par exemple, la mutation du gène *TGFBR2* et celle du gène pro-apoptotique *BAX* conduit à son inactivation et à l'annulation de l'activité suppressive de tumeur de son ligand TGF- $\beta$ 1 [41,42].

## 1.5.2 Altérations épigénétiques

Différentes des deux voies classiques, la voie d'altération épigénétique CIMP (CpG Island Methylator Phenotype), est aussi impliquée dans la transformation de l'épithélium colique normal en adénocarcinome. Cette voie est associée au taux croissant de l'activité enzymatique de l'ADN méthyltransférase (DNMT) (Figure 7).

Cette enzyme est responsable de l'inactivation par l'hyperméthylation des promoteurs, des gènes suppresseurs de tumeurs et des gènes impliqués dans la régulation du cycle cellulaire, tels que *CDKN2A/p16* [43,44].



**Figure 7 :** Les altérations génétiques et épigénétiques qui provoquent la promotion tumorale colique [45].

## I.6. Dépistage et diagnostic

### I.6.1. Dépistage

Le programme de dépistage du CCR démontré dans le **tableau III** est généralisé depuis 2009, s'adresse aux deux sexes de 50 à 74 ans. Ces derniers sont à risque moyen sans histoire familiale ni antécédents personnels de cancer colorectal ou d'adénome, et ne présentant pas de symptôme évocateur. Il se déroule en deux temps : la réalisation d'un test immunologique suivie d'une coloscopie en cas de positivité du test [46].

**Tableau III** : Les modalités de dépistage dépendent du niveau de risque [46].

Niveau de risque	Modalité de dépistage
Personne à risque moyen (moins de 50 ans)	Test immunologique de recherche d'un saignement occulte dans les selles tous les 2 ans
Personne à risque élevé (antécédent personnel ou familial d'adénome ou CCR)	Coloscopie tous les 3 à 5 ans
Personne à risque très élevé (PAF / syndrome de Lynch)	Coloscopie tous les 1 à 2 ans

### I.6.2. Diagnostic colique

Le diagnostic se fait par la coloscopie totale avec prélèvements biopsiques. Le cancer du côlon peut se révéler par certains symptômes pouvant conduire parfois à une consultation médicale bien que ces symptômes soient peu spécifiques. Ils comprennent [46] :

- ✚ Des troubles du transit intestinal
- ✚ Des rectorragies.
- ✚ Des douleurs abdominales évoluant par crises de 2 ou 3 jours.
- ✚ Une perte de poids inexplicée et/ou une petite fièvre persistante,

### I.6.3. Diagnostic rectal

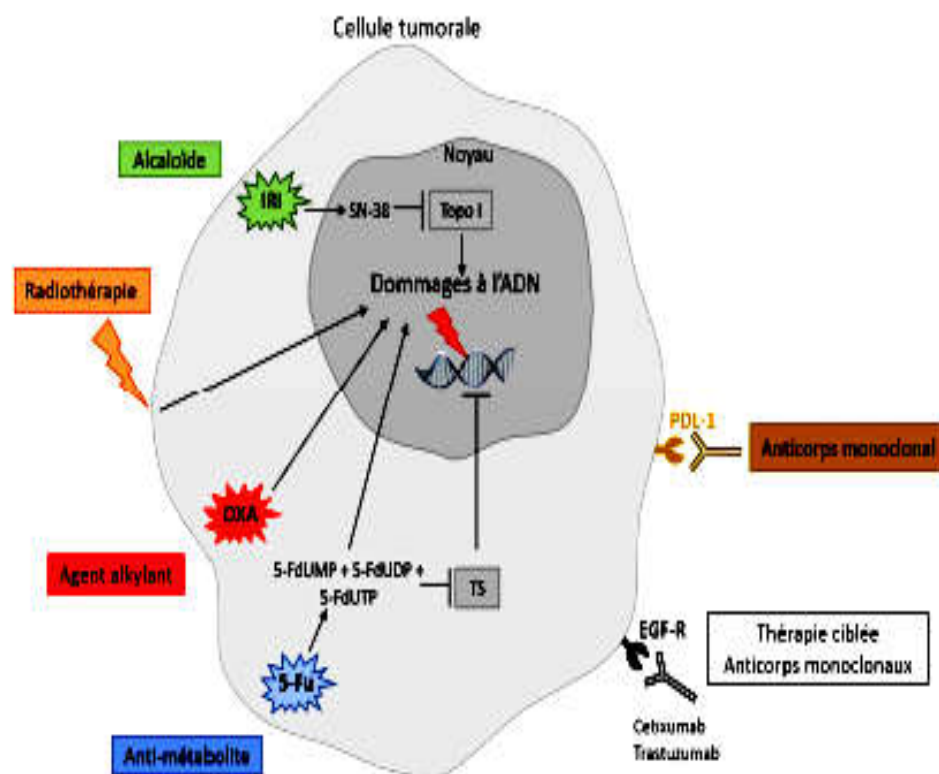
Les circonstances qui révèlent un cancer du rectum peuvent être les mêmes que celles du côlon avec plus spécifiquement des rectorragies, une constipation ou diarrhées récentes.

Pour le cancer du rectum, le diagnostic est fait par coloscopie courte avec biopsie. Cet examen doit être complété par une coloscopie totale [47,48].

## I.7.Traitement

Une bonne prise en charge thérapeutique en vue d'un effet curatif repose sur le diagnostic précoce de la tumeur. Ainsi, l'évaluation du stade d'évolution de la pathologie au moment du diagnostic est primordiale et reflète un caractère pronostic déterminant pour le patient [49].

Les différentes approches thérapeutiques adoptés pour les patients souffrant du CCR sont illustrés sur la **Figure 8**.



**Figure 8** : les traitements indiqués chez les patients atteints de CCR [49].

### I.7.1.Approches thérapeutiques conventionnelles

#### 📌 Radiothérapie

La radiothérapie est un traitement locorégional de la tumeur. En effet, cette technique de médecine nucléaire utilise des rayonnements ionisants afin d'irradier spécifiquement les cellules de la masse tumorale, tout en essayant d'épargner les tissus sains à la périphérie. Ces derniers induisent des cassures à l'ADN de manière irréversible donc la sénescence répliquative et la mort des cellules tumorales [50].

La radiothérapie peut être utilisée dans deux buts majeurs le premier est de guérir un cancer on parle alors de radiothérapie curative de plus son deuxième but est

de réduire l'évolution de la maladie et traiter les symptômes, on parle alors de radiothérapie symptomatique [51].

Une radiothérapie combinée ou avec une chimiothérapie a démontré de meilleurs bénéfices après intervention chirurgicale [51].

### **Chimiothérapie**

Tout comme la radiothérapie, la chimiothérapie va avoir comme but la diminution du volume tumoral.

Le 5-Fluorouracile (5-Fu) et la capécitabine sont couramment utilisés ainsi qu'il a été démontré que la 5-Fu est associé à de la radiothérapie avant la chirurgie améliore la survie sans progression chez des patients atteints d'un cancer colorectal localement avancé, de stade T3 et T4 [52]. Cependant, les complications possibles qui sont liées à l'injection du 5-Fu suggère que l'utilisation de la capécitabine combinée à de la radiothérapie peut être un choix favorable dans le traitement néo-adjuvant des CCR [53].

### **I.7.2.Immunothérapie**

Les immunothérapies peuvent se diviser en deux groupes distincts, selon qu'elles utilisent des molécules de l'immunité ou qu'elles vont avoir pour objectif d'activer le système immunitaire.

#### ✓ **Immunothérapie active**

L'objectif de cette technique consiste à moduler la réponse immunitaire afin de guérir le mécanisme d'échappement mis en œuvre par les cellules tumorales. On parle alors d'immunothérapie anticancéreuse, visant à éliminer la tumeur primitive mais également à éliminer les cellules tumorales ayant déjà migré et devenues potentiellement résistantes aux chimiothérapies. Cette stimulation du système immunitaire peut être aspécifique ou spécifique.

#### ○ **Immunothérapie active aspécifique**

Elle repose sur l'utilisation de composés tels que des cytokines ou des dérivés bactériens, susceptibles de stimuler le fonctionnement général du système immunitaire [54].

Une immunothérapie à base de lipide A (partie active des lipopolysaccharides), a également été utilisée dans différents types de cancers solides [55]. En effet, il a été démontré que l'association lipide A / Oxaliplatine induit une importante régression tumorale des tumeurs colorectaux chez 95% des rats. Cette

efficacité anti-tumorale est corrélée *in vivo* et *in vitro* à l'induction de la sénescence cellulaire par l'oxaliplatine et de l'apoptose induite principalement par le lipide A [56].

### ○ **Immunothérapie active spécifique**

C'est un autre type d'immunothérapie, impliquant la vaccination ou l'utilisation de thérapies ciblant les points de contrôles immunitaires [57].

L'objectif de la vaccination thérapeutique anti tumorale est d'induire la réponse immunitaire spécifique due aux lymphocytes T CD4+ et CD8+. Plusieurs stratégies s'appuyant sur le rôle fondamental des DCs (cluster de différenciation) sont aujourd'hui à l'étude. En effet, des DCs peuvent être « chargées » en antigènes tumoraux *in vitro* puis réinjectées au patients. Par exemple plusieurs stratégies s'appuient sur le rôle fondamental des cellules dendritiques [58].

### ✓ **Immunothérapie passive**

L'immunothérapie à base d'anticorps monoclonaux occupe aujourd'hui une place majeure dans la prise en charge des patients atteints de CCR. En effet, son efficacité, sa spécificité ainsi que le peu d'effets secondaires qu'elle engendre lui confère des avantages considérables sur les autres molécules utilisées pour les autres traitements [59].

Par exemple, le Cetixumab, un anticorps murin humanisé, dirigé contre l'EGF-R (EpidermalGrowth Factor Receptor) améliore significativement le taux de réponse des patients atteints de CCR traités par le FOLFOX, et plus particulièrement chez les patients porteurs du gène ras non muté [60,61]. D'autres anticorps monoclonaux comme le Trastuzumab, dirigé contre le récepteur de l'EGF, ou le Bevacizumab, dirigé contre le récepteur du VEGF (VascularEndothelialGrowth Factor), sont également utilisés dans les CCR.

L'association de ces anticorps monoclonaux aux molécules de chimiothérapies conventionnelles semble prometteuse pour la prise en charge thérapeutique des cancers mais reste encore très coûteuse [62].

### **Chapitre 2 : Implication de Galectine 3 et Mucine 1 dans le cancer colorectal**

#### **1. Introduction**

La galectine-3 (Gal-3) est une protéine pléiotrope de liaison aux glucides, impliquée dans une variété de processus biologiques normaux et pathologiques. Ses propriétés de liaison aux glucides constituent la base des interactions cellule-cellule et cellule-matrice, et de la progression du cancer. Plusieurs études ont conduit à la détermination de la Gal-3 comme étant marqueur diagnostique et pronostique pour différents types de cancer, tels que le cancer thyroïdien et colorectal [63].

Cependant, les mucines sont de volumineuses *O*-glycoprotéines composant le mucus, véritable barrière protectrice des épithéliums. La mucine membranaire MUC1 apparaît surexprimée dans de nombreux cancers comme ceux du pancréas ou encore du colon [64]. L'augmentation de son expression est corrélée à la progression tumorale et signe un mauvais pronostic [65].

#### **2. Galectine 3 : Structure, expression et fonctions**

##### **2.1 Définition**

Les galectines 3 sont synthétisées dans le cytosol mais elles peuvent être sécrétées par les cellules selon des mécanismes encore mal élucidés. Fonctionnant à la fois à l'extérieur et à l'intérieur de la cellule, elles participent à divers processus cellulaires, notamment le transport des vésicules de glycoprotéines, la chimiotaxie, la prolifération, l'épissage pré-ARN et l'apoptose [66].

En outre, elle est largement répandue et présente dans divers organes, notamment : les poumons, le cœur, l'estomac, le côlon, les surrénales, l'utérus et les ovaires. La galectine-3 est la seule galectine de type chimère de la famille des galectines [67].

De plus, son expression est régulée par le statut de méthylation du promoteur de *LGALS3* et des éléments tels que : motifs CRE, région similaire au facteur nucléaire kappa B (NF- $\kappa$ B), régions GC situées dans le promoteur de la galectine-3 [68].

### 2.2 Aspects structurels

La galectine 3 est constituée de 251 résidus d'acides aminés de masse moléculaire relative de 29 à 35 kDa et a été identifiée pour la première fois dans des macrophages péritonéaux murins.

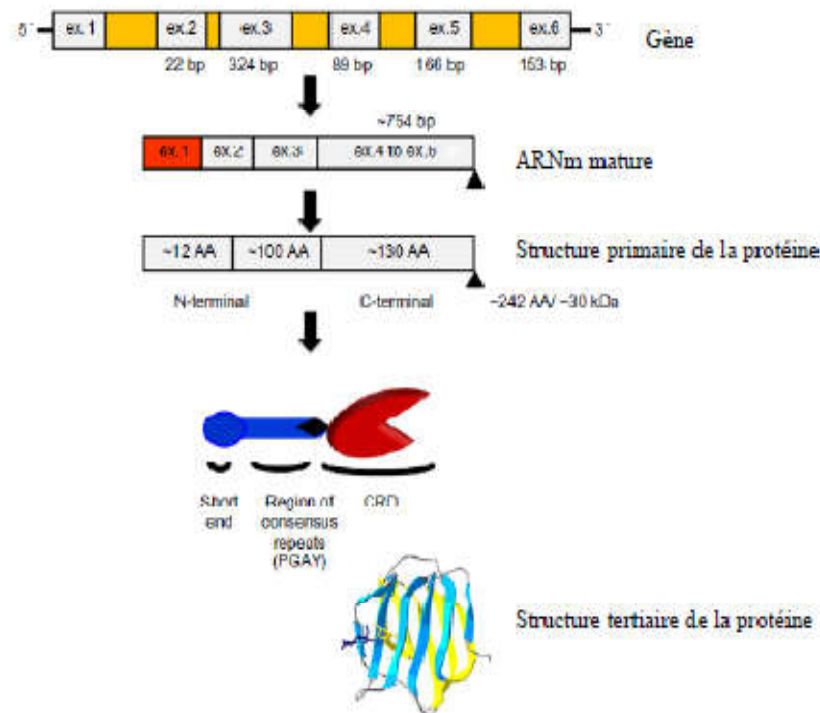
Comme illustré sur la **figure 9**, elle contient trois principaux domaines à savoir :

- ✓ Un domaine court N-terminal constituant une région unique de 12 acides aminés et contenant un site de phosphorylation de la sérine 6 pour contrôler sa localisation nucléaire et abolir son affinité pour le ligand.
- ✓ Une séquence de 100 acides aminés similaire au collagène, contenant des répétitions en tandem proline, glycine et tyrosine et contenant un domaine fissile de la collagénase H.
- ✓ Un autre domaine CRD (CRD; domaine de reconnaissance des hydrates de carbone), C-terminal sphérique contenant un motif Asp-Trp-Gly-Arg (NWGR), similaire à ceux décrits dans la protéine anti-apoptotique Bcl-2 [69].

En outre, elle peut former des dimères ou des pentamères dans des circonstances spécifiques, lorsque la concentration de galectine-3 est élevée ou lorsque des ligands sont présents.

Mise à part le plan structural, la galectine-3 monomérique subit des modifications physico-chimiques qui augmentent la gamme de sa fonctionnalité biologique, en particulier son activité extracellulaire [70].

Pour ce qui est de son expression, elle est généralement régulée au niveau transcriptionnel par différents facteurs. Ainsi, la région promotrice du gène codant la Gal-3 comporte divers éléments régulateurs tels que : cinq sites de liaison pour le facteur de transcription sp1, deux sites pour le facteur NF-Kb, et une séquence consensus hélice-boucle- hélice [71].



**Figure 9:** Présentation de la correspondance entre les exons et les domaines protéiques [72].

### 2.3. Sites d'expression tissulaire et cellulaire

Gal-3 est distribué dans tout le corps [73]. Son expression a été détectée dans de nombreux types de cellules, notamment, les petites cellules épithéliales intestinales, les épithéliums coliques, les épithéliums cornéens et conjonctivaux, l'épithélium olfactif, les cellules épithéliales de rein, poumon, thymus, sein et prostate. Elle a, également, été détectée dans les cellules canaliculaires des glandes salivaires, du pancréas, des reins, et des yeux, les voies biliaires intra-hépatiques, les fibroblastes, les chondrocytes, les ostéoblastes, les ostéoclastes, les kératinocytes, les cellules de Schwann et la muqueuse gastrique et les cellules endothéliales de divers tissus et organes [74].

En outre, il existe de nombreuses données sur l'expression de Gal-3 dans les cellules impliquées dans la réponse immunitaire, telles que : les neutrophiles, les éosinophiles, les basophiles et les mastocytes, les cellules de Langerhans, les cellules dendritiques, ainsi que les monocytes et les macrophages de différents tissus. Dans certains autres types cellulaires, comme : les lymphocytes, Gal-3 n'est pas normalement exprimé, mais, son expression peut être induite par divers stimuli. De plus, Gal-3 présente une expression pathologique dans de nombreuses tumeurs, comme celles affectant le pancréas, le foie, la



muqueuse colique, le sein, le poumon, la prostate, la tête et le cou, le système nerveux et la thyroïde [75].

### 2.4 Implications physiopathologiques

Les caractéristiques structurales, via sa liaison aux protéines extracellulaire et intracellulaire permettent à la Gal-3 de participer à plusieurs fonctions cellulaires [76].

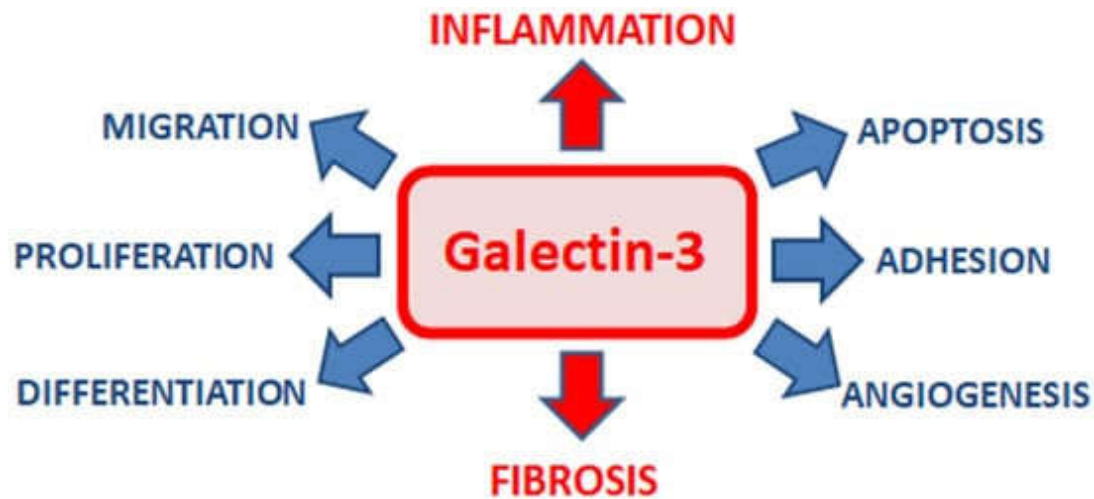
La Gal-3 est importante dans de nombreuses activités biologiques au sein de divers organes, y compris, la prolifération cellulaire, la régulation apoptotique, l'inflammation, la fibrose et la défense de l'hôte [77].

Une autre fonction inévitable de la Gal-3 est l'absorption et l'élimination des produits finaux de la glycation avancée (AGE). Enfin, la Gal-3 joue un rôle vital dans la modulation de la réponse immunitaire/inflammatoire, comme en témoignent les nombreux travaux scientifiques montrant une activité régulatrice, à la fois, sur l'immunité innée et adaptative [78].

Dans l'espace extracellulaire, la Gal-3 se lie aux composés de la matrice extracellulaire (laminine, hensine, élastine, collagène IV et intégrine) pour moduler l'adhésion cellulaire, ou interagit avec les récepteurs membranaires plasmiques, en se liant à des groupements glucidiques, de manière autocrine ou paracrine, pour former des réseaux membranaires et déclencher des événements intracellulaires. Dans l'espace intracellulaire, Gal-3 se trouve à la fois dans le cytoplasme et le noyau.

Dans le cytoplasme, elle assure un rôle anti-apoptotique (Bcl-2), et module les voies de signalisation (Akt et Erk 1/2) pour favoriser ou inhiber la croissance, la prolifération et la différenciation cellulaire. Dans le noyau, la Gal-3 est crucial pour l'épissage pré-ARNm notamment dans l'incorporation d'épisomes et également contribue au déclenchement ou répression de la transcription [79].

Cette protéine participe à divers processus physiopathologiques, notamment l'apoptose, l'adhésion, l'angiogenèse, la migration cellulaire, la prolifération, la différenciation et l'inflammation comme il est clairement illustré dans la **figure 10** [80].



**Figure 10:** Implications physiopathologiques de la galectine-3.

### ✚ Survie et apoptose

La Gal-3 soutient la survie des cellules par divers mécanismes. Elle s'associe à BCL2, via, un motif NWGR commun aux deux protéines pour aider la molécule anti-apoptotique à soutenir l'intégrité mitochondriale en cas de stress [81].

### ✚ Prolifération et cycle cellulaire

La Gal-3 intervient dans la prolifération cellulaire par la voie de signalisation WNT. Elle peut se lier à la B-caténine et l'auxine et participe à sa stabilité. Ainsi, elle favorise la suppression de la protéine kinase B (AKT) et de la GSK3B.

