

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET  
DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE DE BLIDA 1  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE & DE LA VIE  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE  
CELLULAIRE

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de  
Master

Option: bio-signalisation cellulaire et moléculaire, génétique du cancer



**Thème**

**Intérêt du marquage de la protéine B-Raf<sup>V600E</sup> dans  
le typage du carcinome papillaire thyroïdien par  
étude immunohistochimique**

Présenté par : **SADIA SABRINA**

**SELMANI AMEL**

Soutenu le 22/09/2016 devant le jury composé de :

M <sup>me</sup> RAHIM I.	MAA	Université de Blida	Présidente
M <sup>me</sup> HANNACHI L.	MCA	Faculté de Médecine Université Alger	Examinatrice
M <sup>me</sup> MAMERI S.	Professeur	Faculté de Médecine Université Alger	promotrice
M <sup>me</sup> BENZAZZOUZ F.	MAA	Université de Blida	Co-Promotrice

2015/2016

## Remerciements

Au terme de ce travail, nous voudrions tout d'abord remercier الله, de nous avoir donné la foi et le courage durant cette longue année.

Nos vifs remerciements et profonde gratitude s'adressent à notre promotrice M<sup>me</sup> MAMERI S. et co-promotrice M<sup>me</sup> BENAZZOUZ F. pour leur aide, leur orientation, leur patience et leur disponibilité.

Nos vifs remerciements vont tout d'abord à M<sup>me</sup> RAHIM I. et M<sup>me</sup> HANNACHI L. Pour l'honneur qu'elles nous ont fait d'avoir acceptées de juger ce travail.

Nous voulons exprimer nos sincères remerciements à nos tuteurs de stage au service d'anatomie pathologique «CHU MUSTAPHA PACHA» pour tout le temps qu'ils nous ont consacré, leurs directives précieuses et pour la qualité de leur suivi durant toute la période de notre stage.

Nous dédions ce modeste travail à nos très chers parents, on les remercie chaleureusement pour leur aide, soutien et encouragement tout au long de nos études. Que Dieu nous les garde.

Nos remerciements vont enfin à toute personne qui a contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

## Liste des figures

---

<b>Figure 01</b>	Vue antérieure de la glande thyroïde.	5
<b>Figure 02</b>	Aspect histologique de la thyroïde.	7
<b>Figure 03</b>	Structure des hormones thyroïdiennes et leurs précurseurs.	9
<b>Figure 04</b>	Représentation schématique des étapes de biosynthèse des hormones thyroïdiennes.	10
<b>Figure 05</b>	Mécanisme de régulation de l'activité thyroïdienne.	11
<b>Figure 06</b>	Histologie d'aspect microscopique d'un CPT classique.	14
<b>Figure 07</b>	Structure schématique de BRaf.	17
<b>Figure 08</b>	Structure schématique de BRaf <sup>V600E</sup> .	19
<b>Figure 09</b>	Activation de la voie MAPK via RAS, RET/PTC et BRaf.	20
<b>Figure10</b>	Schémas explicatives de la voie MAPK en cas pathologique et En cas du traitement.	23
<b>Figure 11</b>	Répartition des patients selon le sexe	33
<b>Figure 12</b>	Répartition des cas selon l'âge.	34
<b>Figure 13</b>	Répartition des cas selon le type du prélèvement.	35
<b>Figure 14</b>	Répartition des cas selon les types histologique.	36
<b>Figure 15</b>	Aspect microscopique d'un carcinome papillaire classique de la thyroïde.	37
<b>Figure 16</b>	Variante vésiculaire du carcinome papillaire.	38
<b>Figure 17</b>	Micro carcinome papillaire thyroïdien.	39
<b>Figure 18</b>	Variante trabéculaire/solide du carcinome papillaire de la thyroïde.	40
<b>Figure 19</b>	Expression du BRaf <sup>V600E</sup> au niveau cytoplasmique dans les variantes du carcinome papillaire de la thyroïde détecté par l'immunohistochimie.	41

## Liste des figures

---

<b>Figure 20</b>	Histologie d'aspects microscopique des principales variantes du CPT classique.	60
<b>Figure 21</b>	Aspect macroscopique d'un nodule thyroïdien d'un patient atteint d'un CPT	62
<b>Figure 22</b>	Appareillages pour réaliser la déshydratation et l'inclusion en paraffine.	62
<b>Figure 23</b>	Emplacement du tissu dans le moule de paraffine.	63
<b>Figure 24</b>	Découpé le bloc par un microtome.	63
<b>Figure 25</b>	Coloration à l'HE.	63
<b>Figure 26</b>	Montage à l'Eukit.	63
<b>Figure 27</b>	Etude microscopique.	64
<b>Figure 28</b>	Système médical VENTANA.	64
<b>Figure 29</b>	Principales réactifs utilisées dans le système médical VENTANA pour la détection de B-Raf <sup>V600E</sup>	65

## Liste des tableaux

---

<b>Tableau 01</b>	Classification histologique de l'OMS 2004.	58
<b>Tableau 02</b>	Principales altérations génétiques.	58
<b>Tableau 03</b>	Groupement par stades.	59
<b>Tableau 04</b>	Classification pTNM actualisée en 2010.	59
<b>Tableau 05</b>	Caractéristiques des patients de la série.	61
<b>Tableau 06</b>	Répartition des patients selon le sexe.	66
<b>Tableau 07</b>	Répartition des patients selon l'âge.	66
<b>Tableau 08</b>	Répartition des cas selon le type du prélèvement.	66
<b>Tableau 09</b>	Répartition des cas selon les types histologique.	66

## Liste des abréviations

---

- AC** : Anticorps.
- AIT** : Apical iodide Transporter.
- Ag** : Antigène.
- AKT** : Protéine kinase B.
- ARN<sub>m</sub>** : Acides ribonucléiques messagers.
- ATP** : Adenosine triphosphate.
- B-Raf**: V-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1.
- Ca<sup>++</sup>** : Calcium.
- CHU** : Centre Hospitalier Universitaire.
- CPT** : Carcinome papillaire de la thyroïde.
- CR (1,2,3)**: Régions conservées (1,2,3).
- CNK** : Connector Enhancer of Kinase suppressor of RAS.
- DAB** : Chromogénédiaminobenzidine.
- DIT** : Di-Iodotyrosine.
- ERK** : Extracellular signal-Regulated Kinases.
- G** : Grossissement.
- GDP** : Guanosinediphosphate.
- Grb2** : Growth factor receptor-bound protein 2.
- GTP** : Guanosine triphosphate.
- HE** : HematoxylineEosine.
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Hydroxyde d'Hydrogène.
- HT** : Hormones Thyroïdiennes.
- I<sup>-</sup>** : Iodures.
- I<sup>131</sup>** : Radioactive iodine 131.
- IHC** : Immunohistochimie.
- KSR** : kinase suppressor of ras.
- MAPK**: Mitogen-Activated Protein Kinases.
- MEK** : Mitogen-activated protein kinase 1.
- MIT** : Mono-Iodotyrosine.

## Liste des abréviations

---

**Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATP<sub>ase</sub>**: Pompe sodium-potassium adenosine triphosphatase.

**NIS** : Symporteur iodure, sodium.

**OMS** : Organisation mondiale de la santé.

**PAP** : Peroxydase anti-peroxydase.

**PBS** : Phosphate buffered saline.

**PDGF** : Platelet-derived growth factor.

**PI3K** : Phosphatidyl-inositol-3 Kinase.

**PP2A** : Protein Phosphatase 2A.

**PTC** : papillary thyroid carcinoma.

**PTEN** : Phosphatase and tensin homolog.

**pTNM** : Patologietumor adénopathie métastase.

**RAS** : Rat sarcoma oncogene; a transforming Oncogene.

**RET/PTC**: Rearrangement during transfection/ procalcitonie.

**SOS** : Son of Sevenless.

**T3** : Triiodothyronine.

**T4** : Tétraiodothyronine (thyrotoxine).

**TBS** : Totally burned synapses.

**Tg** : Thyroglobuline.

**TGB** : Thyroxine binding globulin.

**TK** : Thyrosine kinase.

**TPO** : Thyroperoxydase.

**TRH** : Thyreotropin releasing hormone.

**TRK** : Recepteur à thyrosine kinase.

**TSH** : Thyroïd stimulating hormone.

**UH** : University Hospital.

**VEGF** : Vascular endothelial growth factor.

## Résumé

---

B-Raf<sup>V600E</sup>, étant le gène le plus fréquemment muté au cours du carcinome papillaire de la thyroïde (CPT), son expression est significative dans certaines variantes de ce carcinome et absente dans d'autres variantes. L'objectif de notre étude est la mise en évidence de cette protéine mutée B-Raf<sup>V600E</sup> dans le typage des variantes du CPT par technique d'immuno-histochimie.

Notre travail été basé sur 40 cas de CPT colligés durant 5 ans (2011-2016) réalisée au Service d'Anatomie Pathologique du CHU MUSTAPHA PACHA d'ALGER, durant notre stage pratique qui c'est étalé sur une période de 6 mois allant de janvier à juin 2016 nous avons dans un premier temps, réalisé une analyse histologique des lames qui nous a permis de révéler l'existence de modifications au sein des noyaux présentant des caractéristiques typiques du CPT et, identifier les différentes variantes de ce carcinome. Par la suite nous avons pu mettre en évidence l'expression de la protéine mutée B-Raf sur trois cas seulement vu la non disponibilité du kit.