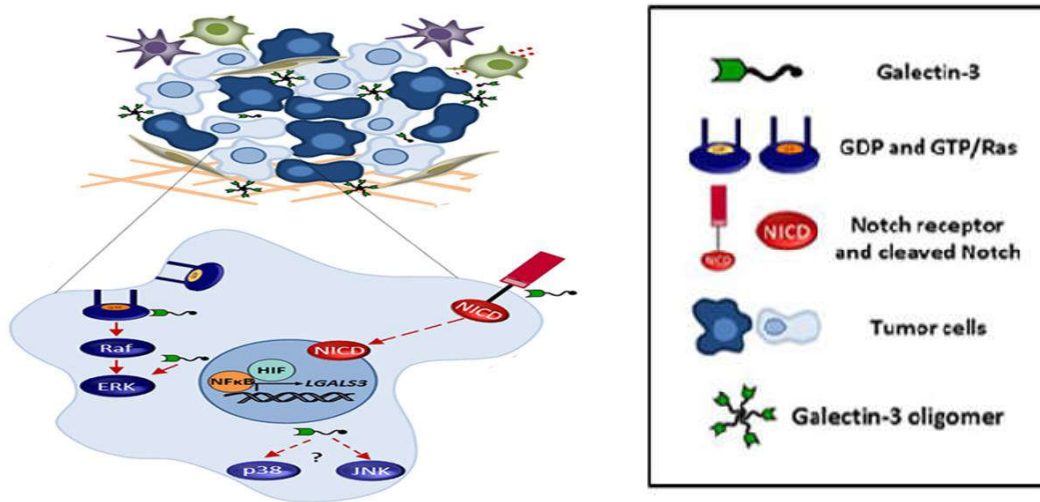
Elle est également essentielle pour la signalisation RAS et prend donc en charge les cascades des protéines kinases activées par les mitogènes MAPK et AKT [81].

La Gal-3 joue un rôle dans la régulation du cycle cellulaire à différents points (Arrêt en G1 ou G2/M). Elle stimule l'expression des protéines p21 et p27 et diminue celle des cyclines A et E [82]. A l'inverse, elle active le promoteur de la cycline D1 et stabilise le complexe cycline D1/CDK4 (Cyclin-dependent kinase 4), favorisant ainsi, la phosphorylation de la protéine du rétinoblastome [83-84].

### ✚ Signalisation tumorale

La Gal-3 présente des profils d'expression altérés dans les tissus malins, elle est impliquée dans la progression tumorale.

Une fois altérée, la Gal-3, assurant un rôle clé dans différentes voies de signalisation cellulaire, va affecter les voies Ras/Raf/MEK/ERK et Notch, modulant la survie, la prolifération et la migration cellulaire. En outre, NFκB régule, positivement, l'expression de Gal-3, contribuant ainsi, à sa fonction dans le microenvironnement tumoral, comme l'indique la (figure 11) ; [85].



**Figure 11:**Rôle de Gal-3 dans la régulation des voies de signalisation Cellulaires.

### 3. Mucine 1 : structure, fonctions et rôle dans la tumorigénèse

#### 3.1 Définition

Les mucines sont de volumineuses *O*-glycoprotéines composant le mucus, véritable barrière protectrice des épithéliums. En formant un gel très hydraté, composé à 95% d'eau, elles piègent les toxines et les pathogènes présents dans la lumière épithéliale [86].

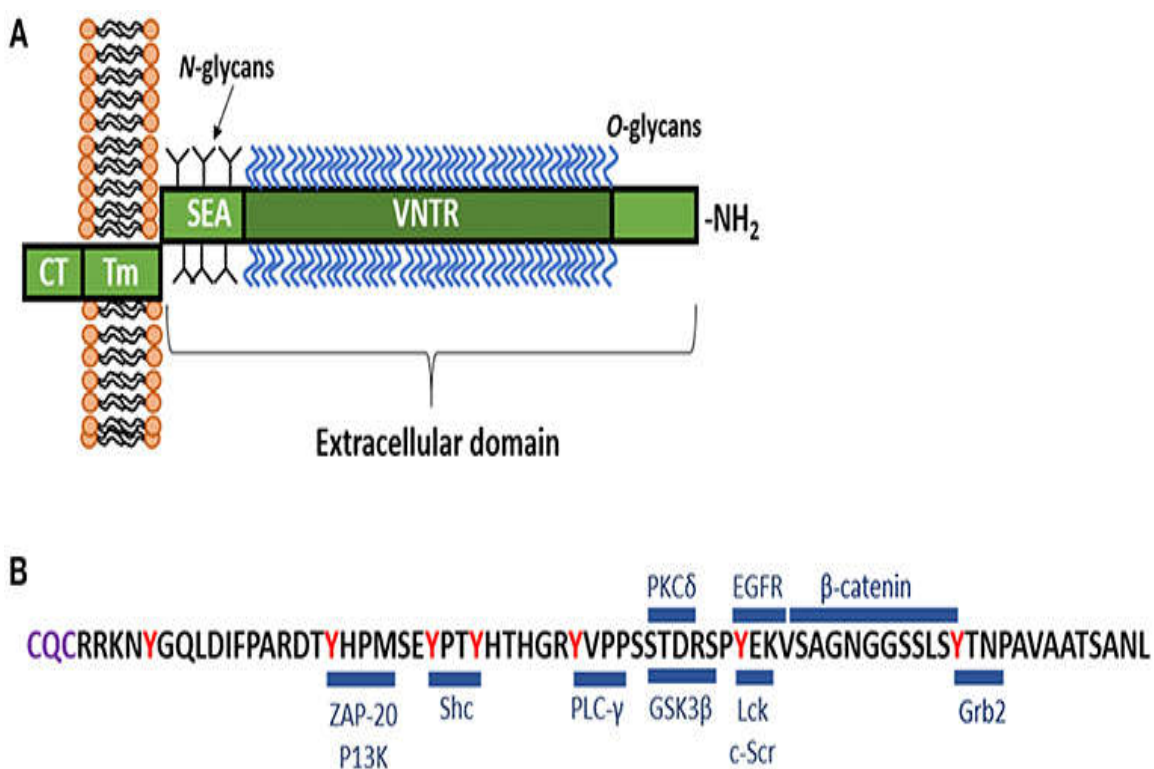
#### 3.2 Structure et fonction

MUC1, impliqué dans de nombreuses pathologies telles que : l'asthme ou encore le cancer est une grande protéine transmembranaire fortement glycosylée exprimée sur la membrane apicale de toutes les cellules épithéliales normales, et participe à la protection des épithéliums .Sa conformation rigide et étirée (jusqu'à 500 nm pour MUC1 ) et contribuerait à maintenir ouvertes les lumières canalaire et serait impliquée dans la déstabilisation des interactions cellule-cellule et cellule-matrice extra-cellulaire (fonction d'anti-adhérence), favorisant ainsi la mobilité cellulaire et la progression tumorale [87,88].

Sur le plan structural, MUC1 se compose d'un grand domaine extracellulaire, une région transmembranaire et un court domaine cytoplasmique. Le domaine extracellulaire MUC1 contient différents nombres de répétitions en tandem (VNTR)

qui sont fortement glycosylé (jusqu'à 50 % du poids moléculaire de MUC1) avec des glycanes complexes de type mucine O-liés. La queue cytoplasmique abrite plusieurs sites de phosphorylation et interagit avec diverses protéines de signalisation intracellulaires comme l'indique la **figure 12 [89]**. Dans les cellules épithéliales cancéreuses, elle est surexprimée jusqu'à 10 fois et perd sa polarisation apicale, s'exprimant sur toute la surface cellulaire.

Sur le plan structural, la mucine membranaire MUC1, est impliquée dans le maintien et l'homéostasie de nombreuses fonctions physiologiques. Grâce à son importante glycosylation extracellulaire, elle assure l'hydratation et la lubrification des cellules épithéliales. Elle constitue également une véritable barrière empêchant les agressions de pathogènes [89].



**Figure 12:** Représentation schématique de MUC1 [89].

### 3.3 MUC1 et signalisation cellulaire

#### a) MUC1 et voie Wnt/β-caténine

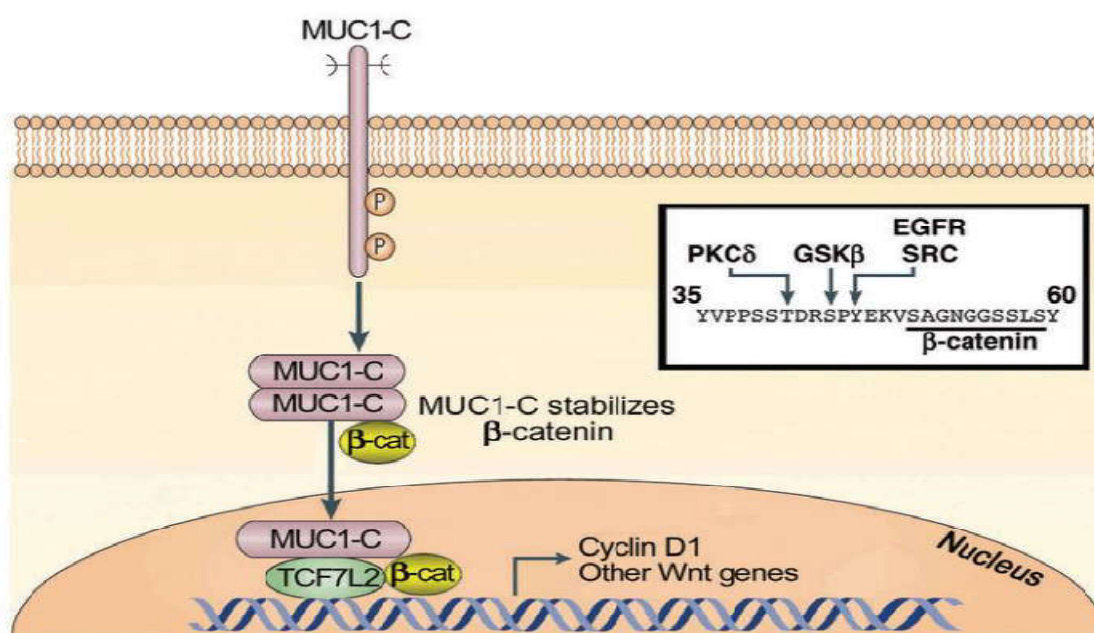
L'association de MUC1 avec des éléments de la voie Wnt est d'ailleurs associée au potentiel carcinogénétique et métastatique de nombreux cancers [90].

## ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE : CHAPITRE II

La voie Wnt régule le développement normal et le devenir des cellules de l'axe cryptovillositaire sain. Dans les cellules tumorales, elle est impliquée dans les phénomènes de prolifération, d'adhésion, de différenciation et de motilité cellulaire

Comme démontré sur la **figure 13**, Wnt est une glycoprotéine sécrétée qui dissocie le complexe GSK-3 $\beta$ /APC (*Adenomatous Polyposis Coli*)/Axine et empêche la dégradation de la  $\beta$ -caténine par le protéasome. La  $\beta$ -caténine, en interagissant avec les facteurs de transcription LEF1 (*Lymphoid Enhancer Factor 1*) et TCF (*T-cell Factor*), active la transcription des gènes cibles de la voie Wnt comme c-Myc ou encore la cycline D1. Il a été démontré donc que l'expression de MUC1 était associée à une augmentation de l'expression de la  $\beta$ -caténine à la fois dans le cytoplasme et dans le noyau [90]. La forme phosphorylée de MUC1 peut interagir avec la  $\beta$ -caténine. Le complexe ainsi formé est transloqué au noyau où, en interagissant avec de nombreux facteurs de transcription afin d'activer la transcription de gènes cibles [90].

En ce qui concerne sa contribution à la carcinogenèse et son potentiel invasif, il a été prouvé par plusieurs travaux portant sur le cancer du sein que les cellules tumorales mammaires MDA-MB-231 transfectées avec l'ADNc codant pour une forme de MUC1 n'ayant pas de motif de liaison à la  $\beta$ -caténine ou à la GSK-3 $\beta$  ne modifient pas leurs phénotypes invasifs, suggérant ainsi que cette association augmenterait les propriétés d'invasion des cellules tumorales [91].



**Figure 13:** MUC1 et voie Wnt/ $\beta$ -caténine/TCF/LEF [91].

Pour ce qui est des approches ciblées, il a été mis au point que le peptide MIP (*MUC1 Inhibitory Protein*), pénétrant la membrane plasmique des cellules, est capable d'empêcher à la fois l'interaction de MUC1 avec la  $\beta$ -caténine et l'EGFR (epithelial growth factor receptor), pouvant ainsi provoquer une diminution de la croissance tumorale [92].

### **b) MUC1 et régulation de la voie NF- $\kappa$ B**

Parmi les rôles clés attribués au MUC1, est son rôle favorisant de la translocation nucléaire de la sous-unité p65 de NF- $\kappa$ B et la transcription de ses gènes cibles. Dans les cellules tumorales, MUC1 interagit constitutivement avec les kinases à l'origine de la dégradation des inhibiteurs de NF- $\kappa$ B [91].

### **c) MUC1 et voie p53**

MUC1 interagit avec le suppresseur de tumeurs p53 qui présente des mutations dans de nombreux cancers et contribue à la régulation de l'activation transcriptionnelle de p21 en réponse aux dommages à l'ADN. En effet, p21 est un acteur clé dans la progression du cycle cellulaire et l'inhibition de l'apoptose qui inhibe également la transcription du gène pro-apoptotique *Bax*. Associé à p53, MUC1 occupe les promoteurs de *p21* et de *Bax*.

Ainsi, MUC1 servirait de co-régulateur transcriptionnel en modulant l'affinité de différents régulateurs transcriptionnels pour leurs éléments de réponse au niveau du promoteur [92].

### **d) MUC1 et voie des MAP Kinases**

C'est *via* les récepteurs de la famille ErbB que MUC1 est engagée dans la voie de signalisation des MAP Kinases. En effet, elle potentialise leur effet en augmentant l'activation d'Erk1 et Erk2 (*Extracellular signal-related kinase*) dans les glandes mammaires murines [93].

MUC1 interagit également avec le complexe Grb2-Sos et servirait de protéine adaptatrice permettant le recrutement de Grb2 au niveau des sites proches d'ErbB1 par la phosphorylation de MUC1.

Des expériences de délétion de la queue cytoplasmique de MUC1 ou l'utilisation de clones cellulaires mutés au niveau de ses tyrosines, empêchant ainsi la phosphorylation de MUC1, ont montré que l'activation des voies Erk1/2 était abolie, mettant en évidence le rôle clé joué par MUC1 dans la voie des MAPK, notamment dans les modèles tumoraux mammaire et pancréatique.

### **4. Contribution de Gal3 et Muc 1 au déclenchement et à la progression du cancer colorectal**

#### **4.1. Rôle de la Galectine 3 dans le cancer colorectal**

La Gal-3 est engagée dans une variété de processus biologiques normaux et pathologiques. Ses propriétés de liaison aux glucides constituent la base des interactions cellule-cellule et cellule-matrice, et de la progression du cancer.

Cette protéine est connue pour être exprimée dans divers néoplasmes, y compris, les carcinomes coliques. Elle est répandue dans différents types de cellules et de tissus, trouvés au niveau intracellulaire dans le noyau et le cytoplasme ou sécrétée via une voie non classique à l'extérieur de la cellule, se trouvant ainsi, à la surface cellulaire ou dans l'espace extracellulaire.

Elle participe à la maturation de l'ARN et la régulation du cycle cellulaire par l'activation de facteurs de transcription lorsqu'elle est transportée vers le noyau. Elle affecte de nombreux processus biologiques et semble être engagée dans différentes conditions physiologiques et physiopathologiques.

Des études ont prouvé que Gal-3 est un marqueur diagnostique et pronostique pour différents types de cancer, particulièrement le cancer thyroïdien et colorectal. Bien que le système immunitaire reconnaisse divers antigènes du cancer, les tumeurs peuvent échapper à la réponse immunitaire et, donc, croître et progresser.

#### **4.2. Rôle de la Mucine 1 dans le cancer colorectal**

##### **4.2.1. Modifications de l'expression de MUC1**

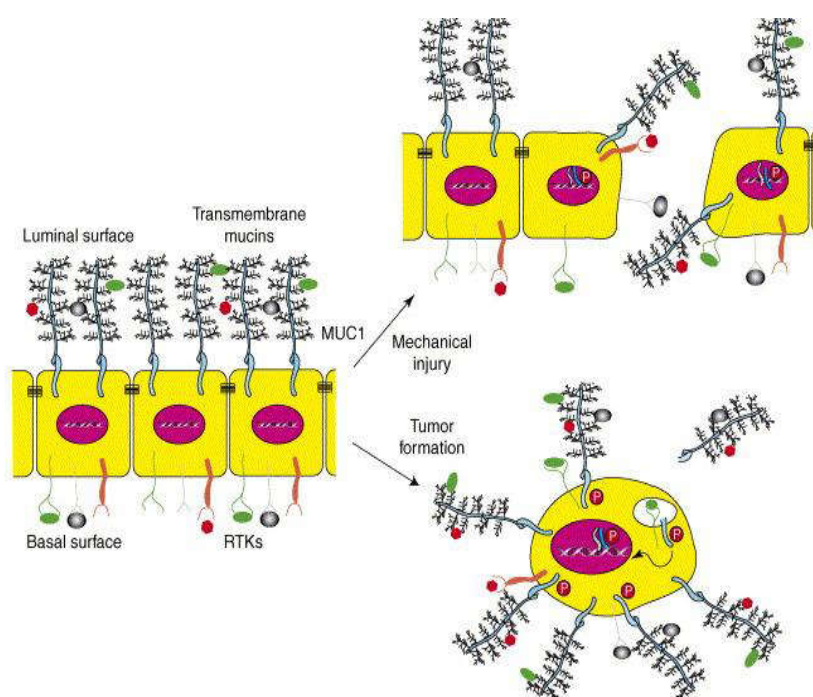
La MUC1 apparaît surexprimée dans de nombreux cancers comme ceux du pancréas ou du colon. Son surexpression est corrélée à la progression tumorale et signe un mauvais pronostic [94].

Cette surexpression de MUC1 est due à une instabilité chromosomique au niveau de la région q21-24 du chromosome 1, mais également à l'existence d'une boucle d'auto-induction de la transcription de *MUC1* impliquant les facteurs de transcription STAT1 et STAT3, activés par les cytokines sécrétées par les cellules effectrices lors de la réponse inflammatoire dans les cellules cancéreuses du colon [95].

### 4.2.2. MUC1 et encombrement stérique

MUC1 est également décrit comme un oncogène capable de déstabiliser les interactions cellule/cellule et cellule/matrice extracellulaire en conditions pathologiques.

Dans les cellules tumorales, MUC1 est surexprimée et délocalisée de manière circumférentielle empêchant ainsi les interactions cellule/cellule et cellule/matrice extracellulaire, comme illustré sur la **figure 14**. Cet encombrement stérique crée par la présence de MUC1 sur tout le pourtour de la cellule ainsi que par une répulsion de charges est une des phases précoces du phénomène de diffusion métastatique [96].



**Figure 14:**Rôle anti-adhérent de MUC1 dans le cancer [97].

MUC1 est exprimée au pôle apical des cellules épithéliales polarisées, permettant les interactions cellule/cellule et cellule/matrice extracellulaire (*à gauche*). Les cellules tumorales surexpriment MUC1 qui se trouve également délocalisé de manière circumférentielle, empêchant les interactions cellule/cellule et cellule/matrice extracellulaire par un phénomène d'encombrement stérique [98].

### 4.3 Gal-3, MUC1 et progression métastatique

L'établissement de métastases est une étape finale dans la progression des tumeurs malignes. Des changements dans l'adhésion cellulaire, la migration accrue, l'invasion, la survie des cellules cancéreuses dans la circulation sanguine/lymphatique et l'angiogenèse sont nécessaires pour la réussite de l'évolution de la métastase.



## ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE : CHAPITRE II

---

Dans la surface cellulaire, Gal-3 agit comme une molécule d'adhésion dans les interactions cellule-cellule homotypique et cellule-matrice hétérotypique. On pense que la Gal-3 associée aux cellules tumorales est impliquée dans la formation d'emboles tumorales et l'attachement des cellules tumorales à l'endothélium pendant la métastase.

En outre, l'interaction entre la Gal-3 circulante libre et la protéine mucine transmembranaire MUC1 favorise, également, la formation d'embolie et la survie des cellules tumorales disséminées dans la circulation. Une augmentation de l'agrégation des cellules tumorales, résultant de l'interaction accrue entre la Gal-3 circulante et la MUC1 associée à la tumeur chez les patients cancéreux, fournit un avantage de survie aux cellules tumorales disséminées dans la circulation.

La Gal-3 peut, également, affecter les métastases tumorales, en exerçant son effet sur la motilité des cellules cancéreuses et l'invasion tumorale. Cela en affaiblissant les interactions entre les molécules d'adhésion cellulaire présentes à la surface des cellules malignes et les protéines N-glycosylées au sein de la matrice extracellulaire, y compris la laminine et la fibronectine, favorisant ainsi les processus d'intravasation et d'extravasation.

D'autre part, Gal-3 exprimée dans la tumeur s'associe au ligand N-glycosylé CD146 exprimé sur les cellules endothéliales et induit la libération de cytokines pro-inflammatoires, favorisant les métastases [99-100]. L'activité des sites métastatiques Gal-3 est régulée par le profil glycane des cellules tumorales. Les cellules tumorales avec une faible expression de l' $\alpha$ -N-acétylgalactosaminidase-2,6-sialyltransférase 2 montrent une liaison améliorée de Gal-3 soluble, ce qui favorise les agrégations homotypique et hétérotypique, facilitant la formation d'emboles et les métastases [101].

### **Objectifs**

La visée fondamentale de notre projet de fin d'études est de:

- Estimer la fréquence du cancer colorectal au sein du service d'anatomie pathologique du CHU Isaad Hassani de Beni Messous.
- Faire ressortir certaines particularités épidémiologiques, cliniques et anatomopathologiques de ce type de cancers.
- Etudier le profil d'expression de GAL 3 et MUC 1 dans le cancer colorectal.

### **I.1.Matériel**

#### **I.1.1.Matériel biologique**

Cinq blocs de paraffine issus de pièces opératoires de patients atteints du cancer colorectal, réalisés au sein du laboratoire d'anatomie pathologique du centre Hospitalo-universitaire Isaad Hassani de Beni Messous, ont fait l'objet de la présente étude.

Mis à part l'examen histologique et afin de confirmer le diagnostic du cancer colorectal, les cas inclus dans la présente étude ont bénéficié d'une analyse immunohistochimique au moyen des anticorps monoclonaux anti-MUC1 et anti-GAL3.

#### **I.1.2.Matériel non biologique**

Une variété d'appareillages et de réactifs étaient indispensables à la réalisation de notre étude. L'ensemble du matériel est clairement démontré dans **l'Annexe I**.

### **I.2.Méthodes**

L'étude qu'on a menée sur le cancer colorectal comportait deux principaux volets en l'occurrence, une enquête épidémiologique rétrospective et étude anatomopathologique.

#### **I.2.1.Enquête rétrospective**

Il s'agit d'une étude rétrospective ciblant les patients atteints de cancer colorectal, recensés dans le laboratoire d'anatomie pathologique du Centre Hospitalo-universitaire Isaad Hassani de Beni Messous, durant la période comprise entre le 1<sup>er</sup> Janvier 2019 et le 10 Avril 2022. L'étude menée a porté sur 188 cas atteints de cancer colorectal, dont l'âge varie de 30 à 86 ans.

Les patients inclus dans cette étude, sont ceux dont le diagnostic de cancer colorectal s'est confirmé par les techniques immunohistochimiques. Toutefois, ceux diagnostiqués en dehors de notre période d'étude ou dont les dossiers étaient inexploitable, ont été exclus.

## PARTIE PRATIQUE : MATERIEL ET METHODES

---

Les données concernant l'âge et le sexe des patients ainsi que l'aspect macroscopique, histologique et la classification de la tumeur ainsi que d'autres paramètres jugés utiles pour cette étude, ont été retenus à la suite de l'examen des dossiers médicaux. L'analyse des données, les calculs ont été réalisés par le logiciel Excel 2007.

### **I.2.2. Etude anatomopathologique**

L'étude anatomopathologique a été menée au sein du laboratoire d'anatomopathologie du CHU de Beni Messous, durant la période allant du 24 avril au 29 Mai 2022. L'étude prospective a été faite sur 5 cas via une analyse histologique et immunohistochimique par des anticorps monoclonaux à savoir, anti-GAL3 et anti-MUC1 en vue de confirmer le diagnostic du cancer colorectal. Les illustrations graphiques ont été réalisées par le logiciel Leica EC3

Le protocole adopté pour l'étude anatomopathologique, s'est opéré en plusieurs étapes.

#### **I.2.2.1. Prélèvements tissulaires**

Il s'agit principalement de prélèvements d'hémicolectomie et résection coliques.

#### **I.2.2.2. Examen histologique**

Avant d'effectuer l'examen histologique qui représente l'étape la plus importante de l'analyse anatomopathologique les prélèvements reçus au service d'anatomie cytologie pathologiques ont été enregistrés au niveau de la réception sous un numéro de référence. Dans notre étude, cet examen déterminant comportait plusieurs phases permettant l'affirmation ou non du diagnostic de malignité à travers les étapes suivantes :

##### **A) Fixation**

La fixation représentait une étape primordiale et essentielle dans la détermination de la qualité de tout le processus du diagnostic et la rapidité du résultat. Elle a permis de garder les structures tissulaires à étudier dans un état aussi proche que possible de l'état vivant.

## PARTIE PRATIQUE : MATERIEL ET METHODES

---

La durée de fixation était de 24h à 72h dans un liquide fixateur, le formaldéhyde (HCHO à 10 %, pH = 4). Au cours de cette phase, il a fallu utiliser une quantité suffisante de fixateur afin qu'il soit 10 fois plus volumineux que la pièce. En raison de ses bonnes qualités de fixation et de conservation.

### **B) Etude macroscopique**

La macroscopie consistait en un examen à l'œil nu, des différentes altérations tissulaires. Ce type d'analyse a été pratiqué par le médecin pathologiste. L'examen macroscopique s'est effectué en se basant sur plusieurs aspects à savoir :

- Orientation de la pièce de colectomie, qui dépend des repères (fils, clips...) mis par le chirurgien sur le prélèvement.
- Mesure dans les plans de l'espace de la taille de la pièce transmise (largeur, longueur, diamètre).
- Analyse macroscopique de la pièce opératoire visuelle et au toucher (palpation), la description de son état, de sa consistance, sa couleur, ses remaniements nécrotiques et hémorragiques, et la recherche des ganglions en précisant le nombre.
- Encrage de la surface profonde de la pièce opératoire à l'encre de chine.
- Découpage des prélèvements en tranches fines de 2 à 3 mm sur 1 à 2 cm et les placer dans des cassettes spéciales en plastique bien immatriculées selon le numéro d'examen, puis les plonger dans un bac à formol à 10 %.

### **C) Déshydratation**

Cette étape a été effectuée automatiquement à l'aide d'un appareil de traitement des tissus comportant 12 bains d'alcool (Xylène + Ethanol) en cercle. Cet appareil a permis le transfert automatique de panier d'un bain à un autre, avec une agitation constante. Durant cette phase, l'appareil a été réglé sur un cycle d'environ 24 heures.

### **D) Enrobage**

L'enrobage était l'étape qui a suivi la déshydratation, et a consisté à mettre les différents prélèvements au sein des moules et les remplir de paraffine. Les prélèvements ont été par la suite refroidis sur la plaque froide puis les mettre dans le congélateur.

## PARTIE PRATIQUE : MATERIEL ET METHODES

---

### **E) Réalisation de coupes et étalement**

Les coupes ont été réalisées au moyen d'un microtome, qui a permis la réalisation des fins rubans tissulaires (2 à 3 $\mu$ m). Ces derniers ont été mis dans un bain marie (40°C- 42°C) pour éviter leurs plissements, puis les étaler sur des lames codées. Les lames ont été ensuite placées dans un portoir et mises dans une étuve à 92 °C pendant 30 minutes.

### **F) Coloration**

La coloration était primordiale dans l'analyse histopathologique. Dans notre étude, la coloration utilisée était celle de l'hématoxyline éosine (HE).

Cette coloration topographique a permis l'identification des caractères histologiques des tissus en associant une coloration nucléaire par l'hématoxyline de Harris à une coloration cytoplasmique par l'éosine. L'hématoxyline de Harris, un colorant basique a coloré le noyau en bleu tandis que l'éosine de nature acide a coloré le cytoplasme en rose. La phase de coloration s'est généralement déroulée en 1 heure et 20 minutes.

Après la coloration, une réhydratation et déshydratation a été faite (les lames devaient rester dans le xylène pour au moins 30 min, avant le montage).

### **G) Montage**

Cette phase consistait à recouvrir l'étalement histologique avec une lamelle en utilisant un milieu de montage permanent qui est la résine synthétique, appelée l'Eukitt® (colle biologique). Des petites pressions ont été ensuite exercées sur la lamelle permettant ainsi, l'élimination des bulles d'air pouvant gêner l'observation microscopique. Enfin les lames ont été séchées à l'air libre.

En effet, le montage a permis d'une part, l'obtention d'un degré de transparence élevé de point de vue optique, et d'autre part, la protection de l'étalement qui ne supporte pas le dessèchement.

### **H) Lecture microscopique**

La lecture de l'ensemble des lames a été faite à l'aide d'un microscope optique sur plusieurs grossissements (X 40), (X 100) et (X 400) par le médecin

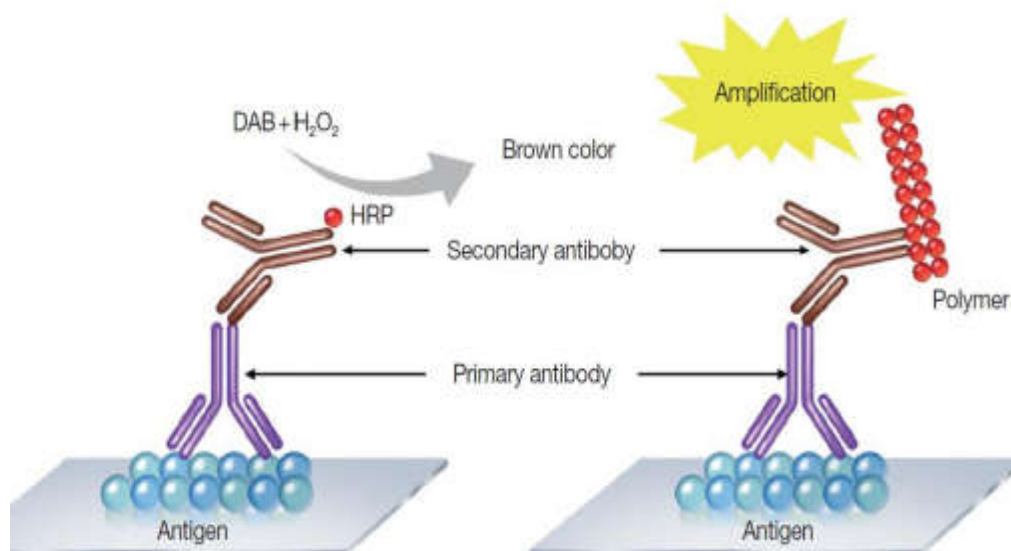
pathologiste. Grâce à cette étape, le caractère tumoral des différentes lésions a été bien affirmé aboutissant ainsi à l'identification de la tumeur, en s'appuyant sur son phénotype cellulaire et tissulaire.

Cette étape nous a permis donc, de juger si seule l'interprétation des coupes colorées par l'HE était suffisante pour le diagnostic de malignité ou bien d'autres techniques complémentaires histochimiques et /ou immunohistochimiques, étaient indispensables.

### II.2.3. Etude immunohistochimique

L'immunohistochimie est une méthode visant principalement à mettre en évidence l'ensemble des protéines cellulaires (qu'elles soient cytoplasmiques, nucléaires ou membranaires) contribuant au déclenchement de plusieurs pathologies notamment les cancers comme les protéines GAL3 et MUC1 dans le cas du cancer colorectal [102].

Cette technique permet donc la localisation et la quantification des protéines dans les cellules sans les détruire par la détection d'antigènes grâce à un anticorps primaire à épitope spécifique à l'antigène qui est capturé par un anticorps secondaire couplé à une enzyme. Le complexe anticorps/enzyme réagit avec un substrat pour donner une réaction fluorescente facile à visualiser au microscope optique à fond clair (**figure 15**) ; [102]



**Figure 15** : Illustration de la technique d'immunohistochimie indirecte [102].

Dans notre étude, la technique d'IHC s'est déroulée en plusieurs étapes

## PARTIE PRATIQUE : MATERIEL ET METHODES

---

décrites ci-dessous :

### **A) Préparation des coupes**

Les blocs de paraffine déjà préparés et archivés dans le laboratoire, ont été par la suite récupérés afin de réaliser des coupes de 1 à 2  $\mu\text{m}$ . Par la suite, une fixation a été effectuée sur des lames. Ces dernières ont été séchées, déparaffinées et réhydratées par l'alcool 100%, 90%, 80% puis rincées à l'eau distillée.

### **B) Démasquage thermique**

Cette étape visait à démasquer le site antigénique (épitope) à l'aide d'un tampon de démasquage TRS (X50) (Target Retrieval Solution). Les échantillons émergés dans cette solution ont été exposés à une température de 96 -98°C générée par un bain-marie, pendant une durée de 40 minutes.

### **C) Refroidissement et lavage**

Les lames devaient être doucement refroidies pendant 20 minutes à l'air ambiant afin d'éviter le choc thermique. Ensuite, les lames ont été lavées avec de l'eau distillée puis avec un tampon TBS-T (tris-buffer saline solution containing tween X20 concentré, pH 7, 6).

Après avoir versé les dernières gouttelettes sur les lames, on a utilisé un stylo « Dako Pen » pour tracer un cercle hydrofuge autour des coupes de tissus. Ce cercle fournit une barrière aux liquides tels que, les solutions d'anticorps appliquées aux coupes, aidant ainsi à obtenir des résultats des colorations immunohistochimiques plus uniformes et permet de réduire la quantité de réactifs.

Enfin, les lames ont été placées dans un milieu humide noir pendant une nuit.

### **D) Blocage des peroxydases endogènes**

Cette étape a été entamée par l'ajout de l'  $\text{H}_2\text{O}_2$  (peroxyde d'hydrogène) sur la zone délimitée et l'incubation pendant une période de 5 minutes. Ensuite, un lavage a été effectué via passage par trois bains de TBS-T. Cette étape avait pour but de bloquer l'effet du peroxyde d'hydrogène sur la réaction immunohistochimique.

### **E) Incubation avec l'anticorps primaire**

Une incubation avec l'anticorps primaire a été faite par Anti-GAL3 et Anti-MUC 1 a été effectuée pendant 40 minutes suivie d'un lavage dans 3 bains de TBS-T.

## PARTIE PRATIQUE : MATERIEL ET METHODES

---

### **F) Incubation avec l'anticorps secondaire**

Une incubation avec l'anticorps secondaire (polymère d'enzyme) s'attachant spécifiquement à l'anticorps primaire a été réalisée, pendant 40 minutes. Cette étape a été suivie d'un lavage des lames avec le TBS-T trois fois, pendant 5 minutes chacun.

### **G) Révélation**

On a ajouté aux lames, un mélange de gouttes de chromogène DAB (3,3-diaminobenzidine) et 1 ml de tampon tween pendant 2 minutes à température ambiante. Après le rinçage les lames ont été ensuite immerger dans une solution ammoniacale (3 %) puis rincées encore une fois à l'eau distillée.

### **H) Contre coloration**

La contre coloration a été réalisée par le plongement des lames dans un bain d'hématoxyline de Mayer pendant 3 minutes, pour colorer en bleu violet (noyaux et cytoplasme) le reste des échantillons qui n'a pas était coloré par le chromogène DAB . Enfin, un rinçage à l'eau du robinet a été effectué.

### **I) Montage et observation**

Les lames ont été déshydratées dans l'alcool de degré croissant (70 °C, 90 °C, alcool absolu [x2], Xylène [x3]) puis dans le toluène pour l'éclaircissement.

De plus les lamelles ont été montées sur les lames par Eukitt, ensuite laissées sécher à l'air libre.

### **J) Lecture et interprétation microscopique**

Les lames ont été examinées au microscope optique à différents grossissements (X40, X100 et X400) puis interprétées par le médecin pathologiste. Des photos ont été prises avec le microscope optique à fond clair doté d'un appareil photo numérique et traitées par un logiciel Leica (Asez).



### III. Résultats et discussion

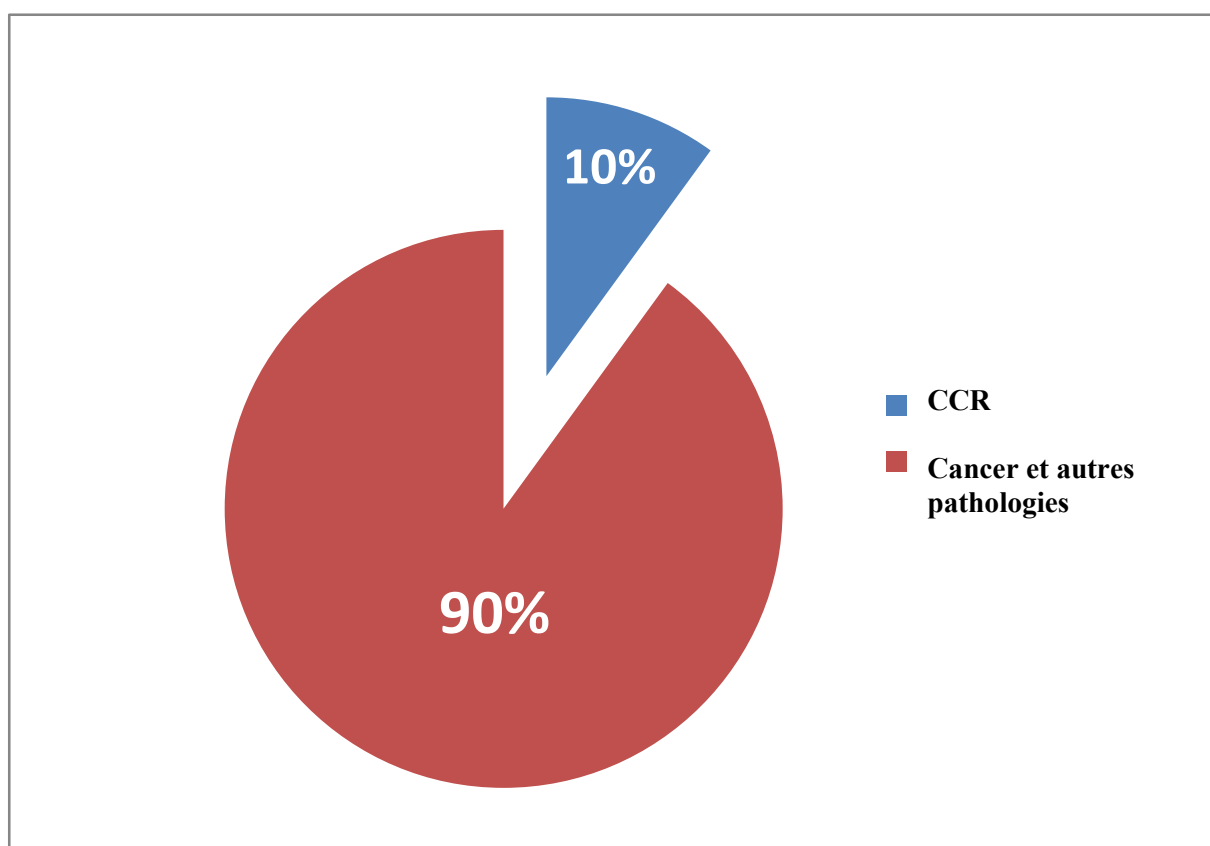
Dans cette partie, l'ensemble des résultats obtenus sont présentés, sous forme de graphes et de tableaux, interprétés et discutés selon la bibliographie.

#### III.1. Enquête rétrospective

Au total 188 cas de cancer colorectal (CCR) ont été recensés au sein du service d'anatomie pathologique du CHU de Beni Messous, durant la période du 1<sup>er</sup> janvier 2019 au 10 Avril 2022.

#### A) Prévalence du cancer colorectal durant la période d'étude

La prévalence du cancer colorectal au sein du service d'anatomie pathologique de Beni Messous est estimée à 10% pour la période comprise entre le 1<sup>er</sup> janvier 2019 et le 10 Avril 2022 (**Figure 16**).

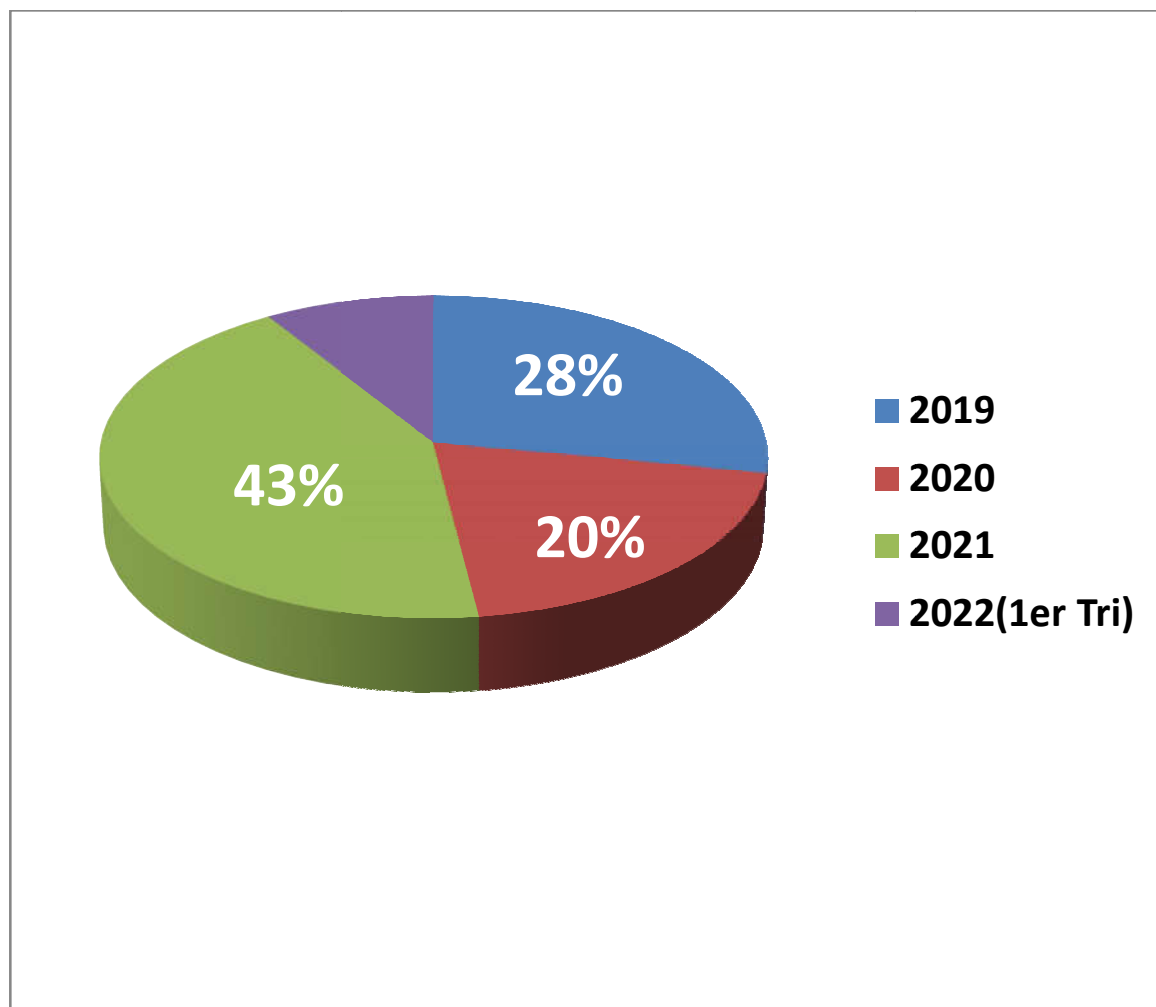


**Figure 16** : Prévalence du cancer colorectal durant la période d'étude.

### B) Répartition des cas selon l'année de recrutement

Durant notre période d'études, 188 cas incidents de cancer colorectal ont été diagnostiqués avec un nombre important de 53 cas (28 %) au cours de l'année 2019 suivis de 38 cas (20 %) pendant l'année 2020 et 81 cas (43%) en 2021. Enfin, on dénombre 16 cas seulement (9 %) en 2022.