La population étudiée est représentée par 40 patients avec une prédominance féminine de 97,5%, et un âge moyen est de 43,63 ans. Le prélèvement le plus réalisé est la thyroïdectomie totale dans 77,5% des cas (31 cas). Le CPT classique, généralement, est caractérisé histologiquement par une architecture papillaire. Les cinq variantes observées parmi les 40 cas ont une architecture tumorale différente mais elles ont en commun un aspect nucléaire caractéristique. La variante histologique du CPT la plus représentée est la variante vésiculaire soit 35% des cas.

L'expression cytoplasmique du B-Raf<sup>V600E</sup> est positive montrant une expression uniforme cytoplasmique dans deux variantes : CPT classique de forte coloration (3+) et le micro-carcinome papillaire avec une coloration modérée (2+) à l'encontre de la variante vésiculaire du CPT dont l'immunomarquage été négatif.

Par conséquent, l'IHC a une haute valeur pratique pour la détection de la mutation B-Raf<sup>V600E</sup> dans certaines variantes du carcinome papillaire de la thyroïde.

### **Mot clés :**

Carcinome papillaire thyroïdien – Variantes du CPT – mutation B-Raf<sup>V600E</sup> – Histologie – IHC.



## Abstract

---

B-Raf<sup>V600E</sup>, being the most frequently mutated gene in papillary carcinoma of the thyroid (PTC), its expression is important in some variants of this carcinoma and absent in other variants. The objective of this study is the identification of the gene B-Raf<sup>V600E</sup> in typing PTC variants by immuno-histochemistry technics.

Our study focuses on 40 PTC cases among of 5 years (2011-2016) made in the Pathology Unit of UH Mustapha Pasha ALGIERS, over a period of six months from January to June 2016. First, histological analysis of the slides is made to reveal the presence of modifications cores consisting of typical changes in the PTC, and to identify the different variants of this carcinoma. Eventually we were able to demonstrate the expression of the mutated B-Raf protein in three cases only, seen the non-availability of the kit.

Our study of a population from 40 patients shows a feminine predominance of 97,5%, the average age is 43.63 years. The most frequent surgical specimens are total thyroidectomies which represent 77.5% (31 cases). The classic PTC is generally characterized histologically by papillar architecture. Five variants observed in 40 cases have different tumor architecture but they have in common a nuclear characteristic appearance. The histological appearance of the most represented PTC is the follicular variant for 35% of cases.

The cytoplasmic expression of the B-Raf<sup>V600E</sup> is positive showed a uniform cytoplasmic expression in two variants: Classical PTC with a strong staining (3+) and in Micro-papillary carcinoma with a moderate staining (2+) against vesicular variant PTC whose immunostaining was negative.

Therefore, IHC has a high practical value to the detection of the mutation B-Raf<sup>V600E</sup> in some variants of the papillary thyroid carcinoma.

### **Keywords**

Papillary thyroid carcinoma - PTC variants – B-Raf<sup>V600E</sup> - Histology – IHC.

B-Raf<sup>V600E</sup>، الذي يعدّ من الجينات الأكثر طفرة تشخيصاً في سرطان حليمي الغدة الدرقية ، بحيث يكون تشخيصه على مستوى بعض أنواع هذا السرطان بمعدل اكبر و يكون منعدم في الأنواع الأخرى للسرطان.

الهدف من هذه الدراسة: التعرف على أهمية الجين B-Raf<sup>V600E</sup> في تشخيص أنواع السرطان الحليمي للغدة الدرقية باستعمال تقنية تحليل الكيمياء النسيجية المناعية.

دراستنا تتمحور حول 40 شخص مصاب بالسرطان الحليمي للغدة الدرقية على مدى 5 سنوات (2011-2016) أجريت في القسم التشريحي بالمستشفى الجامعي مصطفى باشا في الجزائر العاصمة لمدة 6 أشهر من شهر جانفي إلى شهر جوان 2016 ، التحاليل النسيجية للشفرات كانت بهدف الكشف عن تواجد تغيرات في مستوى الانوية التي تشخص عن السرطان الحليمي للغدة الدرقية مع تحديد مختلف أنواعه. ولعدم توفر الجسم المضاد لطفرة BRaf<sup>V600</sup> E بكمية معتبرة قمنا بالتشخيص عن وجود الطفرة على مستوى ثلاث أنواع فقط للسرطان.

مجموعة دراستنا (40 مريض) شملت جنس الإناث بنسبة 97,5% و متوسط العمر تمثل في 43,63 عاماً. العملية الجراحية التي كانت أكثر تداولاً هي الاستئصال الكلي للغدة الدرقية بنسبة 77,5% لـ 31 حالة . السرطان الحليمي الكلاسيكي للغدة الدرقية يمتاز عموماً تشريحياً ببنية حليمية . لوحظت خمس أنواع مختلفة للسرطان في الـ 40 حالة بحيث لكل منها لها ميزتها النسيجية السرطانية الخاصة بها و لكنها تشترك في نفس البنية النووية. الورم الجريبي للسرطان الحليمي كان الأكثر تشخيصاً بنسبة 35% من الحالات.