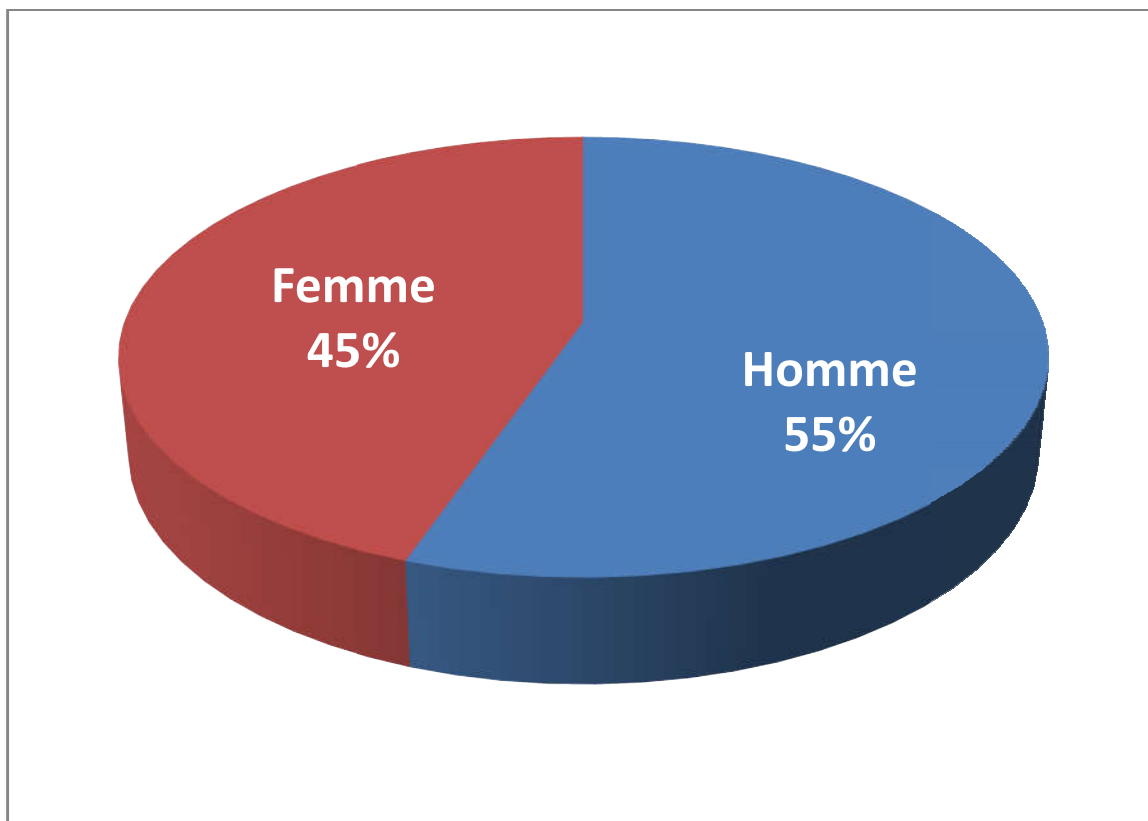
La moyenne d'incidence du cancer colorectal a été estimée à 47 cas (**Figure 17**).



**Figure 17** : Répartition de cas selon l'année de recrutement

### C) Répartition des cas selon le sexe

La répartition des cas par sexe a révélé une prédominance masculine avec 104 cas (55 %) par rapport à 84 cas (45 %) notés chez les femmes. La sex-ratio homme/femme était de 1,23 (**Figure 18**).



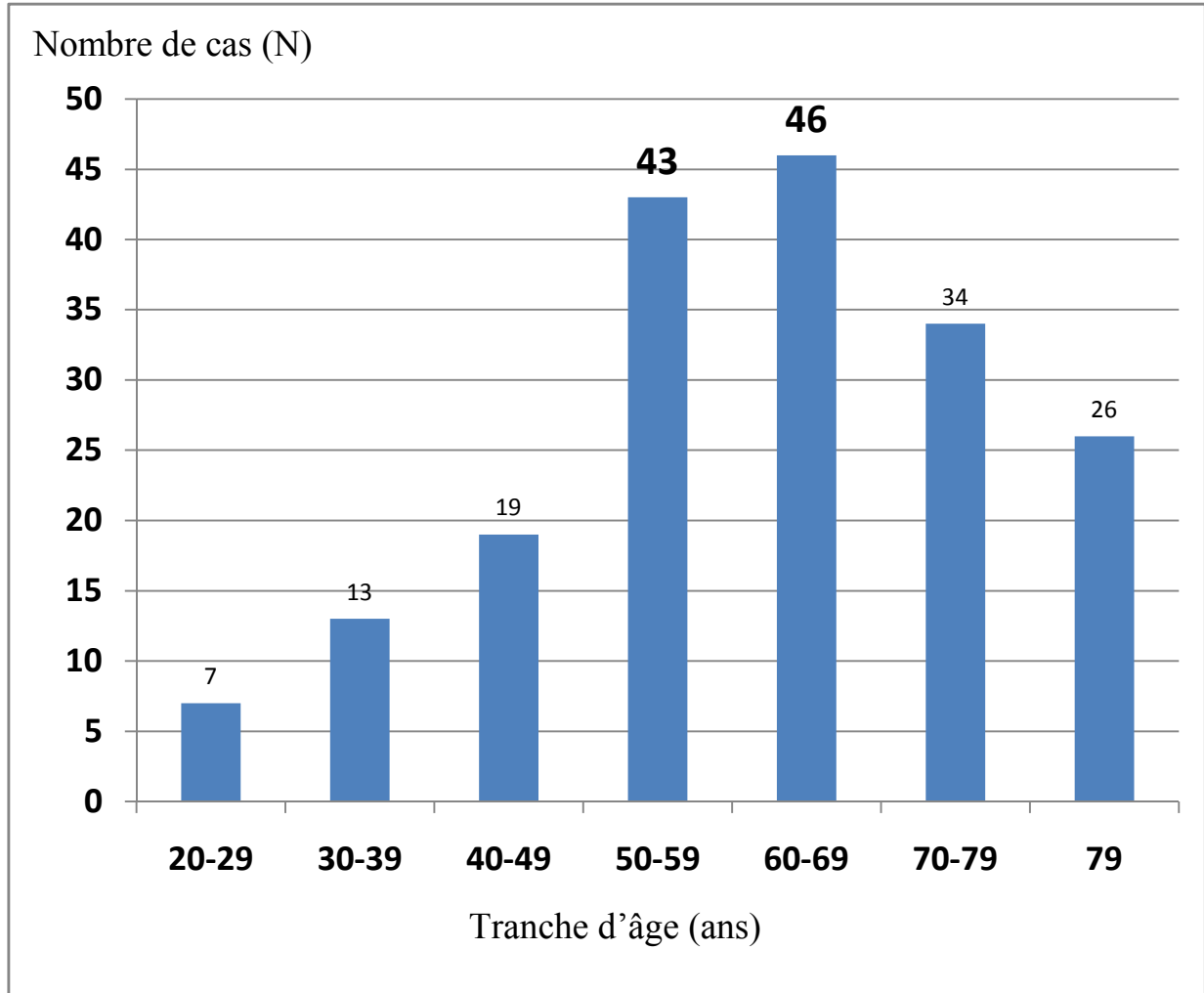
**Figure 18** : Répartition des cas par sexe

Nos résultats concordent avec ceux obtenus par **McCabe et al [103]** qui ont trouvé une prédominance masculine de 56% et un sex-ratio de 1.28. Cependant, nos résultats étaient supérieurs à ceux notés par **Kassem et al [104]** qui ont révélé un sex-ratio de 0.58.

Ceci s'explique probablement par la consommation excessive d'alcool et de tabac, des facteurs de risque importants pouvant contribuer au développement du CCR, chez les hommes par rapport aux femmes qui sont moins sujettes à cette pratique **Steinmetz et al [105]**, **El Housse al [106]**.

### D) Répartition des cas selon les tranches d'âge

Dans notre étude, l'incidence du CCR était élevée après l'âge de 50 ans et devient encore plus importante chez les sujets âgés entre 60 et 69 ans, avec 46 cas (24 %). La moyenne d'âge était de  $60,44 \pm 14,69$  (**Figure 19**).

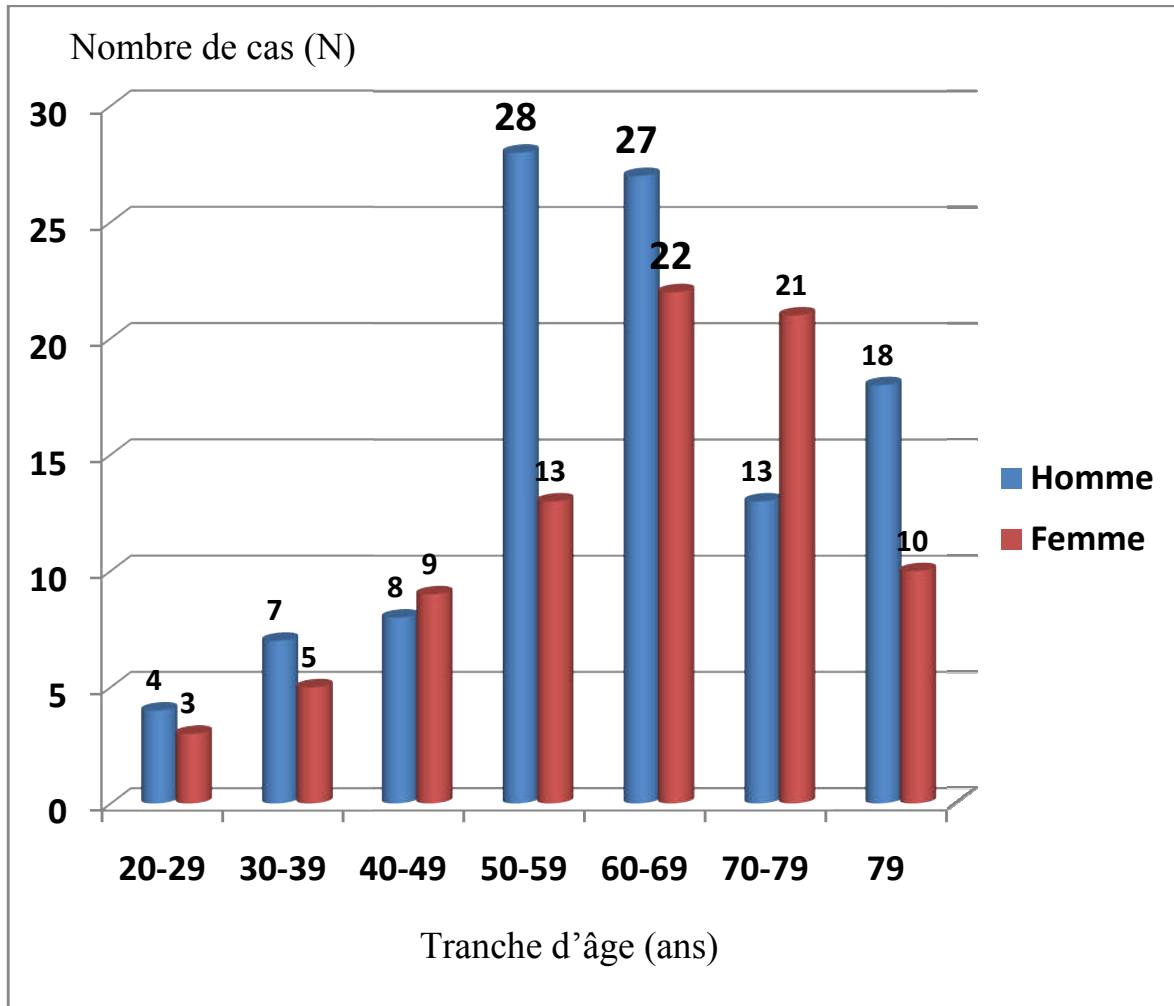


**Figure 19** : Répartition de cas par tranche d'âge.

Nos résultats concordent avec ceux obtenus par **Dembélé et al [107]**, qui a trouvé que la tranche d'âge la plus touchée varie entre 51 et 60 ans caractérisant ainsi 20.4% des cas dont la moyenne d'âge était de 53.11 ans. Par ailleurs, nos résultats diffèrent de ceux enregistrés par l'étude de **Pan et al [108]** qui a révélé que la majorité des cas soit 74% avait un âge de 50 ans tandis que, seulement 36% des cas étaient âgés de moins de 50 ans.

### E) Répartition de cas selon l'âge par sexe

Selon nos résultats, l'âge moyen n'a pas une différence significative entre les deux sexes 60.50 pour les hommes ans contre 61.78 ans pour les femmes. De plus, nos données ont montré que le CCR survient souvent chez le sujet âgé de plus de 50 ans pour les deux sexes. Toutefois, la minorité des cas était enregistrée chez les patients âgés moins de 39 ans, pour les deux sexes (**Figure 20**).

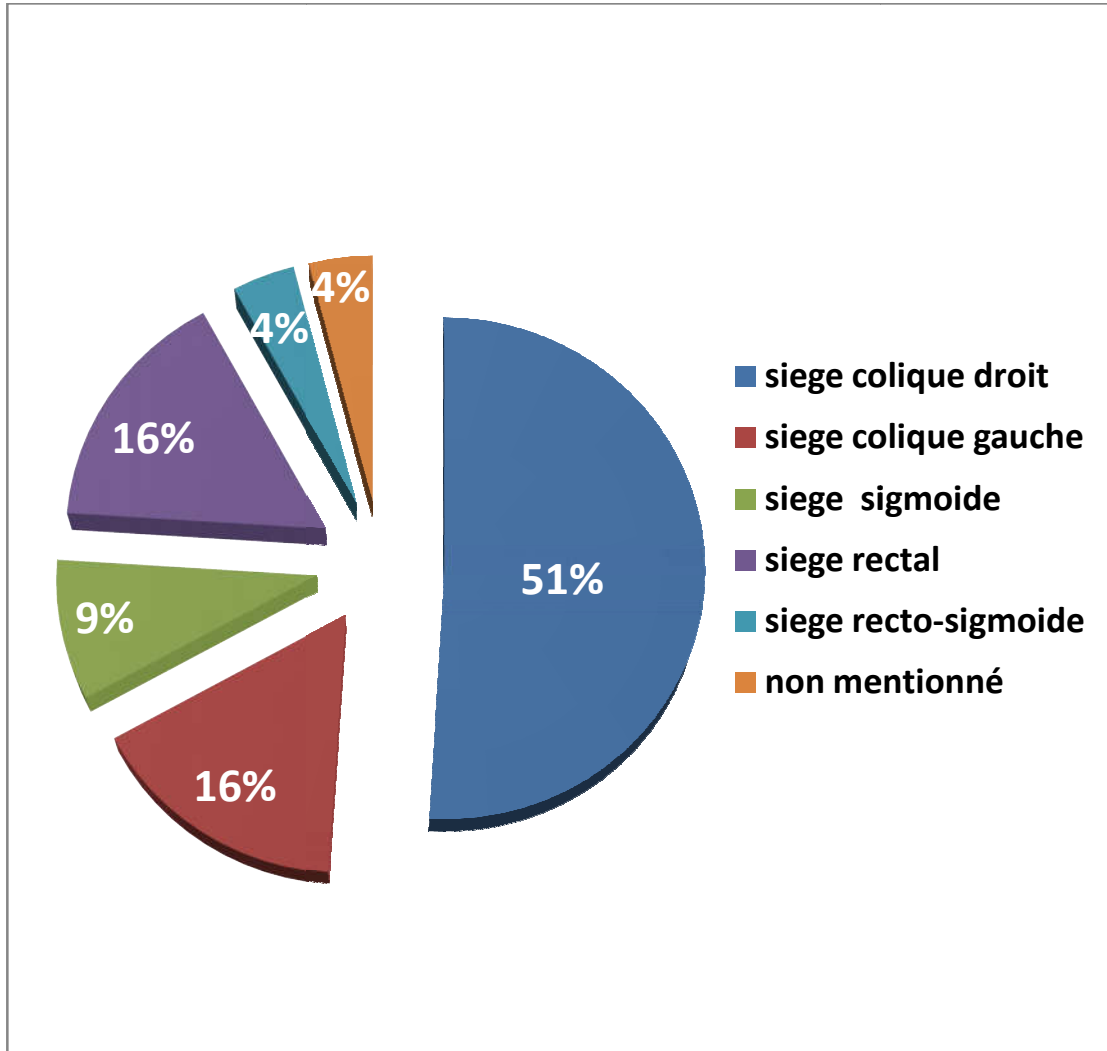


**Figure 20** : Répartition des patients selon l'âge par sexe.

Nos résultats sont contradictoires à ceux enregistrés par l'étude **Dembélé et al [107]** qui a noté un pic dans la tranche d'âge comprise entre 51 et 60 ans quelque soit le sexe. D'autre part, l'étude réalisée par **Pennison et al [109]** a révélé une moyenne d'âge de 59.5 ans avec une prédominance féminine soit 55% des cas.

### F) Répartition des cas selon le siège de la tumeur

Dans notre étude portant sur 188 cas de CCR, le siège de la tumeur le plus fréquemment touché était le colon droit caractérisant ainsi 51% des cas (**Figure 21**).



**Figure 21** : Répartition des cas selon le siège du CCR.

Nos résultats sont identiques à ceux rapportés par **Kassem et al [104]**, qui ont trouvé que 51 % des cas présentaient un cancer du côlon droit. En revanche, nos résultats sont contradictoires à ceux obtenus par **El Housse et al [106]** et **Atef et al [110]** qui ont trouvé des pourcentages respectifs de 77% et 53.7% relatifs aux cancers siégeant au colon gauche.

### G) Répartition des cas selon la classification PTNM

#### ➤ Selon le T-tumeur primitive

Nos résultats montrent que la majorité de nos patients soit 57% présentaient le T3 tandis que, le T2, T4 et le T1 ont caractérisé respectivement 10%, 7% et 5% de l'ensemble des cas (Figure 22).