تواجد الطفرة على مستوى الهيولا كان ايجابياً في النوعين: السرطان الحليمي الكلاسيكي بمعدل (+3) و الورم الحليمي الصغير للغدة الدرقية بمعدل (+2) وكان منعدم على مستوى الورم الجريبي للسرطان الحليمي.

وبالتالي تقنية تحليل الكيمياء النسيجية المناعية لها قيمة عملية من اجل تحديد الطفرة B-Raf<sup>V600E</sup> في سرطان حليمي الغدة الدرقية.

### الكلمات الدالة:

سرطان حليمي الغدة الدرقية- انواع السرطان الحليمي للغدة الدرقية- الطفرة B-RAF<sup>V600E</sup> - تقنية دراسة الانسجة السرطانية - تقنية الكيمياء النسيجية المناعية.

# Sommaire

---

<b>Introduction</b>	1
<b>Chapitre I: Rappels bibliographiques</b>	4
<b>I.1. Généralités sur la glande thyroïdienne</b>	5
I.1.1. Anatomie	5
I.1.2. Embryologie	6
I.1.3. Histologie	7
<b>A-</b> Cellules folliculaires	7
<b>B-</b> Cellules para folliculaires (cellules C)	7
I.1.4. Hormones thyroïdiennes	8
I.1.5. Hormonosynthèse	9
I.1.6. Régulation de la fonction de la thyroïde	10
<b>I.2. Carcinome papillaire de la thyroïde</b>	11
I.2.1. Définition	11
I.2.2. Facteurs de risques	13
I.2.3. Diagnostic	14
I.2.4. Profil génétique	15
<b>A-</b> Carcinogenèse	15
- Altérations génétiques	15
<b>B-</b> Oncogène B-Raf	16
<b>B.1.</b> Régulation de B-Raf	17
<b>B.2.</b> Anomalies moléculaires de B-Raf	18
I.2.5. Traitement	20
<b>Chapitre II: Matériel et méthodes</b>	24
<b>II.1.</b> Objectifs de l'étude	25
<b>II.2.</b> Matériel	25
<b>II.2.1.</b> Population d'étude	25
<b>II.2.2.</b> Matériel d'étude	25
<b>II.3.</b> Méthodes	26
<b>II.3.1.</b> Etude anatomopathologique	26
<b>A.</b> Etude macroscopique	26
<b>B.</b> Technique usuelle de routine: coloration à l'hématoxyline éosine	26
<b>C.</b> Etude microscopique	27
<b>II.3.2.</b> Immuno-histochimie	28

# Sommaire

---

II.3.3.Evaluation de l'immunomarquage	31
II.4. Analyse des données	31
<b>Chapitre III: Résultats et discussion</b>	<b>32</b>
<b>Conclusion</b>	<b>47</b>
<b>Références bibliographiques</b>	<b>49</b>
<b>Annexes</b>	<b>57</b>

## Introduction

---

Le carcinome thyroïdien est le plus fréquent des cancers endocriniens et représente 1,3 % des nouveaux cancers diagnostiqués par an en France. **[Olo Na M. et al, 1978]**

L'Algérie fait partie de la liste des pays ayant le plus fort taux d'incidence du cancer de la thyroïde féminin, dont la progression est incessante : il passe de 9.1 pour 100.000 femmes en 2011 à 15.6 pour 100.000 femmes en 2012. **[Hammouda D. et al, 2012]**

L'augmentation de l'incidence des cancers thyroïdiens est principalement attribuée au carcinome papillaire de la thyroïde (CPT). **[Hodgso N. et al, 2012]**

La grande majorité des cancers thyroïdiens dérive des cellules folliculaires. Elle comporte les carcinomes papillaires bien différenciés les plus fréquents, constituant 80 à 90 % des cancers thyroïdiens, les carcinomes vésiculaires (10 à 15 %), les carcinomes peu différenciés (moins de 1 %) et les carcinomes anaplasiques (moins de 2 %). **[Nikiforov A. et al, 2009]** Le traitement standard des carcinomes thyroïdiens repose sur une thyroïdectomie totale chirurgicale suivie, en fonction du stade, d'une éventuelle ablation isotopique par l'iode 131. **[Kumar A. et al ,2010]**

L'outil diagnostique le plus fiable pour déterminer la nature d'un nodule thyroïdien est l'étude cytologique du produit de cytoponction de ce nodule, ou une chirurgie thyroïdienne pour obtenir un diagnostic histologique. **[Greaves S. et al, 2006; Yassa L. et al, 2007]**

Il faut garder à l'esprit que 1 à 3 % des nodules classés bénins en cytologie (faux négatifs) s'avèrent par la suite malins au cours du suivi, avec un retard à la prise en charge pouvant être source de progression de la maladie. **[Kim DL. et al, 2008 ;Mazferri.,1993]** Ceci souligne l'intérêt d'outils diagnostiques complémentaires à la cytologie thyroïdienne pour en améliorer la sensibilité et la spécificité. **[Nikiforov YE. et al, 2009]**

La description d'événements moléculaires impliqués dans la tumorigenèse thyroïdienne semble désormais ouvrir des perspectives en matière diagnostique, pronostique et thérapeutique, et pourrait permettre de mieux guider la prise en charge des nodules thyroïdiens. **[Kondo T. et al, 2006]**

## Introduction

---

La voie des MAPK joue un rôle central dans les CPT. [Nauf JA. et al, 2009] Elle est impliquée dans la différenciation, la prolifération et l'apoptose. [Raman M. et al, 2007] Plusieurs altérations génétiques sont caractérisées dans les CPT : Réarrangements chromosomiques de type RET/PTC, retrouvés dans environ 20 % des CPT, Mutations ponctuelles du domaine GTPase des isoformes de Ras : H-Ras, N-Ras et K-Ras, retrouvées dans environ 10 % des CPT , Mutations activatrices de l'oncogène B-Raf, événement génétique le plus fréquent dans les CPT, retrouvé dans 40 à 50 % des cas. [Kimur ET. et al, 2007 ; Brose MS. et al, 2009]

- 1 Avant de passer aux techniques de biologie moléculaires afin de détecter ses mutations ; L'IHC pourrait elle représenter la technique de première intention dans le diagnostic différentiel des CPT ?

Dans cette optique nous avons axé notre étude qui va mettre en évidence l'apport de l'IHC dans le marquage de la B-Raf produit du gène muté dans les CPT.

Pour répondre à notre problématique nous avons réalisé les étapes suivantes :

- Sélection des cas présentant un CPT.
- Réalisation d'une étude anatomopathologique pour voir l'aspect histologique du tissu tumoral et classer les CTP en plusieurs types.
- Le marquage de la B-Raf par un AC spécifique et voir pour les différents types histologiques.

# Chapitre I: Rappels bibliographiques

## I.1. Généralités sur la glande thyroïdienne

### I.1.1. Anatomie

La thyroïde est une glande endocrine unique, située à la partie antérieure et médiane du cou. Elle est composée de deux lobes latéraux, réunis par un isthme médian, en avant de la trachée. En vue antérieure, l'ensemble de la glande ressemble grossièrement à un H/à un papillon, Chaque lobe a la forme d'une pyramide triangulaire. L'isthme est aplati d'avant en arrière, avec un bord supérieur et un bord inférieur. C'est de son bord supérieur que se détache, à gauche de la ligne médiane en général, un prolongement de longueur variable: Le lobe pyramidal ou pyramide de L'alouette.

La glande thyroïde mesure en hauteur de 6 à 8 cm au niveau de ses lobes et de 1 à 2 cm au niveau de l'isthme. Elle pèse entre 20 et 30 grammes. Elle est naturellement plus volumineuse chez la femme que chez l'homme, augmente de volume durant la grossesse et diminue de volume chez le vieillard. Sa surface est irrégulière, sa consistance est molle, sa couleur varie du rose au violet clair. (Figure 01). [Bouklikha C., et Sefiane D., 2014]

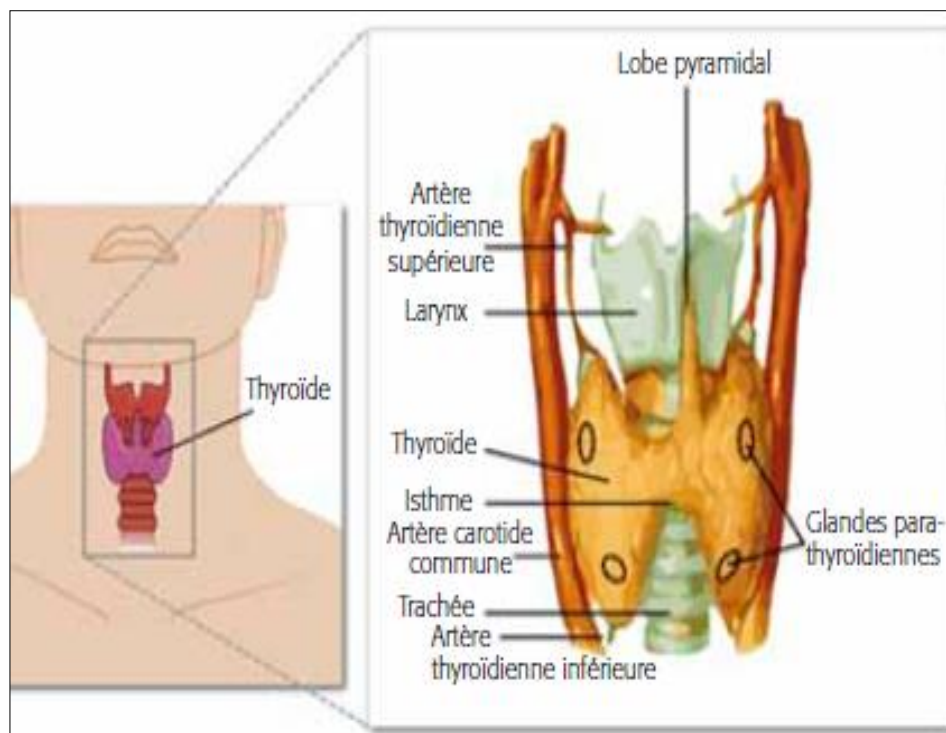


Figure 01: Vue antérieure de la glande thyroïde. [Leenhardt L., 2014]