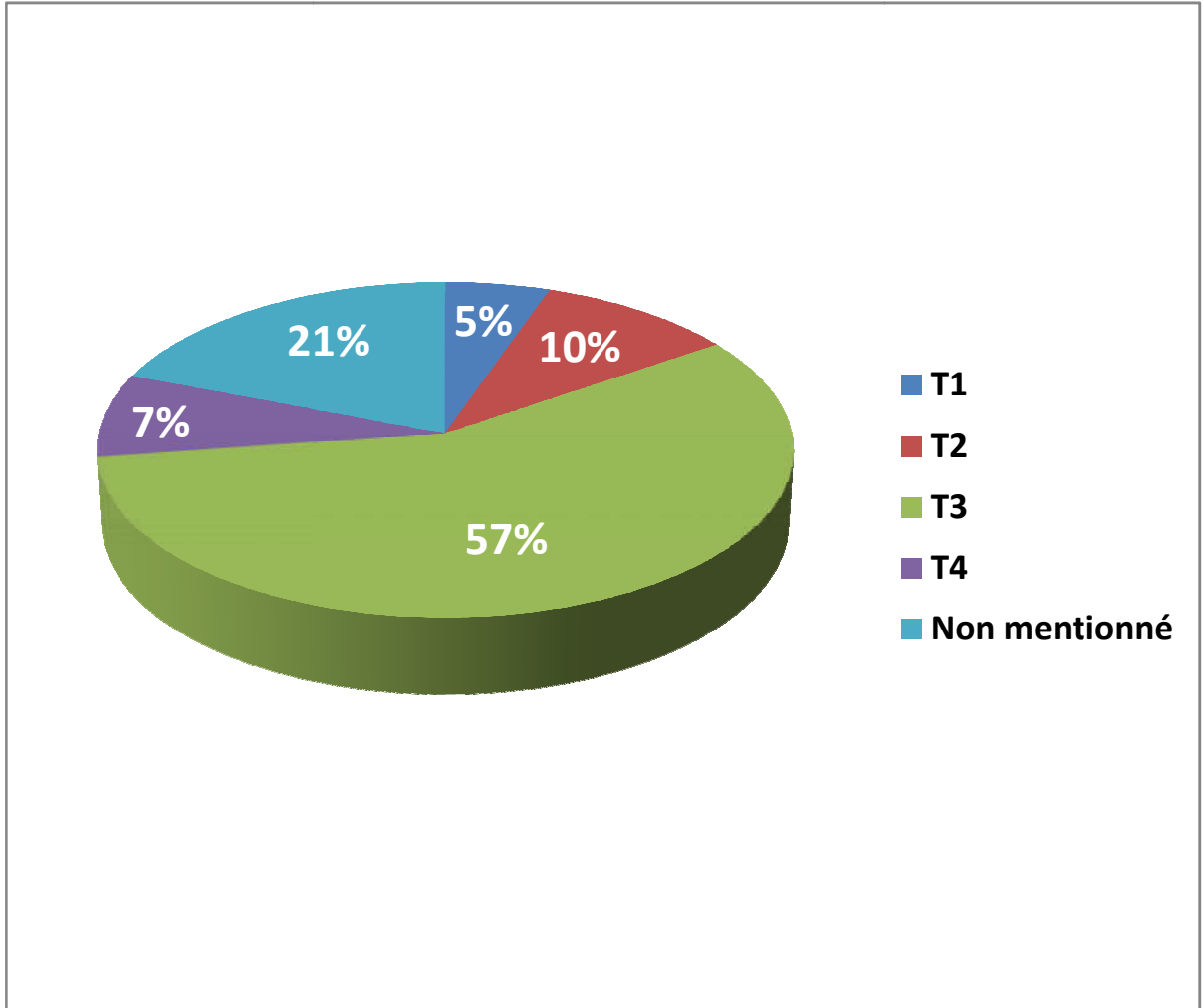
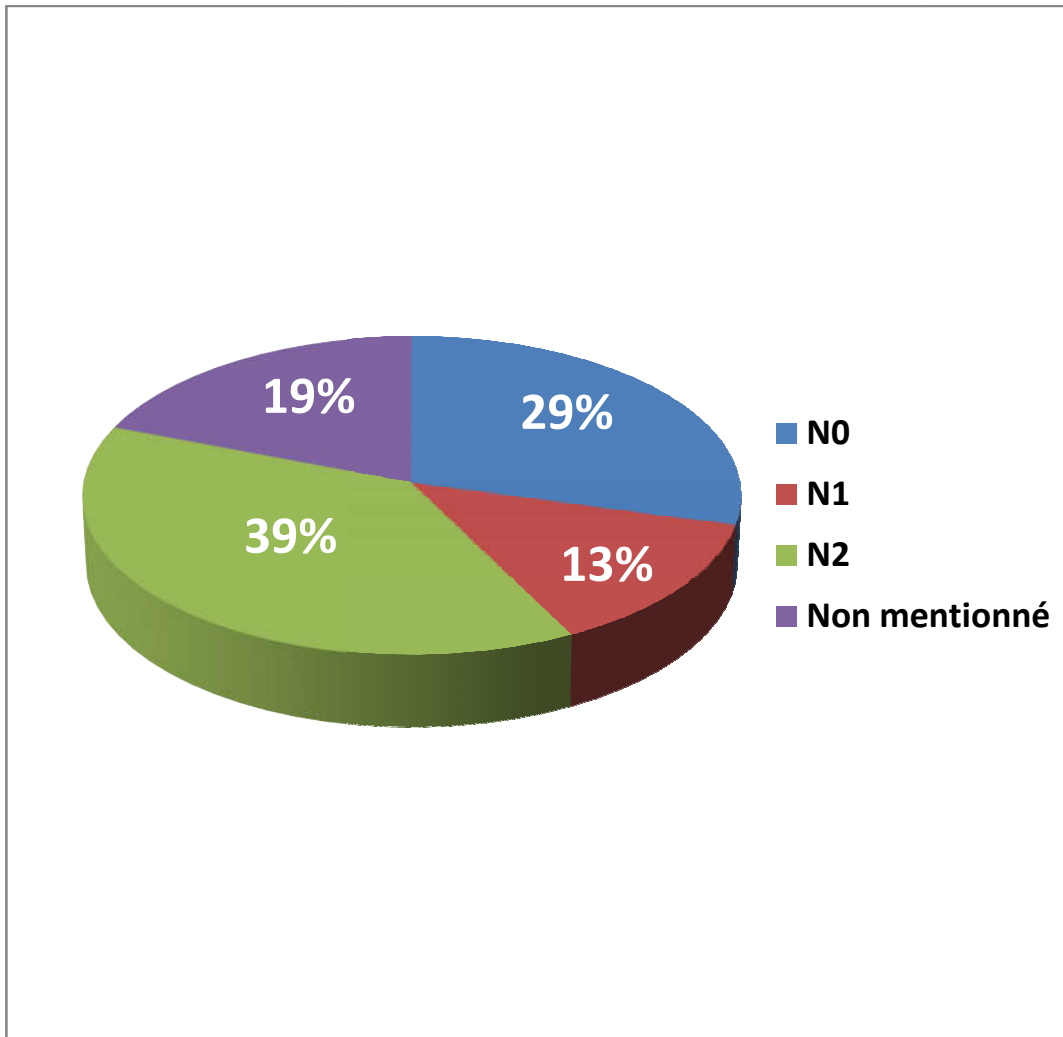


Figure 22 : répartition des cas selon le T-tumeur primitive.

Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par **Kikuchi et al [112]** qui ont constaté que la majorité des patients soit 57% des cas présentait le T3. De plus, nos résultats se rapprochent de ceux de **El Housse et al [106]** qui ont noté que le T3 était trouvé chez 50% des cas. En revanche, **Belhamidi et al [111]** ont enregistré une prédominance du T2.

### ➤ Selon le N-ganglions lymphatiques régionaux

Nos données révèlent une prédominance du N2 soit 39% des cas (**Figure 23**).



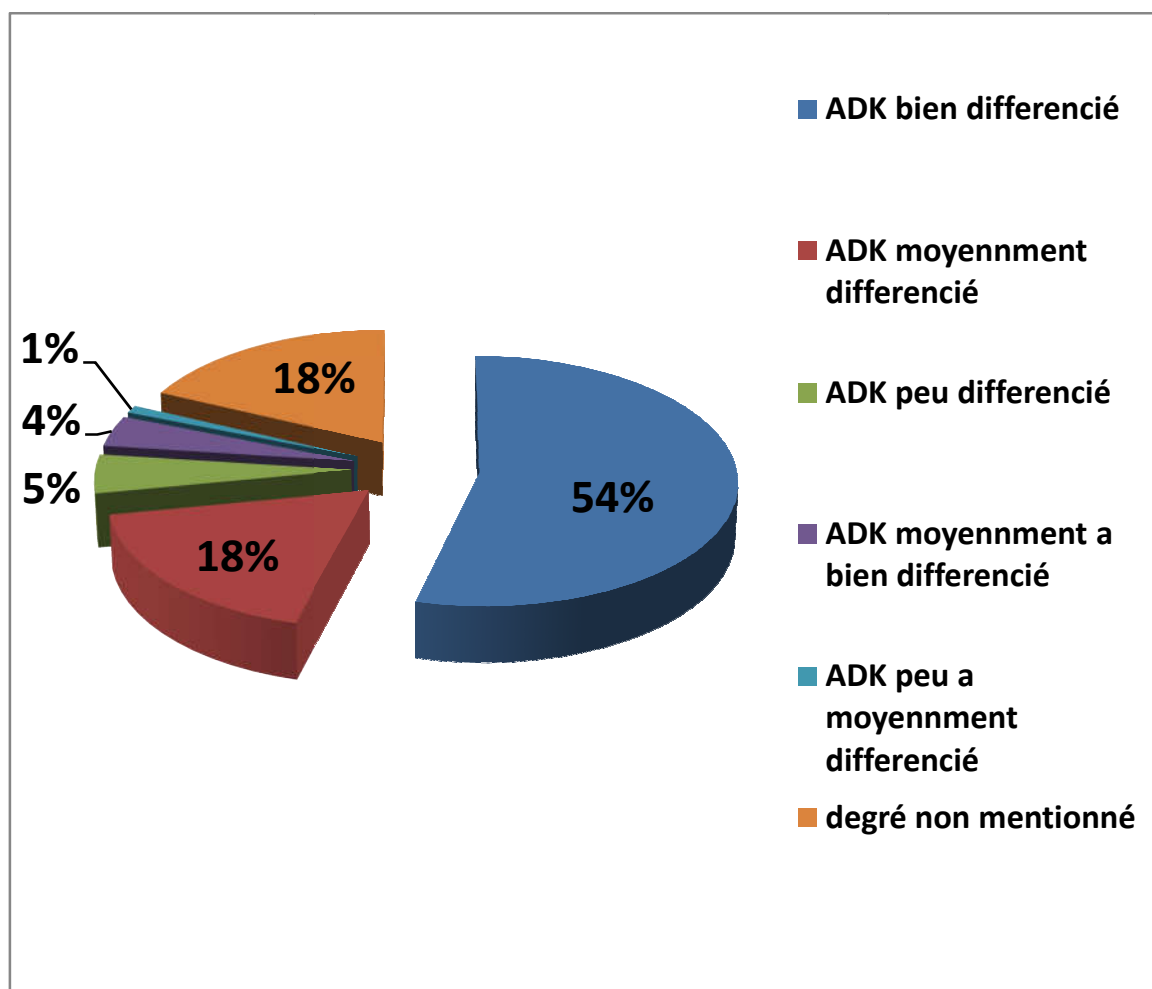
**Figure 23** : Répartition des cas selon le N-ganglions lymphatiques régionaux

Nos résultats sont similaires à ceux rapportés par **Kikuchi et al [112]**, **Lalosevic et al [113]** et **El Housse et al [106]** qui ont décelé le N0 chez respectivement 38%, 39% et 40% des cas.



### H) Répartition des cas selon le degré de différenciation

Les résultats obtenus par notre étude ont révélé une prédominance de l'adénocarcinome bien différencié chez 54% % des cas par rapport à l'adénocarcinome moyennement différencié noté chez 18 % des cas. Alors que, les CCR moyennement à bien différenciés et peu différenciés, ont caractérisé uniquement 1.5 % et 1% des cas. (Figure 24).

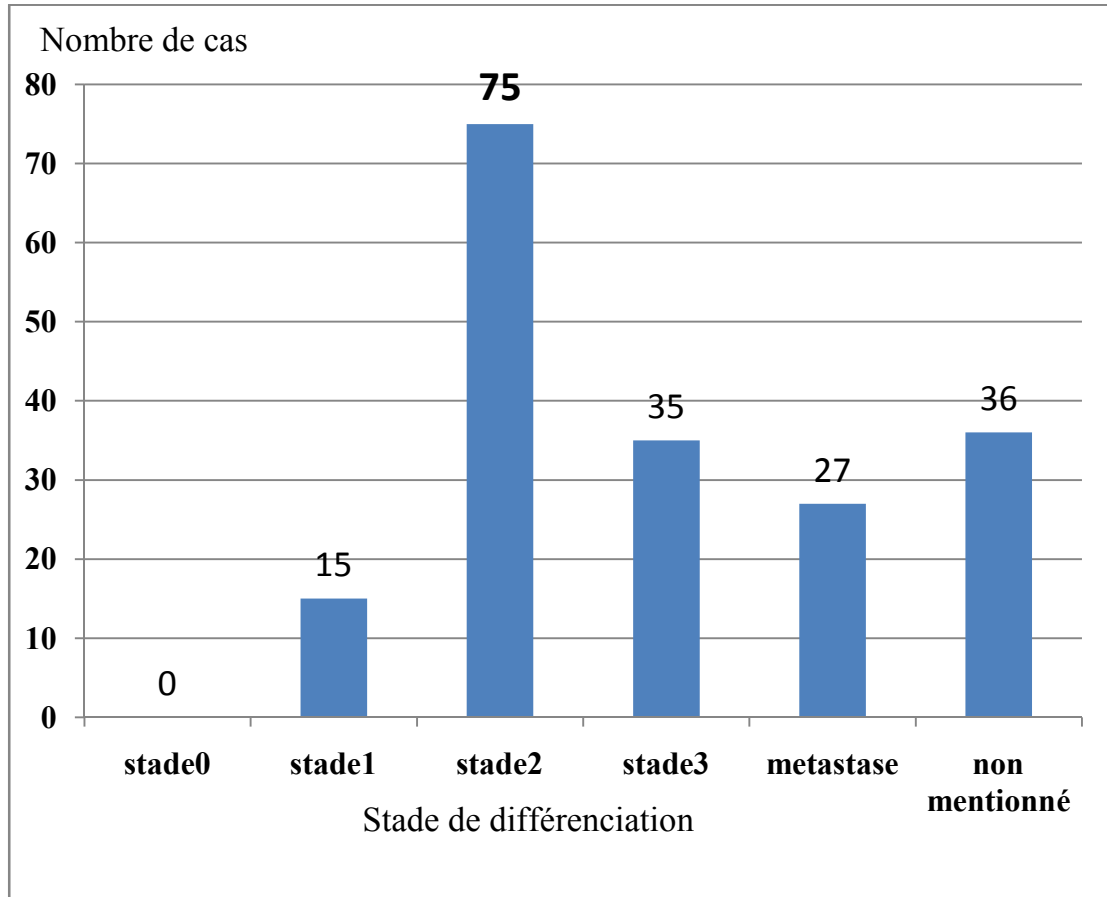


**Figure 24 :** Répartition des cas selon le degré de différenciation.

Nos résultats concordent avec ceux rapportés par plusieurs travaux démontrant que l'ADK bien différencié est la variante la plus courante en termes de degré de différenciation. En effet, nos résultats se rapprochent de ceux obtenus par **Bedeuhene et al [114]**, **Belhamidi et al [111]** et **Lalosevic et al [113]** qui ont trouvé que l'ADK bien différencié caractérise respectivement 52%, 54% et 55% des cas

### I) Répartition des cas selon le stade de différenciation

Nos résultats révèlent que 39% des cas présentaient des tumeurs de stade II tandis que, 18% des patients avaient des tumeurs de stade III (**figure 25**).

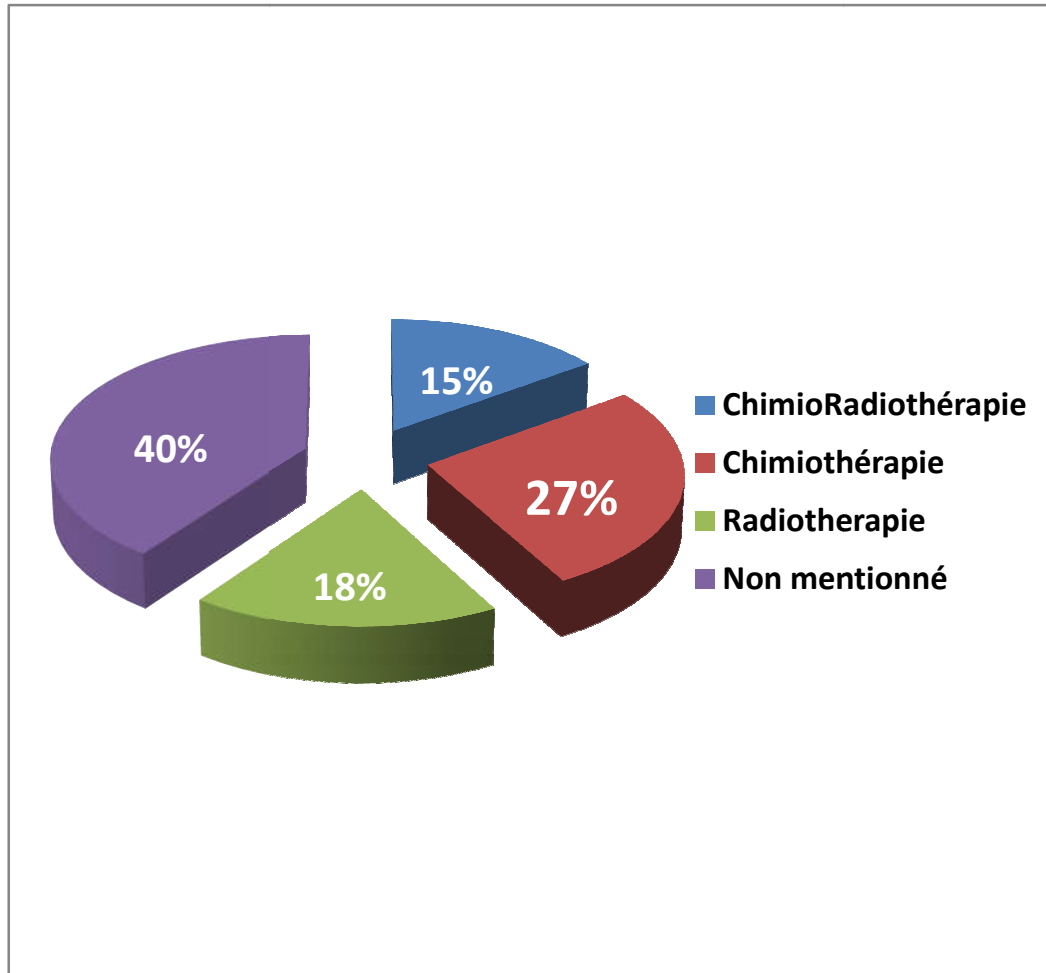


**Figure 25** : Répartition des cas selon les stades de différenciation.

Nos résultats sont similaires à ceux trouvés par **Atef et al** [110] qui ont noté une prédominance des cas au stade II (39%). Par ailleurs, nos résultats sont contradictoires avec ceux trouvés par **Kassem et al** [104] et **Haddon et al** [115] qui ont enregistré respectivement 52.6% et 42.6% de cas au stade III.

### J) Répartition des cas selon le traitement administré

Nos résultats révèlent que la majorité des patients soit 60% des cas ont bénéficiés de plusieurs cures de chimiothérapie et/ ou radiothérapie (**figure 26**).

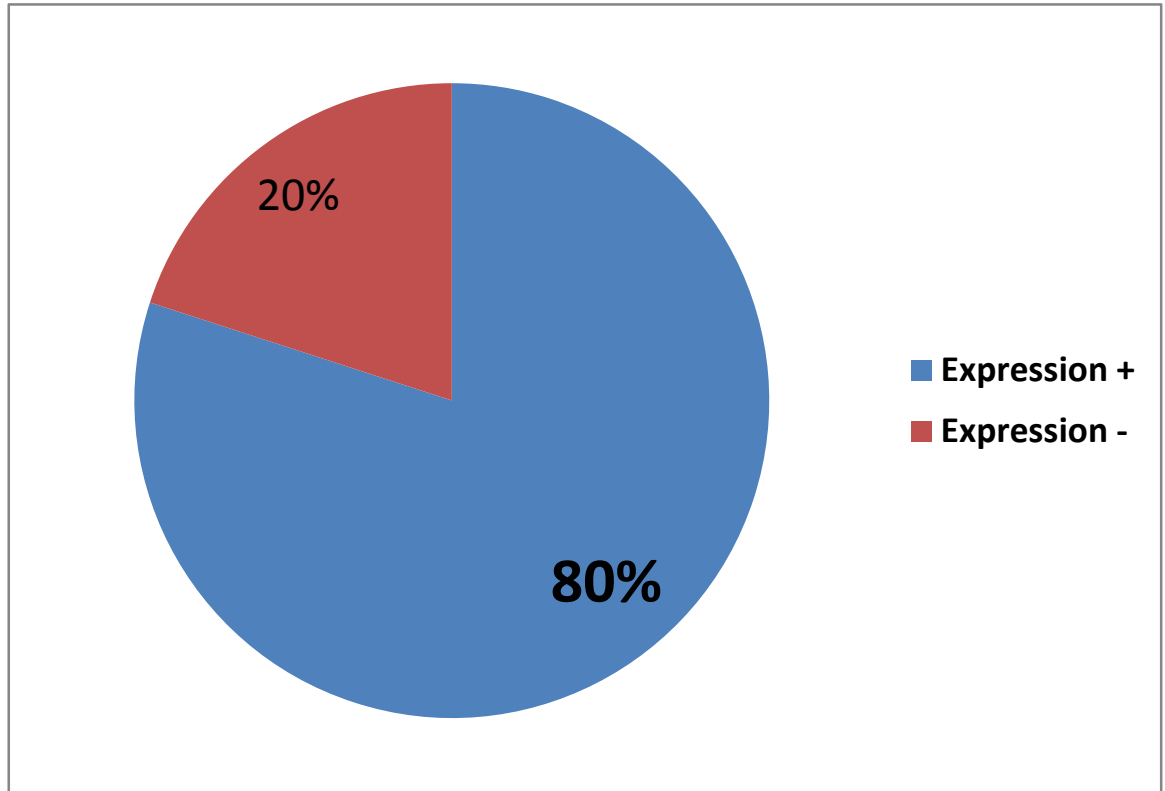


**Figure 26** : Répartition des cas selon les traitements administrés

Néanmoins, d'autres approches thérapeutiques plus prometteuses, ciblant les différents acteurs de signalisation cellulaire impliqués dans la carcinogenèse colorectale, sont couramment utilisées à travers le monde notamment pour les cas de cancer colorectal métastatique, ciblant principalement le KRAS, le BRAF et le gène MEK.

### K) Répartition des cas selon l'expression immunohistochimique de la GAL- 3

Les résultats obtenus révèlent que 2 % des cas présentant un cancer colorectal étaient positives vis-à-vis de GAL-3 (**figure 27**).



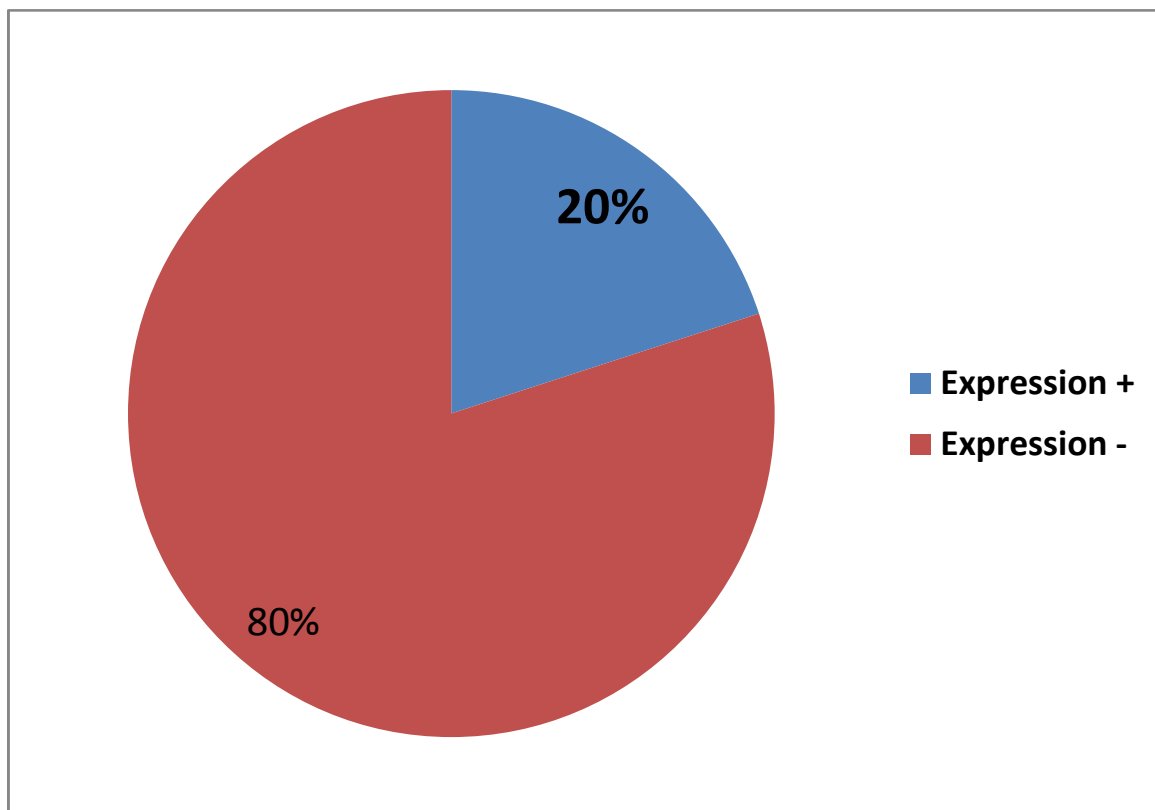
**Figure 27** : Répartition des cas selon l'expression immunohistochimique de Gal 3

Nos résultats diffèrent de ceux enregistrés par l'étude menée en 2017 par **Tao et al [116]** qui a démontré la forte contribution de GAL-3 à la carcinogenèse colorectale avec une surexpression notée chez 62.5% des cas.

D'autre part, les niveaux d'expression de GAL-3 ont été également évalués par l'étude de **Wang et al [117]** qui a dévoilé une surexpression de GAL-3 chez 61.5 % des patients sans métastases ganglionnaires et une surexpression enregistrée chez 89.5 % des cas présentant des métastases ganglionnaires. Sur ce, d'autres travaux portant sur le rôle clé de GAL-3 dans la cancérogenèse colorectale s'imposent, afin de confirmer les résultats obtenus par notre étude.

### L) Répartition des cas selon l'expression immunohistochimique de la MUC-1

Nos résultats immunohistochimique sont démontrés que seulement 0.5 % des cas présentant un cancer colorectal surexprimaient la MUC-1 (**figure 28**).



**Figure 28** : Répartition des cas selon l'expression immunohistochimique de Muc 1

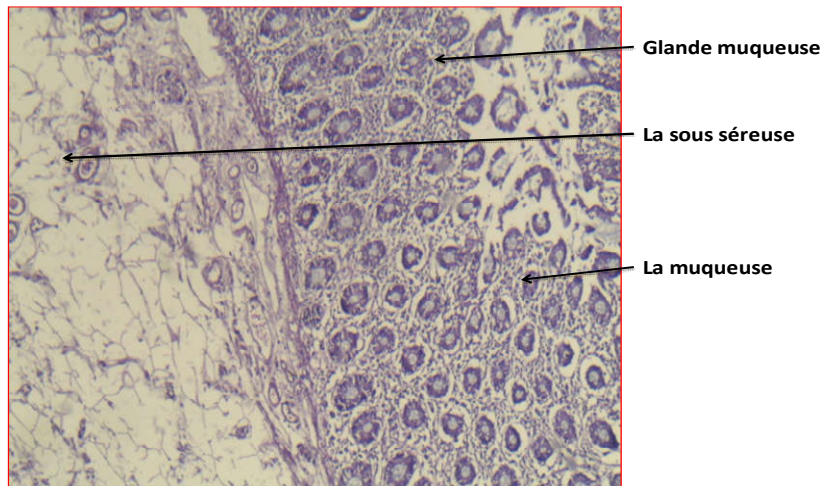
Nos résultats sont inférieurs à ceux trouvés par l'étude de **Del Arco et al [118]** qui a souligné une forte expression de MUC-1 chez 46% des patients souffrant d'un cancer colorectal. Alors que, selon **Wang et al [117]**, des niveaux d'expression très élevés de MUC-1 ont été décelés chez 34.6 % des cas sans métastases ganglionnaires et chez 84.2 % des patients présentant des métastases ganglionnaires.

Néanmoins, d'autres travaux sont nécessaires afin de confirmer nos constatations.

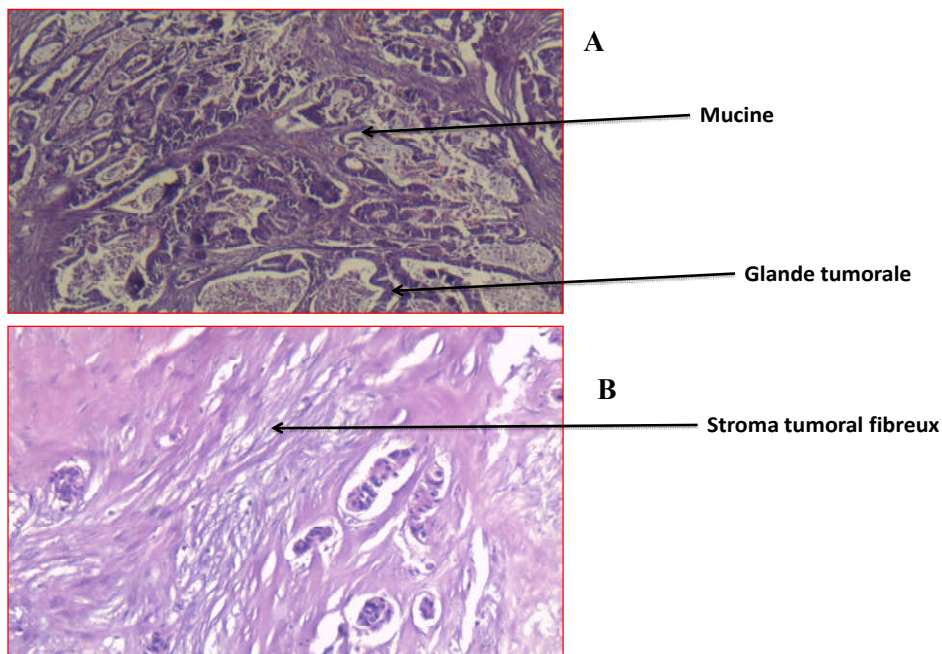
### III.2.Résultats anatomopathologiques

Les résultats d'observation des coupes histologiques et du marquage immunohistochimique réalisés sur les 5 cas d'adénocarcinome colorectal sont présentés sous forme d'illustrations micrographiques prise au moyen d'un microscope optique doté d'un appareil photo numérique et de tableau.

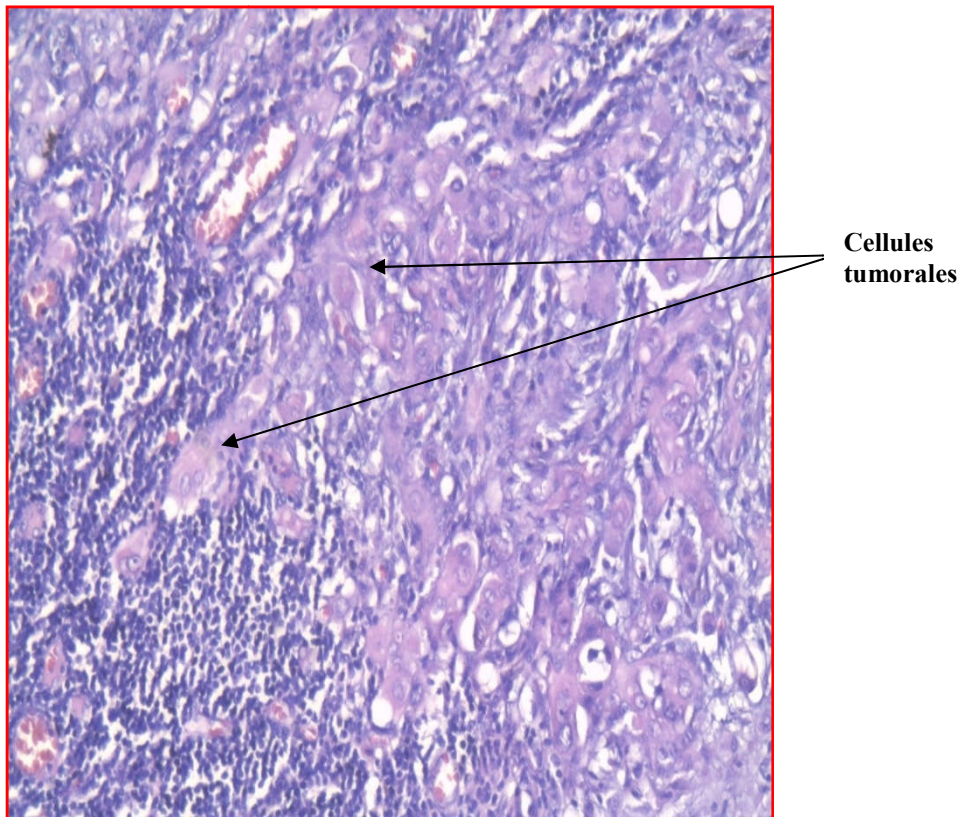
#### III.2.1.Résultats histologiques



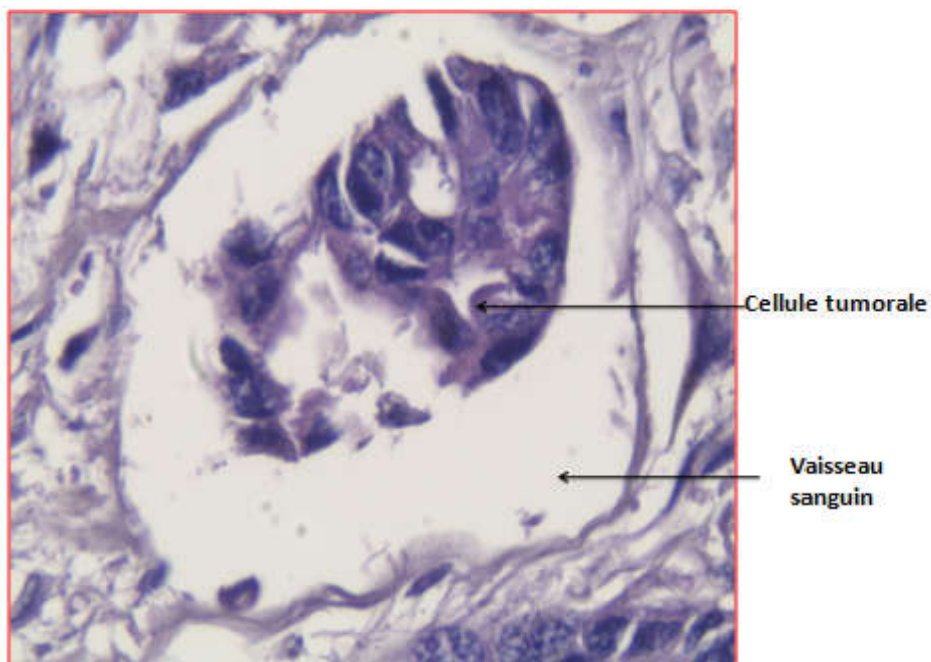
**Figure 29** : photomicrographie d'une muqueuse colique à l'état normal au microscope photonique à faible grossissement (x40) avec une coloration HE.



**Figure 30** : photomicrographie d'un adénocarcinome colique bien différencié au microscope photonique à faible grossissement (x40) avec une coloration HE.



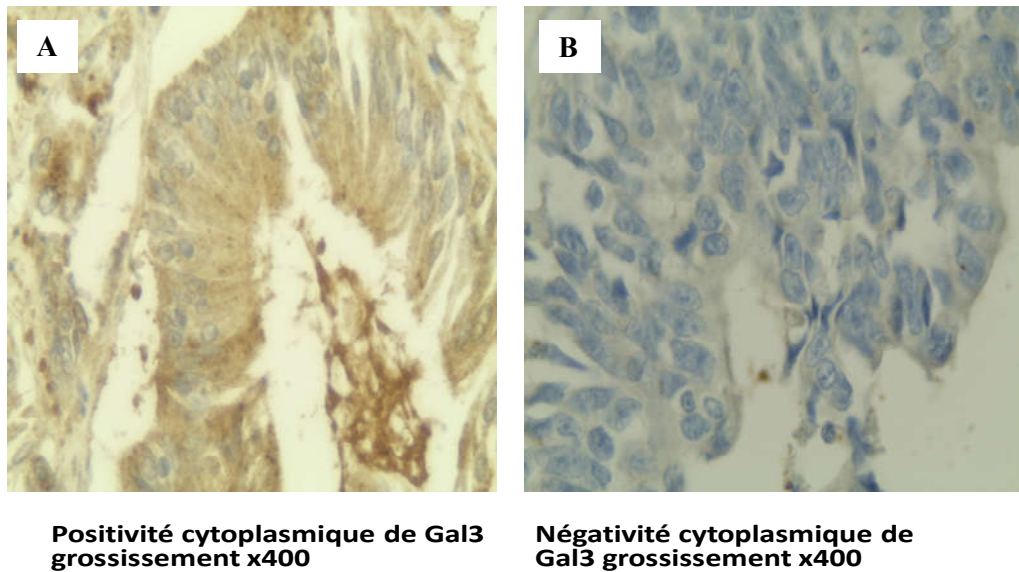
**Figure 31** : photomicrographie des follicules lymphoïdes qui ont subits une infiltration par les cellules tumorales au microscope photonique à fort grossissement (x400) avec une coloration HE.



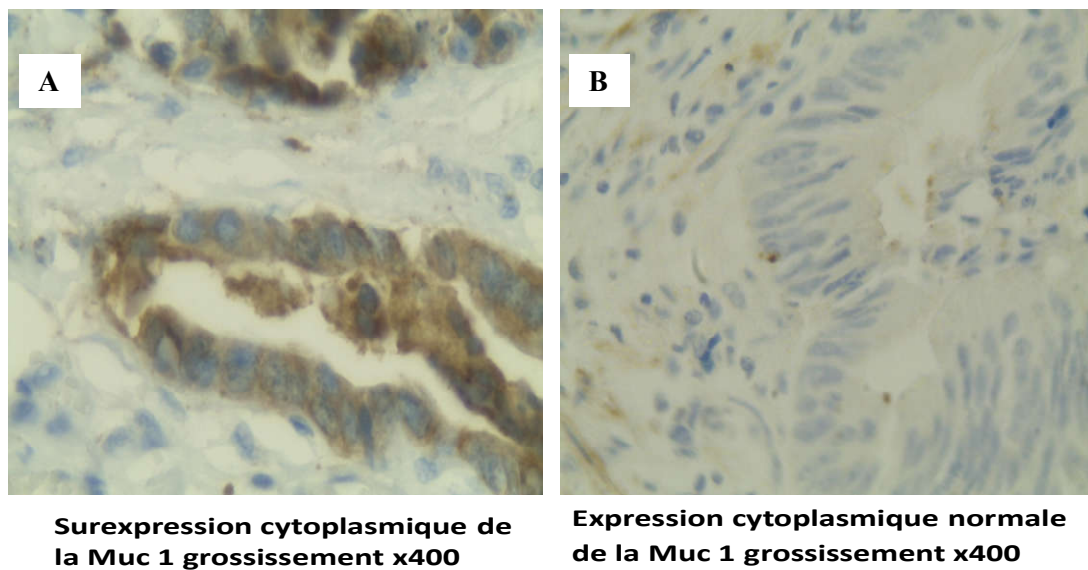
**Figure 32** : photomicrographie d'un embole vasculaire dans un tissu tumoral au microscope photonique a fort grossissement (x400) colorée avec Hématoxyline Eosine.

### III.2.2.Résultats immunohistochimiques

Les résultats de l'étude immunohistochimique faite prospectivement sur cinq cas d'adénocarcinome colique, via les anticorps anti-Galectine 3 et anti-Mucine 1 dans un but pronostic afin d'évaluer les embolus vasculaires (lymphatique ou sanguin), sont illustrés ci-dessous



**Figure 33** : photomicrographie de l'expression immunohistochimique positive et négative de la GAL3 dans le cas d'un adénocarcinome colique au microscope photonique à fort grossissement (x400).



**Figure 34** : photomicrographie de l'expression et la surexpression de la MUC1 dans le cas d'un adénocarcinome colique au microscope photonique à fort grossissement (x400).



## PARTIE PRATIQUE : RESULTATS ET DISSCUSION

- L'ensemble des résultats atteints sont illustrés dans le tableau ci-dessous:

**Tableau IV :** Résultats d'observations microscopiques des tissus tumoraux après la technique immunohistochimie.

patients	Infiltration des ganglions	Embole vasculaire	GAL3	MUC 1
Patient 1	Positif	Négatif	Négatif	Négatif
Patient 2	Négatif	Négatif	Positif	Négatif
Patient 3	Positif	Positif	Positif	Négatif
Patient 4	Négatif	Négatif	Positif	Négatif
Patient 5	Positif	Négatif	Positif	Positif

Comme clairement illustré sur le Tableau IV, la technique d'IHC a bien confirmé la surexpression de GAL-3 chez 80 % des échantillons (soit 4 cas). D'autre part, pour ce qui est de l'expression de la MUC-1, notre étude a dévoilé une surexpression de cette protéine chez uniquement 10 % des cas.

L'analyse immunohistochimique des cas étudiés prospectivement nous a permis donc de mettre en évidence :

- 1 cas démontrant une négativité vis-à-vis des deux marqueurs : Gal3 et Muc1. Néanmoins, des métastases ganglionnaires ont été bien constatées avec absence d'évidence d'emboles vasculaires sur les prélèvements étudiés.
- 3 cas dotés d'une positivité vis-à-vis d'un seul marqueur qui est le GAL-3 ainsi qu'une négativité du MUC-1 dont 2 n'avaient pas d'emboles vasculaires et de métastases ganglionnaires alors que le 3ème cas était caractérisé par la présence d'emboles vasculaires et de métastases ganglionnaires.
- Le 5ème cas a bien démontré une positivité vis à visle GAL-3 et MUC-1 avec une présence de métastase.

En s'appuyant sur les résultats obtenus, la positivité des deux marqueurs est en faveur d'un mauvais pronostic avec risque élevé d'emboles vasculaires sanguins d'où la présence de métastases ganglionnaires.

## PARTIE PRATIQUE : RESULTATS ET DISSCUSION

---

L'étude qu'on a menée montre que la positivité des deux marqueurs n'implique pas obligatoirement la présence d'emboles vasculaires dans la tumeur néanmoins, la présence de métastases ganglionnaires rend le pronostic plus sombre, et peut supposer la présence d'emboles lymphatiques non vu sur nos prélèvements (la tumeur n'est pas incluse en totalité des prélèvements systématiques sont réalisés selon des protocoles codifiés).

La négativité des deux marqueurs retrouve sur ce prélèvement une métastase ganglionnaire sans évidence d'emboles vasculaires. Au vu de ces résultats, il existe probablement d'autres marqueurs qui interviendraient dans le cycle de la carcinogénèse de ces adénocarcinomes.

Sur les 3 autres cas qui présentent le même profil (positivité d'un seul marqueur), les résultats microscopiques ne sont pas les mêmes confirmant encore une autre fois la présence probable d'autres facteurs qui interviennent dans l'évolution de ces carcinomes. Néanmoins, d'autres études portant sur un échantillon représentatif seraient intéressantes afin d'évaluer l'intérêt diagnostique, pronostique et thérapeutique de ces marqueurs vis-à-vis de l'adénocarcinome colique.



# **Conclusion**



A l'essor de notre étude, il en découle que les cancers colorectaux sont fréquemment diagnostiqués au sein du service d'anatomie pathologique du CHU de Beni Messous. Notre étude a permis de recenser 188 cas de cancers colorectaux diagnostiqués à la fois histologiquement et immunohistochimiquement.

A travers ce travail, on a pu dégager certaines caractéristiques épidémiologiques, cliniques et anatomopathologiques du cancer colorectal.

Notre étude a dénoté la prédominance de ce type de cancers chez les hommes soit 55 % des cas. On a pu également constater que la tranche d'âge la plus touchée était comprise entre 60 et 69 ans. D'autre part, cette étude nous a permis de souligner que le cancer colorectal cible principalement le colon droit, caractérisant ainsi 51 % de nos cas.

Histologiquement, l'adénocarcinome colique bien différencié était le plus fréquemment enregistré chez 54 % des cas.

L'analyse immunohistochimique qui est largement utilisée pour l'étude du profil d'expression protéique, nous a permis de déceler 3 cas surexprimant la GAL-3 et un autre surexprimant à la fois la GAL-3 et la MUC-1.

L'étude du profil d'expression protéique s'avère donc une étape très utile dans la prise en charge personnalisée des patients atteints de CCR. Les protéines GAL-3 et MUC-1 semblent donc, être des outils très prometteurs, non seulement pour le diagnostic et pronostic du cancer colorectal mais aussi pour l'orientation de la démarche thérapeutique.

L'une des limites de notre travail était la courte durée de l'étude, ainsi que l'insuffisance des données cliniques et épidémiologiques sur les patients. S'il y aurait à l'avenir, une opportunité de poursuivre ce travail, le mieux serait d'étendre nos investigations aux autres CHU avec un échantillonnage plus significatif et ce, pour une meilleure estimation de l'expression de GAL-3 et MUC-1 chez les patients atteints CCR. D'autre part, il serait beaucoup plus intéressant, de rechercher l'expression de nouveaux marqueurs et de comparer leur spécificité et fiabilité par rapport aux biomarqueurs actuels.