# Chapitre I: Rappels bibliographiques

---

## I.1.2. Embryologie

Le corps thyroïde apparaît à la 3<sup>ème</sup> semaine du développement de l'embryon à partir de la prolifération épithéliale endodermique du plancher de l'intestin pharyngien. L'ébauche thyroïdienne médiane s'enfonce dans le mésoblaste et descend en avant de l'intestin pharyngien.

Au cours de cette migration, la glande reste reliée au plancher du stomodeum par le canal thyroéoglosse, ultérieurement ce canal se transforme en un tractus fibreux.

Le corps thyroïde atteint à la 7<sup>ème</sup> semaine sa situation définitive en avant de la trachée. A la 8<sup>ème</sup> semaine les premiers vaisseaux sanguins apparaissent; leurs ramifications vont assurer la mise en place d'un réseau capillaire; la partie latérale de l'intestin pharyngien (partie craniale de l'intestin primitif) qui constitue l'appareil branchial donne naissance au corps ultimo-branchial qui s'incorporera ultérieurement au corps thyroïde.

Chez l'adulte les cellules du corps ultimo-branchial donnent naissance aux cellules para folliculaires C de la glande thyroïde (cellules endocrines qui sécrètent la calcitonine).

### Histogenèse

L'ébauche initiale de la thyroïde n'est qu'un massif de cellules indifférenciées douées de mouvements actifs qui vont assurer leur migration. L'ébauche devient progressivement plus compacte et forme des rangées de cellules en forme de cordons entourés d'un réseau capillaire sinusoïdal. Les follicules primaires se différencient à l'intérieur des cordons, puis fusionnent et sont envahis de mésenchyme.

Les follicules définitifs apparaissent par constriction des cordons pour former des structures sphériques caractéristiques de l'adulte.

C'est l'apparition des follicules qui permet de distinguer deux stades: pré folliculaire et folliculaire.

L'activité fonctionnelle de la thyroïde débute vers le 3<sup>ème</sup> mois date à laquelle deviennent visibles les premiers follicules remplis de colloïde. Les cellules issues des ébauches latérales des corps ultimo-branchiaux peuvent soit s'incorporer aux follicules en formation, soit garder leur individualité morphologique et fonctionnelle pour devenir des cellules C. **[Benseraï F/Z., 2011]**



## I.1.3. Histologie

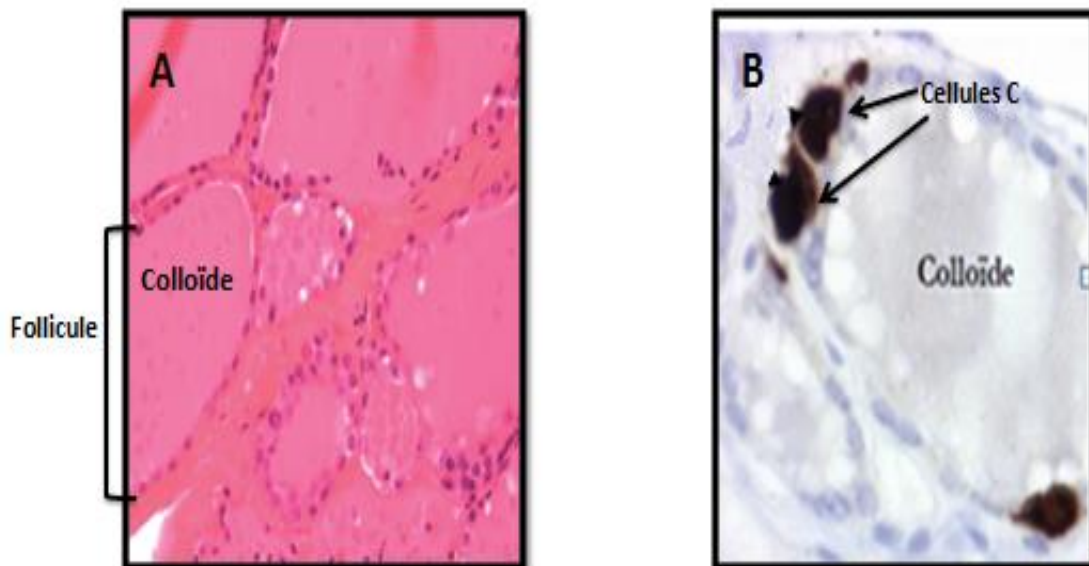
La thyroïde est constituée de deux types cellulaires:

### **A - Cellules folliculaires:** [Cellules vésiculaires ou thyrocytes]

Sont majoritaires au sein du parenchyme thyroïdien (>99,9%), organisées en follicules thyroïdiens, sont l'unité structurale et fonctionnelle de la thyroïde, formées d'une monocouche de cellules délimitant une cavité centrale contenant la colloïde. Les thyrocytes assurent la production des hormones thyroïdiennes impliquées dans la régulation de nombreuses fonctions touchant le métabolisme, la croissance et le développement. [Leclère J., et al., 2001] (Figure 02- A).

### **B - Cellules para folliculaires (cellules C)**

Ne représentent que 0,1% du parenchyme thyroïdien et sont retrouvées principalement de façon isolée ou par groupe. Elles sont localisées dans le follicule thyroïdien entre la membrane basale et les thyrocytes, principalement au niveau du tiers-moyen et du tiers-supérieur de chaque lobe thyroïdien. [Hazard JB., 1977 et Schlumberger M., 2010] (Figure 02- B). Elles sont caractérisées par la sécrétion de la calcitonine (Principal marqueur des cellules C). [Hazard JB., 1977]



**A-** Organe folliculaire de la thyroïde.[Leenhardt L., 2014] ;**B-** Cellule C au sein d'un follicule thyroïdien, identifiées par l'immuno-marquage de la calcitonine. [Broutin S., 2013]

**Figure 02:** Aspect histologique de la thyroïde.[Leenhardt L., 2014]

# Chapitre I: Rappels bibliographiques

---

**I.1.4. Hormones thyroïdiennes:** La glande thyroïde produit deux types d'hormones :

## **1. La triiodothyronine (T3) et la thyroxine (tétraiodothyronine T4)**

- Sécrétées, emmagasinées et libérées directement dans le sang.

- influent pratiquement sur toutes les cellules de l'organisme et contribuent à réguler le métabolisme.

Ainsi, cette glande produit des hormones essentielles à différentes fonctions de l'organisme:

-La régulation thermique.

-La régulation partielle de la fréquence cardiaque.

-Le développement du système nerveux.

-Sécrétions régulées par TSH (antéhypophyse). **[Bejjani L., 2008]**

## **2. La calcitonine est une hormone polypeptidique**

-Régule, avec l'hormone parathyroïdienne, les taux du  $Ca^{++}$  sanguin:

-Sécrétion dépend uniquement du taux de  $Ca^{++}$  sanguin et non pas des taux d'hormones hypophysaires. **[Bejjani L., 2008]**

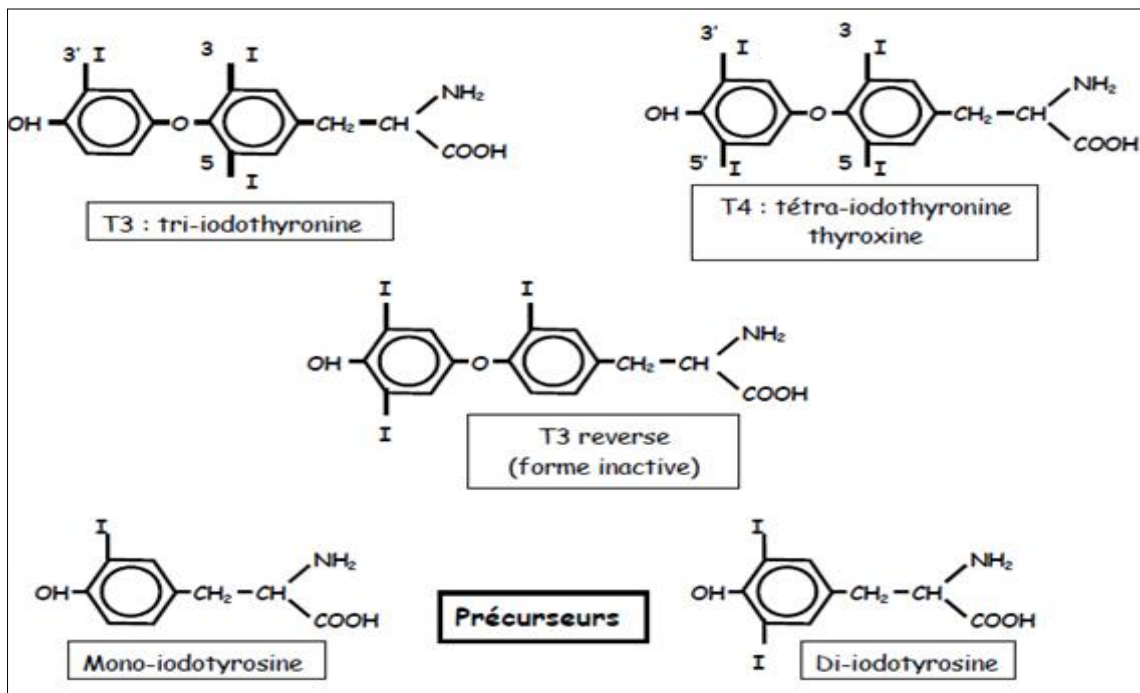
### **➤ la structure des hormones thyroïdiennes**

Les hormones thyroïdiennes possèdent une même structure organique:

- La thyronine : est formée par deux noyaux aromatiques reliés par un pont éther.