Enfin, il serait éminent d'exploiter d'autres techniques de biologie moléculaire en l'occurrence, la PCR et les techniques de séquençage, afin d'identifier de nouveaux marqueurs génétiques et épigénétiques d'intérêt diagnostique, pronostique voire même thérapeutique.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

[1] Ferlay, J., Soerjomataram, I., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M., & Bray, F. (2015). Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International journal of cancer*, 136(5), E359-E386.

[2] LAWI, Z. K. K., SKAKIR, Z. H., & AZIZ, D. Z. (2021). Detection of fibroblast growth factor receptor 3 (FGFR3) gene polymorphism in multiple myeloma patients in Baghdad and Babylon provinces. *Iranian Journal of Ichthyology*, 8, 337-340.

[3] Abid, M., Mansouri, M. A., Ballah, Y., Brahim, M., Kordjani, Z., & Hammani, A. Intérêt de la radiothérapie hypo-fractionnée dans la prise en charge des adénocarcinomes du rectum localement avancés.

[4] Dubois, F., Leroy, C., Simon, V., Benistant, C., & Roche, S. (2015). YES oncogenic activity is specified by its SH4 domain and regulates RAS/MAPK signaling in colon carcinoma cells. *American journal of cancer research*, 5(6), 1972.

[5] Boisdron-Celle, M., Guérin-Meyer, V., & Capitain, O. (2013). 5-fluorouracile: MSI, pharmacocinétique, DPD, TYMS et MTHFR. In *Médecine personnalisée en oncologie digestive* (pp. 75-92). Paris: Springer.

[6] Imad, F. E., Drissi, H., Tawfiq, N., Bendahhou, K., Jouti, N. T., & Radallah, D. (2019). Aspects épidémiologiques, nutritionnels et anatomopathologiques des cancers colorectaux dans la région du grand Casablanca. *Pan African medical journal*, 32(1).

[7] Laurenty, A. P., Selves, J., & Guimbaud, R. (2015). Biomarqueurs des cancers colorectaux utiles en pratique clinique. *Hépatogastro & Oncologie Digestive*, 22(3), 217-227.

[8] Porchet, N., & Aubert, J. P. (2004). Les gènes-MUC Mucin or not mucin? That is the question. *Médecine/sciences*, 20(5), 569-574.

[9] Abes, F., Adjaouti, Z., & Belaidi, M. (2015). *Etude rétrospective et prospective du cancer colorectal en général et de la thérapie ciblée impliquée dans son traitement en particulier* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

[10] Aichouna, W., Boussebaine, S., & Rechreche, H. E. (2019). *Etude clinico-biologique et évaluation de marqueurs tumoraux des cancers colorectaux dans la Wilaya de Jijel* (Doctoral dissertation, Université de Jijel).

[11] Sedkaoui, C. (2015). *Chimiothérapie et thérapie ciblée dans le cancer colorectal métastatique* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

[12] Mazri, C., Chimbo, S., & Medjkouh, H. (2020). Etude épidémiologique du cancer colorectal, dans la wilaya de bouira en algérie et l'influence de l'alimentation. *Algerian Journal of Environmental Science and Technology*, 6(4).

[14] Um, C. Y., Prizment, A., Hong, C. P., Lazovich, D., & Bostick, R. M. (2019). Associations of calcium and dairy product intakes with all-cause, all-cancer, colorectal cancer and CHD mortality among older women in the Iowa Women's Health Study. *British Journal of Nutrition*, 121(10), 1188-1200.

[15] Olschwang, S., Bonaiti-Pellié, C., Feingold, J., Frébourg, T., Grandjouan, S., Lasset, C., & Eisinger, F. (2006). Identification et prise en charge du syndrome

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

HNPCC (hereditary non polyposis colon cancer). Prédilection héréditaire aux cancers du côlon, du rectum et de l'utérus. *Pathologie Biologie*, 54(4), 215-229.

[16] Le Duc-Banaszuk, A. S. (2018). Le dépistage organisé du cancer colorectal. *Actualités Pharmaceutiques*, 57(577), 24-26.

[17] Hamaker, M. E., Vos, A. G., Smorenburg, C. H., Rooij, S. E., & Munster, B. C. (2012). The value of geriatric assessments in predicting treatment tolerance and all-cause mortality in older patients with cancer. *The oncologist*, 17(11), 1439-1449.

[18] Maggard, M. A., Yermilov, I., Tomlinson, J. S., & Ko, C. Y. (2009). Are 12 nodes needed to accurately stage T1 and T2 colon cancers?. *Digestive diseases and sciences*, 54(3), 640-647.

[19] Gönen, M., Schrag, D., & Weiser, M. R. (2009). Nodal staging score: a tool to assess adequate staging of node-negative colon cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 27(36), 6166.

[20] Ooi, J. H., Li, Y., Rogers, C. J., & Cantorna, M. T. (2013). Vitamin D regulates the gut microbiome and protects mice from dextran sodium sulfate-induced colitis. *The Journal of nutrition*, 143(10), 1679-1686.

[21] Chung, P., Cook, T., Liu, K., Vodovotz, Y., Zamora, R., Finkelstein, S., ... & Blumberg, D. (2003). Overexpression of the human inducible nitric oxide synthase gene enhances radiation-induced apoptosis in colorectal cancer cells via a caspase-dependent mechanism. *Nitric Oxide*, 8(2), 119-126.

[22] Kalia, M. (2015). Biomarkers for personalized oncology: recent advances and future challenges. *Metabolism*, 64(3), S16-S21.

[23] Gorham, E. D., Garland, C. F., Garland, F. C., Grant, W. B., Mohr, S. B., Lipkin, M., ... & Holick, M. F. (2007). Optimal vitamin D status for colorectal cancer prevention: a quantitative Meta analysis. *American journal of preventive medicine*, 32(3), 210-216.

[24] Chandler, P. D., Buring, J. E., Manson, J. E., Giovannucci, E. L., Moorthy, M. V., Zhang, S., ... & Lin, J. H. (2015). Circulating Vitamin D Levels and Risk of Colorectal Cancer in Women. *Cancer prevention research*, 8(8), 675-682.

[25] Ramagopalan, S. V., Heger, A., Berlanga, A. J., Maugeri, N. J., Lincoln, M. R., Burrell, A., ... & Knight, J. C. (2010). A ChIP-seq defined genome-wide map of vitamin D receptor binding: associations with disease and evolution. *Genome research*, 20(10), 1352-1360.

[26] Lin, R., & White, J. H. (2004). The pleiotropic actions of vitamin D. *Bioessays*, 26(1), 21-28.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- [27] Jochum, S. (2012). *Conception et mise en oeuvre d'un service d'activités physiques adaptées pour le comité 54 de la Ligue contre le cancer* (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).
- [28] Binder-Foucard, F., Bossard, N., Delafosse, P., Belot, A., Woronoff, A. S., Remontet, L., & French Network of Cancer Registries (francim). (2014). Cancer incidence and mortality in France over the 1980–2012 period: solid tumors. *Revue d'épidémiologie et de sante publique*, 62(2), 95-108.
- [29] Dionne, S., Calderon, M. R., White, J. H., Memari, B., Elimrani, I., Adelson, B., ... & Seidman, E. G. (2014). Differential effect of vitamin D on NOD2- and TLR-induced cytokines in Crohn's disease. *Mucosal Immunology*, 7(6), 1405-1415.
- [30] Ooi, J. H., Li, Y., Rogers, C. J., & Cantorna, M. T. (2013). Vitamin D regulates the gut microbiome and protects mice from dextran sodium sulfate-induced colitis. *The Journal of nutrition*, 143(10), 1679-1686.
- [31] Barragan, M., Good, M., & Kolls, J. K. (2015). Regulation of dendritic cell function by vitamin D. *Nutrients*, 7(9), 8127-8151.
- [32] Díaz, L., Díaz-Muñoz, M., García-Gaytán, A. C., & Méndez, I. (2015). Mechanistic effects of calcitriol in cancer biology. *Nutrients*, 7(6), 5020-5050.
- [33] Wang, T. T., Dabbas, B., Laperriere, D., Bitton, A. J., Soualiline, H., Tavera-Mendoza, L. E., ... & White, J. H. (2010). Direct and indirect induction by 1, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> of the NOD2/CARD15-defensin  $\beta$ 2 innate immune pathway defective in Crohn disease. *Journal of Biological Chemistry*, 285(4), 2227-2231.
- [34] Zhao, H., Zhang, H., Wu, H., Li, H., Liu, L., Guo, J., ... & Zhang, X. (2012). Protective role of 1, 25 (OH) <sub>2</sub> vitamin D<sub>3</sub> in the mucosal injury and epithelial barrier disruption in DSS-induced acute colitis in mice. *BMC gastroenterology*, 12(1), 1-14.
- [35] Dimitrov, V., & White, J. H. (2016). Species-specific regulation of innate immunity by vitamin D signaling. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 164, 246-253.
- [36] Ananthkrishnan, A. N., Cheng, S. C., Cai, T., Cagan, A., Gainer, V. S., Szolovits, P., & Liao, K. P. (2014). Association between reduced plasma 25-hydroxy vitamin D and increased risk of cancer in patients with inflammatory bowel diseases. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 12(5), 821-827.
- [37] De Robertis, M., Massi, E., Poeta, M. L., Carotti, S., Morini, S., Cecchetelli, L., ... & Fazio, V. M. (2011). The AOM/DSS murine model for the study of colon carcinogenesis: From pathways to diagnosis and therapy studies. *Journal of carcinogenesis*, 10.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- [38] Cooper, H. S., Murthy, S. N., Shah, R. S., & Sedergran, D. J. (1993). Clinicopathologic study of dextran sulfate sodium experimental murine colitis. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 69(2), 238-249.
- [39] Le Duc-Banaszuk, A. S. (2018). Le dépistage organisé du cancer colorectal. *Actualités Pharmaceutiques*, 57(577), 24-26.
- [40] Wang, T. T., Dabbas, B., Laperriere, D., Bitton, A. J., Soualhine, H., Tavera-Mendoza, L. E., ... & White, J. H. (2010). Direct and indirect induction by 1, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> of the NOD2/CARD15-defensin  $\beta$ 2 innate immune pathway defective in Crohn disease. *Journal of Biological Chemistry*, 285(4), 2227-2231.
- [41] Boivin, G. P., Washington, K., Yang, K., Ward, J. M., Pretlow, T. P., Russell, R., ... & Coffey, R. J. (2003). Pathology of mouse models of intestinal cancer: consensus report and recommendations. *Gastroenterology*, 124(3), 762-777.
- [42] Koszewski, N. J., Horst, R. L., & Goff, J. P. (2012). Importance of apical membrane delivery of 1, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> to vitamin D-responsive gene expression in the colon. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 303(7), G870-G878.
- [43] Raman, M., Milestone, A. N., Walters, J. R., Hart, A. L., & Ghosh, S. (2011). Vitamin D and gastrointestinal diseases: inflammatory bowel disease and colorectal cancer. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, 4(1), 49-62.
- [44] Chow, E. C., Quach, H. P., Vieth, R., & Pang, K. S. (2013). Temporal changes in tissue 1 $\alpha$ , 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>, vitamin D receptor target genes, and calcium and PTH levels after 1, 25 (OH) 2D<sub>3</sub> treatment in mice. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 304(9), E977-E989.
- [45] Afrazi, A., Sodhi, C. P., Good, M., Jia, H., Siggers, R., Yazji, I., ... & Hackam, D. J. (2012). Intracellular heat shock protein-70 negatively regulates TLR4 signaling in the newborn intestinal epithelium. *The Journal of Immunology*, 188(9), 4543-4557.
- [46] Soubeyran, P., Fonck, M., Blanc-Bisson, C., Blanc, J. F., Ceccaldi, J., Mertens, C., ... & Rainfray, M. (2012). Predictors of early death risk in older patients treated with first-line chemotherapy for cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 30(15), 1829-1834.
- [47] Aparicio, T., Gargot, D., Teillet, L., Maillard, E., Genet, D., Cretin, J., ... & Jouve, J. L. (2017). Geriatric factors analyses from FFCD 2001-02 phase III study of first-line chemotherapy for elderly metastatic colorectal cancer patients. *European Journal of Cancer*, 74, 98-108.



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

[48] Lagro, J., Timmer-Bonte, J., & Maas, H. A. (2012). Predictors of early death risk in older patients treated with first-line chemotherapy for cancer and the importance of geriatric assessment. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 30(35), 4443-author.

[49] Schulz, R. J., & Kagan, A. R. (2016). Carbon-ion therapy: one more step in the endless quest for the ideal dose distribution. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 95(1), 561.

[50] Häfner, M. F., & Debus, J. (2016). Radiotherapy for colorectal cancer: current standards and future perspectives. *Visceral medicine*, 32(3), 172-177.

[51] Kapiteijn, E., Marijnen, C. A., Nagtegaal, I. D., Putter, H., Steup, W. H., Wiggers, T., ... & Van De Velde, C. J. (2001). Preoperative radiotherapy combined with total mesorectal excision for resectable rectal cancer. *New England Journal of Medicine*, 345(9), 638-646.

[52] Hofheinz, R. D., Wenz, F., Post, S., Matzdorff, A., Laechelt, S., Hartmann, J. T., ... & Hochhaus, A. (2012). Chemoradiotherapy with capecitabine versus fluorouracil for locally advanced rectal cancer: a randomised, multicentre, non-inferiority, phase 3 trial. *The lancet oncology*, 13(6), 579-588.

[53] Chen, C. F., Huang, M. Y., Huang, C. J., Wu, C. H., Yeh, Y. S., Tsai, H. L., ... & Wang, J. Y. (2012). A observational study of the efficacy and safety of capecitabine versus bolus infusional 5-fluorouracil in pre-operative chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer. *International Journal of Colorectal Disease*, 27(6), 727-736.

[54] Hess, V., Winterhalder, R., von Moos, R., Widmer, L., Stocker, P., Jermann, M., ... & Koeberle, D. (2017). Capecitabine and oxaliplatin prior and concurrent to preoperative pelvic radiotherapy in patients with locally advanced rectal cancer: long-term outcome. *Clinical Colorectal Cancer*, 16(3), 240-245.

[55] Isambert, N., Fumoleau, P., Paul, C., Ferrand, C., Zanetta, S., Bauer, J., ... & Bardou, M. (2013). Phase I study of OM-174, a lipid A analogue, with assessment of immunological response, in patients with refractory solid tumors. *BMC cancer*, 13(1), 1-10.

[56] Seignez, C., Martin, A., Rollet, C. E., Racœur, C., Scagliarini, A., Jeannin, J. F., ... & Paul, C. (2014). Senescence of tumor cells induced by oxaliplatin increases the efficiency of a lipid A immunotherapy via the recruitment of neutrophils. *Oncotarget*, 5(22), 11442.

[57] Viaud, S., Théry, C., Ploix, S., Tursz, T., Lapierre, V., Lantz, O., ... & Chaput, N. (2010). Dendritic Cell-Derived Exosomes for Cancer Immunotherapy: What's Next? Dendritic Cell-Derived Exosomes Immunotherapy. *Cancer research*, 70(4), 1281-1285.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

[58] Pardoll, D. M. (2012). The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nature Reviews Cancer*, 12(4), 252-264.

[59] Plenchette, S., Romagny, S., Laurens, V., & Bettaieb, A. (2015). S-Nitrosylation in TNF superfamily signaling pathway: Implication in cancer. *Redox Biology*, 6, 507-515.

[60] Brahmer, J. R., Tykodi, S. S., Chow, L. Q., Hwu, W. J., Topalian, S. L., Hwu, P., ... & Gupta, A. (2012). Wigginton JM.

[61] Bokemeyer, C., Köhne, CH, Ciardiello, F., Lenz, HJ, Heinemann, V., Klinkhardt, U., ... & Tejpar, S. (2015). Traitement FOLFOX4 plus cetuximab et mutations RAS dans le cancer colorectal. *Journal européen du cancer*, 51 (10), 1243-1252.

[62] Degirmenci, M., Karaca, B. E. T. Ü. L., Gorumlu, G., Durusoy, R., Demir Piskin, G., Bozkurt, M. T., ... & Uslu, R. (2010). Efficacy and safety of bevacizumab plus capecitabine and irinotecan regimen for metastatic colorectal cancer. *Medical Oncology*, 27(3), 585-591.

[63] Gupta, GS (2012). *Les lectines animales : forme, fonction et applications cliniques*. Springer Science et médias d'affaires.

[64] Kim, G. E., Bae, H. I., Park, H. U., Kuan, S. F., Crawley, S. C., Ho, J. J., & Kim, Y. S. (2002). Aberrant expression of MUC5AC and MUC6 gastric mucins and sialyl Tn antigen in intraepithelial neoplasms of the pancreas. *Gastroenterology*, 123(4), 1052-1060.

[65] Baldus, SE, Wienand, JR, Werner, JP, Landsberg, S., Drebber, U., Hanisch, FG et Dienes, HP (2005). Expression des épitopes MUC1, MUC2 et oligosaccharidiques dans le cancer du sein : signification pronostique d'un épitope MUC1 sialylé. *Journal international d'oncologie*, 27 (5), 1289-1297.

[66] Varki, A., Cummings, RD, Esko, JD, Stanley, P., Hart, GW, Aebi, M., ... & Seeberger, PH (2015). L'essentiel de la glycobiole [internet].

[67] Nio-Kobayashi, J. (2017). Localisation spécifique aux tissus et aux cellules des galectines, des lectines animales liant le  $\beta$ -galactose et de leurs fonctions potentielles dans la santé et la maladie. *Sciences anatomiques internationales*, 92 (1), 25-36.

[68] Suthahar, N., Meijers, WC, Silljé, HH, Ho, JE, Liu, FT et de Boer, RA (2018). Activation et inhibition de la galectine-3 dans l'insuffisance cardiaque et les maladies cardiovasculaires : une mise à jour. *Théranostique*, 8 (3), 593.

[69] Funasaka, T., Raz, A. et Nangia-Makker, P. (2014, août). Transport nucléaire de la galectine-3 et ses implications thérapeutiques. Dans *Séminaires de biologie du cancer* (Vol. 27, pp. 30-38). Presse académique.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

[70] Ahmad, N., Gabius, HJ, André, S., Kaltner, H., Sabesan, S., Roy, R., ... & Brewer, CF (2004). La galectine-3 précipite sous forme de pentamère avec des glucides multivalents synthétiques et forme des complexes réticulés hétérogènes. *Tourillon de chimie biologique* , 279 (12), 10841-10847.

[71] Coppin, L. (2012). *Rôle de la galectine-3 dans la régulation de l'expression des mucines membranaires MUC1 et MUC4 dans un modèle d'adénocarcinome pancréatique canalaire humain* (Doctoral dissertation).

[72] En ligne Krześlak, A., & Lipińska, A. (2004). Galectine-3 en tant que protéine multifonctionnelle. *Cell Mol Biol Lett* , 9 (2), 305-28.

[73] Pasmatzis, E., Papadionysiou, C., Monastirli, A., Badavanis, G. et Tsambaos, D. (2019). Galectine 3 : une protéine multifonctionnelle extraordinaire en dermatologie. Connaissances actuelles et perspectives. *Anais brasileiros de dermatologia* , 94 , 348-354.

[74] Dumić, J., Dabelić, S., & Flögel, M. (2006). Galectine-3 : une histoire ouverte. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Sujets généraux* , 1760 (4), 616-635.

[75] Sciacchitano, S., Lavra, L., Morgante, A., Ulivieri, A., Magi, F., De Francesco, GP, ... & Ricci, A. (2018). Galectine-3 : une molécule pour un alphabet de maladies, de A à Z. *Journal international des sciences moléculaires* , 19 (2), 379.

[76] Menini, S., Iacobini, C., Blasetti Fantauzzi, C., Pesce, CM et Pugliese, G. (2016). Rôle de la galectine-3 dans l'obésité et l'altération de l'homéostasie du glucose. *Médecine oxydative et longévité cellulaire* , 2016 .

[77] Hara, A., Niwa, M., Noguchi, K., Kanayama, T., Niwa, A., Matsuo, M., ... & Tomita, H. (2020). Galectine-3 en tant que biomarqueur de nouvelle génération pour détecter le stade précoce de diverses maladies. *Biomolécules* , 10 (3), 389.

[78] Iacobini, C., Blasetti Fantauzzi, C., Pugliese, G. et Menini, S. (2017). Rôle de la galectine-3 dans la différenciation des cellules osseuses, la physiopathologie osseuse et l'ostéogenèse vasculaire. *Journal international des sciences moléculaires* , 18 (11), 2481.

[79] Thomas, L., & Pasquini, LA (2018). La diaphonie gliale médiée par la galectine-3 entraîne la différenciation et la (re) myélinisation des oligodendrocytes. *Frontières en neurosciences cellulaires* , 12 , 297.

[80] Suthahar, N., Meijers, WC, Silljé, HH, Ho, JE, Liu, FT et de Boer, RA (2018). Activation et inhibition de la galectine-3 dans l'insuffisance cardiaque et les maladies cardiovasculaires : une mise à jour. *Théranostique* , 8 (3), 593.

[81] Ruvolo, P. P. (2016). Galectin 3 as a guardian of the tumor microenvironment. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1863(3), 427-437.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

[82] Dunic, J., Dabelic, S., & Flögel, M. (2006). Galectine-3 : une histoire ouverte. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Sujets généraux*, 1760 (4), 616-635.

[83] Lin, HM, Pestell, RG, Raz, A. et Kim, HRC (2002). La galectine-3 améliore l'activité du promoteur de la cycline D1 via SP1 et un élément sensible à l'AMPc dans les cellules épithéliales mammaires humaines. *Oncogène*, 21 (52), 8001-8010.

[84] Kim, S. J., Lee, H. W., Gu Kang, H., La, S. H., Choi, I. J., Ro, J. Y., ... & Chun, K. H. (2014). Ablation of galectin-3 induces p27KIP1-dependent premature senescence without oncogenic stress. *Cell Death & Differentiation*, 21(11), 1769-1779.

[85] Cardoso, A. C. F., Andrade, L. N. D. S., Bustos, S. O., & Chammas, R. (2016). Galectin-3 determines tumor cell adaptive strategies in stressed tumor microenvironments. *Frontiers in oncology*, 6, 127.

[86] Porchet, N., & Aubert, J. P. (2004). Les gènes-MUC Mucin or not mucin? That is the question. *médecine/sciences*, 20(5), 569-574.

[87] Patton, S., Gendler, SJ et Spicer, AP (1995). La mucine épithéliale, MUC1, du lait, de la glande mammaire et d'autres tissus. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Biomembranes*, 1241 (3), 407-423.

[88] Hatstrup, CL et Gendler, SJ (2008). Structure et fonction des mucines de surface cellulaire (attachées). *Annu. Rév. Physiol.*, 70, 431-457.

[89] Hatstrup, CL, Fernandez-Rodriguez, J., Schroeder, JA, Hansson, GC et Gendler, SJ (2004). MUC1 peut interagir avec la polypose adénomateuse du coli dans le cancer du sein. *Communications de recherche biochimique et biophysique*, 316 (2), 364-369.

[90] Kufe, DW (2013). L'oncoprotéine MUC1-C comme cible dans le cancer du sein : activation des voies de signalisation et approches thérapeutiques. *Oncogène*, 32 (9), 1073-1081.

[91] Bitler, BG, Menzl, I., Huerta, CL, Sands, B., Knowlton, W., Chang, A. et Schroeder, JA (2009). Les peptides intracellulaires MUC1 inhibent la progression du cancer. *Recherche clinique sur le cancer*, 15 (1), 100-109.

[92] Thompson, EJ, Shanmugam, K., Hatstrup, CL, Kotlarczyk, KL, Gutierrez, A., Bradley, JM, ... & Gendler, SJ (2006). Les tyrosines dans la queue cytoplasmique de MUC1 modulent la transcription via les voies extracellulaires régulées par le signal kinase 1/2 et le facteur nucléaire- $\kappa$ B. *Recherche moléculaire sur le cancer*, 4 (7), 489-497.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

[93] Wei, X., Xu, H. et Kufe, D. (2005). L'oncoprotéine humaine MUC1 régule la transcription du gène sensible à p53 dans la réponse au stress génotoxique. *Cellule cancéreuse*, 7 (2), 167-178.

[94] Schroeder, JA, Thompson, MC, Gardner, MM et Gendler, SJ (2001). MUC1 transgénique interagit avec le récepteur du facteur de croissance épidermique et est en corrélation avec l'activation de la protéine kinase activée par les mitogènes dans la glande mammaire de la souris. *Tourillon de chimie biologique*, 276 (16), 13057-13064.

[95] Baldus, SE, Wienand, JR, Werner, JP, Landsberg, S., Drebber, U., Hanisch, FG et Dienes, HP (2005). Expression des épitopes MUC1, MUC2 et oligosaccharidiques dans le cancer du sein : signification pronostique d'un épitope MUC1 sialylé. *Journal international d'oncologie*, 27 (5), 1289-1297.

[96] Ahmad, R., Rajabi, H., Kosugi, M., Joshi, MD, Alam, M., Vasir, B., ... & Kufe, D. (2011). L'oncoprotéine MUC1-C favorise l'activation de STAT3 dans une boucle de régulation autoinductive. *Signalisation scientifique*, 4 (160), ra9-ra9.

[97] Carraway, KL, Ramsauer, vice-président, et Carothers Carraway, Californie (2005). Contributions des glycoprotéines à la structure et à la fonction de la glande mammaire et de la tumeur mammaire : rôles des jonctions adhérentes, des ErbB et des MUC membranaires. *Tourillon de biochimie cellulaire*, 96 (5), 914-926.

[98] Singh, PK et Hollingsworth, MA (2006). Mucines associées à la surface cellulaire dans la transduction du signal. *Tendances en biologie cellulaire*, 16 (9), 467-476.

[99] Colomb, F., Wang, W., Simpson, D., Zafar, M., Beynon, R., Rhodes, JM et Yu, LG (2017). La galectine-3 interagit avec la glycoprotéine de surface cellulaire CD146 (MCAM, MUC18) et induit la sécrétion de cytokines favorisant les métastases à partir des cellules endothéliales vasculaires. *Tourillon de chimie biologique*, 292 (20), 8381-8389.

[100] Chen, C., Duckworth, CA, Zhao, Q., Pritchard, DM, Rhodes, JM et Yu, LG (2013). L'augmentation de la circulation de la galectine-3 dans le cancer induit la sécrétion de cytokines favorisant les métastases à partir de l'endothélium vasculaire sanguin La galectine circulante-3 induit la sécrétion de cytokines favorisant les métastases. *Recherche clinique sur le cancer*, 19 (7), 1693-1704.

[101] Murugaesu, N., Irvani, M., Van Weverwijk, A., Ivetic, A., Johnson, D. A., Antonopoulos, A., ... & Isacke, C. M. (2014). An In Vivo Functional Screen Identifies ST6GalNAc2 Sialyltransferase as a Breast Cancer Metastasis Suppressor An In Vivo Functional RNAi Late-Stage Metastasis Screen. *Cancer discovery*, 4(3), 304-317.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

[102] Kim, SW, Roh, J. et Park, CS (2016). Immunohistochimie pour les pathologistes : protocoles, pièges et astuces. *Journal de pathologie et de médecine translationnelle* , 50 (6), 411-418.

[103] McCabe, M., Perner, Y., Magobo, R., Magangane, P., Mirza, S. et Penny, C. (2019). L'évaluation de l'instabilité des microsatellites chez les patients noirs sud-africains atteints d'un cancer colorectal révèle une incidence accrue de suspicion de syndrome de Lynch. *Rapports scientifiques* , 9 (1), 1-10.

[104] Kassem, NM, Emera, G., Kassem, HA, Medhat, N., Nagdy, B., Tareq, M., ... & El Metenawy, WH (2019). Caractéristiques clinicopathologiques des patients égyptiens atteints de cancer colorectal concernant les mutations génétiques somatiques, en particulier dans le gène KRAS et l'état d'instabilité des microsatellites : une étude pilote. *Journal égyptien de génétique humaine médicale* , 20 (1), 1-9.

[105] Steinmetz, J., Spyckerelle, Y., Guéguen, R., & Dupré, C. (2007). Le tabac et l'alcool augmentent le risque d'adénomes et de cancers colorectaux: Étude comparant 3 292 cas avec 5 456 témoins dans une population à risque moyen ayant eu un test de dépistage de sang dans les selles positif. *La Presse Médicale*, 36(9), 1174-1182.

[106] 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. *Journal Africain du Cancer/African Journal of Cancer*, 7(2), 95-99.

[107] Dembélé, Z. (2021). *Plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel de la douleur au M* (Doctoral dissertation, USTTB).

[108] Pan, B., Qin, J., Liu, X., He, B., Wang, X., Pan, Y., ... & Wang, S. (2019). Identification du sérum exosomal hsa-circ-0004771 comme nouveau biomarqueur diagnostique du cancer colorectal. *Frontières en génétique* , 10 , 1096.

[109] Pennison, MJ (2015). *La Signalisation Du Récepteur Bêta Du Facteur De Croissance Transformant 1 (TGFBRI) Constitutivement Diminué Modifie La Prédisposition Au Cancer Colorectal* (Dissertation De Doctorat, Northwestern University).

[110] Atef, N., Alieldin, N., Sherif, G., Loay, I., Mahmoud, AM et Mohamed, G. (2020). Instabilité des microsatellites et facteurs de style de vie dans le cancer colorectal sporadique. *Journal Asie-Pacifique de prévention du cancer : APJCP* , 21 (5), 1471.

[111] Belhamidi, M. S., Sinaa, M., Kaoukabi, A., Krimou, H., Menfaa, M., Sakit, F., & Choho, A. (2018). Profil épidémiologique et anatomopathologique du cancer colorectal: à propos de 36 cas. *Pan African Medical Journal*, 30(1).

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

[112] Kikuchi, T., Mimura, K., Okayama, H., Nakayama, Y., Saito, K., Yamada, L., ... & Kono, K. (2019). Un sous-ensemble de patients atteints d'un cancer colorectal faible MSS/MSI a montré une augmentation des TIL CD8 (+) ainsi qu'une IFN- $\gamma$  régulée à la hausse. *Lettres d'oncologie*, 18 (6), 5977-5985.

[113] Stojkovic Lalosevic, M., Pavlovic Markovic, A., Stankovic, S., Stojkovic, M., Dimitrijevic, I., Radoman Vujacic, I., ... & Krivokapic, Z. (2019). Efficacité diagnostique combinée du rapport neutrophiles/lymphocytes (NLR), du rapport plaquettes/lymphocytes (PLR) et du volume plaquettaire moyen (MPV) comme biomarqueurs de l'inflammation systémique dans le diagnostic du cancer colorectal. *Marqueurs de maladies*, 2019.

[114] Bedouhene, A., Chouikh, F. Z., Rechreche, H. E., & Bencharif, S. (2017). Profil épidémiologique et anatomopathologique du cancer colorectal dans la wilaya de Jijel (Doctoral dissertation, Université de jijel).

[115] Haddon, L., & Hugh, J. (2015). MUC1-mediated motility in breast cancer: a review highlighting the role of the MUC1/ICAM-1/Src signaling triad. *Clinical & experimental metastasis*, 32(4), 393-403.

[116] Tao, L., Jin, L., Dechun, L., Hongqiang, Y., Changhua, K., & Guijun, L. (2017). Galectin-3 expression in colorectal cancer and its correlation with clinical pathological characteristics and prognosis. *Open Medicine*, 12(1), 226-230.

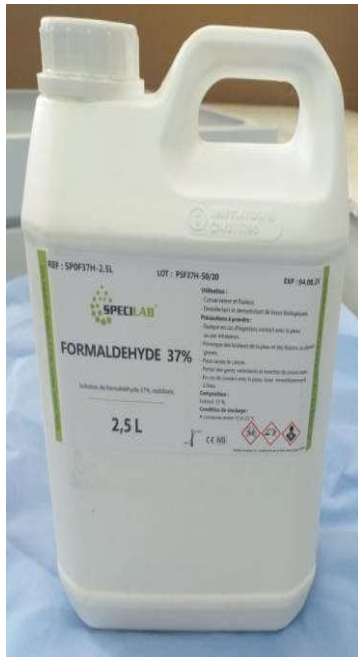
[117] Wang, H. S., & Wang, L. H. (2015). The expression and significance of Gal-3 and MUC1 in colorectal cancer and colon cancer. *OncoTargets and therapy*, 8, 1893.

[118] Del Arco, C. D., Garré, P., Roldán, E. M., Lorca, V., Nieto, M. Á. C., & Aceñero, M. J. F. (2018). MUC1 expression in colorectal carcinoma: clinicopathological correlation and prognostic significance. *Revista Española de Patología*, 51(4), 204-209.

# ANNEXE I. REACTIFS, MATERIEL ET APPAREILLAGES

## REACTIFS

**Formol 10%**



**Paraffine**



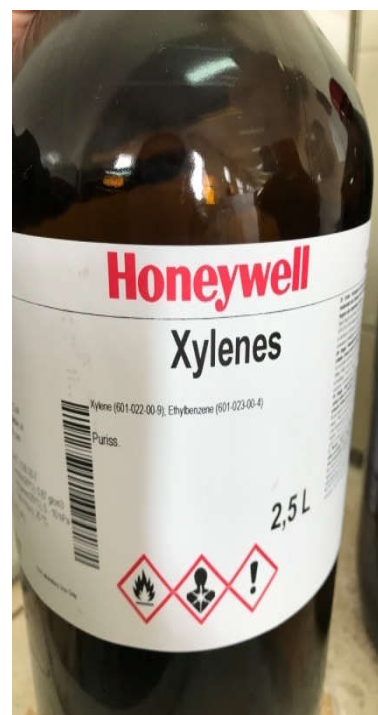
**Alcool**



**Hématoxyline**



**Xylène**



**Eosine**





**Eukitt**



**Tris-buffer saline  
solution containing  
tween (TBS-T)**



**Peroxyde d'hydrogène  
H2O2**



**TRS**



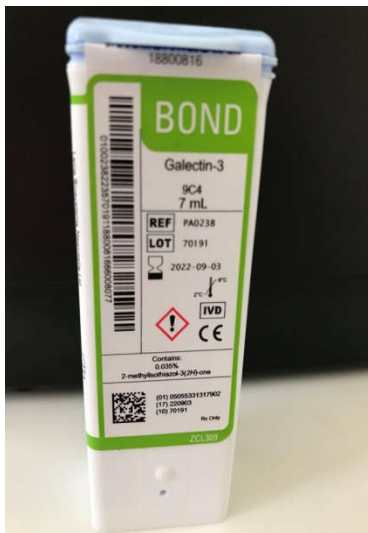
**Diaminobenzidine (DAB)**



**Hématoxyline de Meyer**



**Gal 3**



**Muc 1**



# ANNEXES

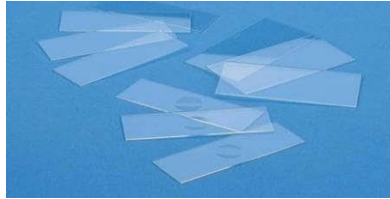
---

## MATERIEL

**Cassettes en plastique**



**Lames**



**Lamelles**



**Lames silanisés**



**Moules**



**Dako Pen (stylo hydrophobe)**



# ANNEXES

## APPAREILLAGES

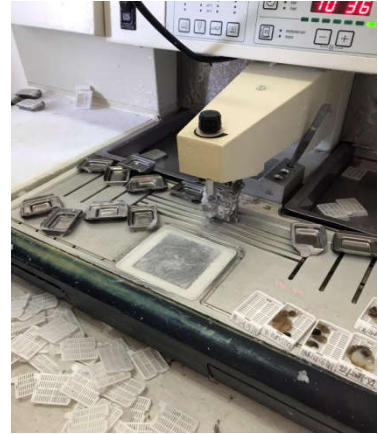
**Etuve**



**Appareil de déshydratation (Leica)**



**Appareil d'enrobage (Leica)**



**Microtome(Leica)**



**Automate Ventana**



**Bain marie**



**Hotte**



**Microscope**



**Plaque chauffante**



# ANNEXES

## Annexe II. PROTOCOLE DE MANIPULATION

### Coloration par l'hématoxyline- éosine HE

#### A. Fixation



Figure 1 : colon dans le formol 10%.

#### B. Etude macroscopique



Figure 2 : examen macroscopique d'un colon

### C. Déshydratation



Figure 3: Déshydratation des prélèvements.

### D. Enrobage



Figure 4: illustration des étapes d'enrobage.

**E. Coupes par microtome et étalement**



**Figure 5 : coupes par microtome et étalement.**

**F. Etapes de coloration**



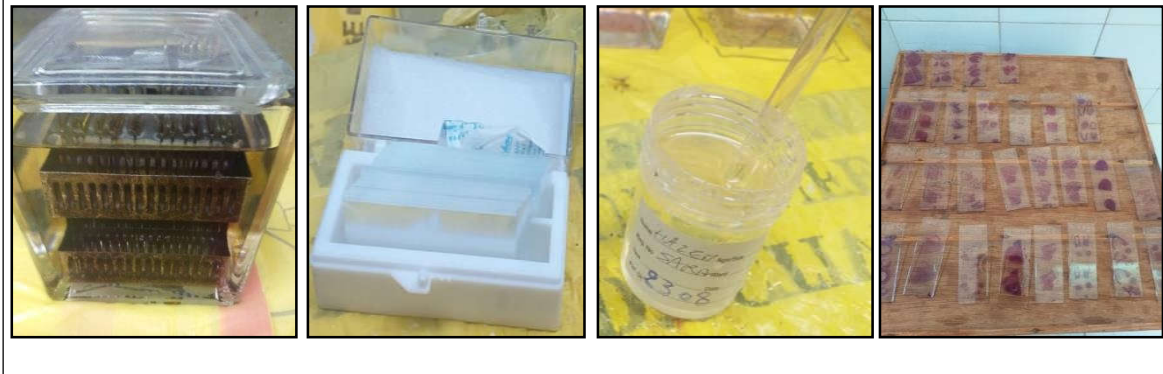
**Figure 5 : coloration HE.**

## ANNEXES

**Tableau 1** : les différentes étapes de coloration HE.

<b>Produit</b>	<b>Temps</b>	<b>But</b>
Xylène	5 min	Déparaffiner pour que les colorants puissent pénétrer le tissu.
Alcool 100%	5 min	Pour enlever l'excès du xylène.
Alcool 90%	3min	
Alcool 80%	3min	
Eau de rinçage	10 min	Blanchissement (faire disparaître la couleur jaune des Lames).
Hématoxyline	5 min	Coloration des noyaux.
Eau de rinçage	10 min	Disparition de la couleur bleu des bords des lames.
Eosine	5min	Coloration du cytoplasme.
Eau de rinçage	10 min	Disparition de la couleur rouge des bords des lames.
Alcool	30 sec	Déshydratation.
Xylène	15 min	Eclaircissement des lames.

### G. Montage



**Figure 6** : illustration de l'étape de montage.

# ANNEXES

## ANNEXE III Immunohistochimie

### A. Déparaffinage



Figure 7 : étape de déparaffinage.

### B. Démasquage thermique

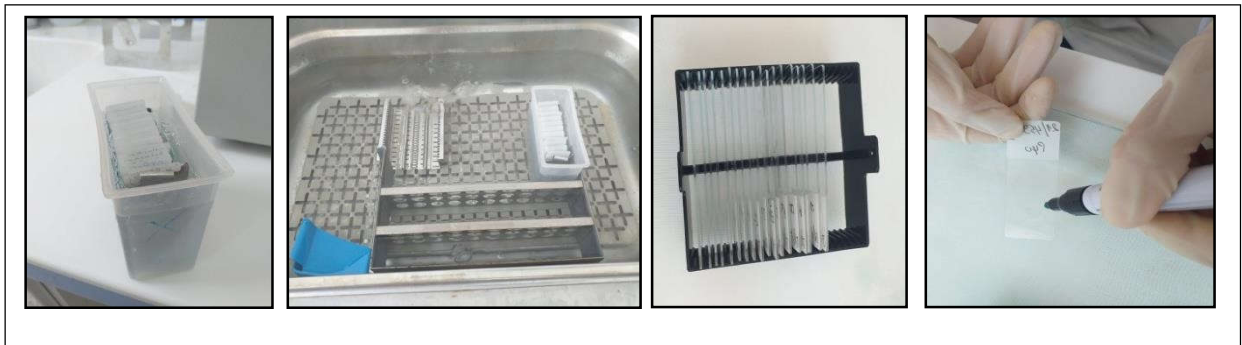


Figure 8 : illustration des étapes de démasquage thermique.

### C. Blocage de peroxydase endogène



Figure 9 : addition de quelques gouttes de peroxyde d'hydrogène



### D. Marquage par l'Anticorps primaire

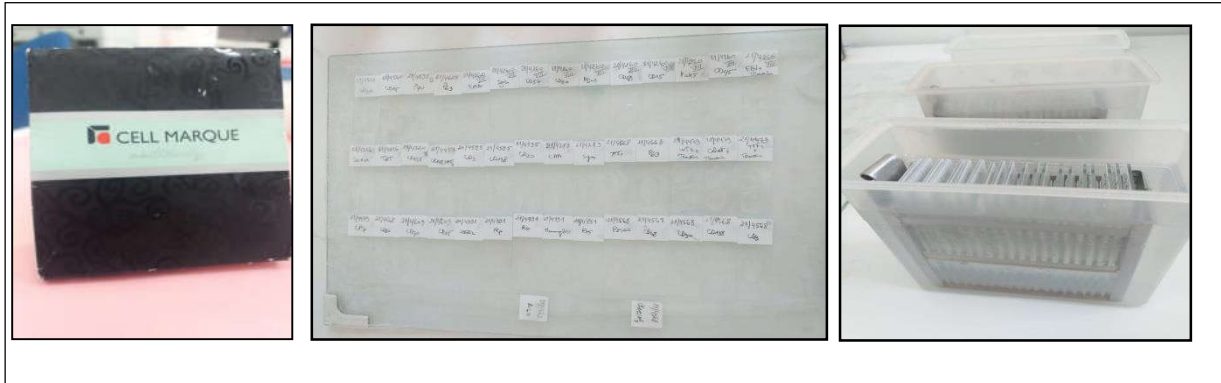


Figure 10 : addition de quelques gouttes d'AC primaire.

### E. Révélation par le système (HRP)



Figure 11 : l'ajoute de quelques gouttes de peroxydase de raifort.

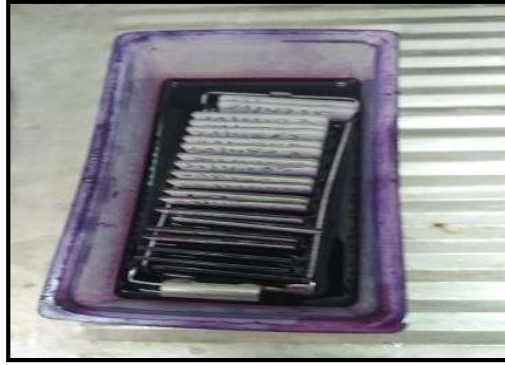
### F. Application du chromogène DAB :



Figure 12 : Addition de quelques gouttes du chromogène Diaminobenzidine.

## ANNEXES

### G. contre coloration



**Figura13** : plongement des lames dans un bac de l'Hématoxyline de Mayer .

### H. Montage



**Figure 14** : montage des lames avec lamelles avec la colle et l'eau distillée.