- Les hormones se différencient entre elles par le nombre et la place variables des atomes d'iode qu'elles portent. **[Maladies des glandes endocriniennes,1977]**

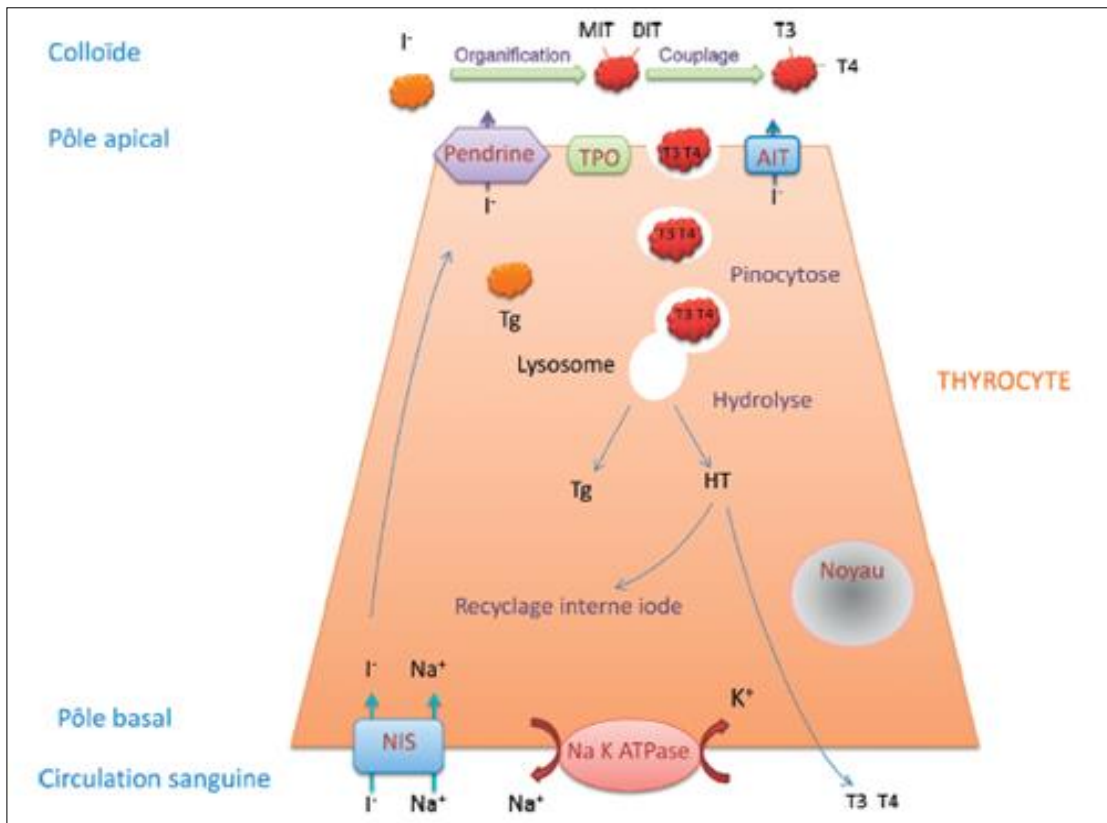
(Figure 03).



**Figure 03:** Structure des hormones thyroïdiennes et leurs précurseurs. [Ryndak-Swiercz A., 2009]

### I.1.5. Hormonosynthèse

La cellule folliculaire capte les ions iodure par l'intermédiaire de NIS sous l'effet d'un gradient sodique généré par la  $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATP}_{\text{ase}}$ . Ces ions sont ensuite transportés du milieu intracellulaire vers la colloïde par la pendrine et l'AIT notamment. Les ions iodure sont oxydés en iode libre, incorporés à la thyroglobuline grâce à la TPO et au système générateur d' $\text{H}_2\text{O}_2$ . L'iodation de résidus tyrosine et le couplage des MIT et DIT permet la formation des HT. Celles-ci sont stockées dans la thyroglobuline qui est internalisée par pinocytose. La fusion d'une vésicule et d'un lysosome permet la libération des HT par clivage protéolytique de la thyroglobuline. Les HT peuvent être déversées dans la circulation générale tandis que la désiodation des MIT et DIT permet le recyclage interne de l'iode. [Wémeau J., 2014] (Figure 04)



**Figure 04:** Représentation schématique des étapes de biosynthèse des hormones thyroïdiennes. [Ryndak-Swiercz A., 2009]

## I.1.6. Régulation de la fonction de la thyroïde

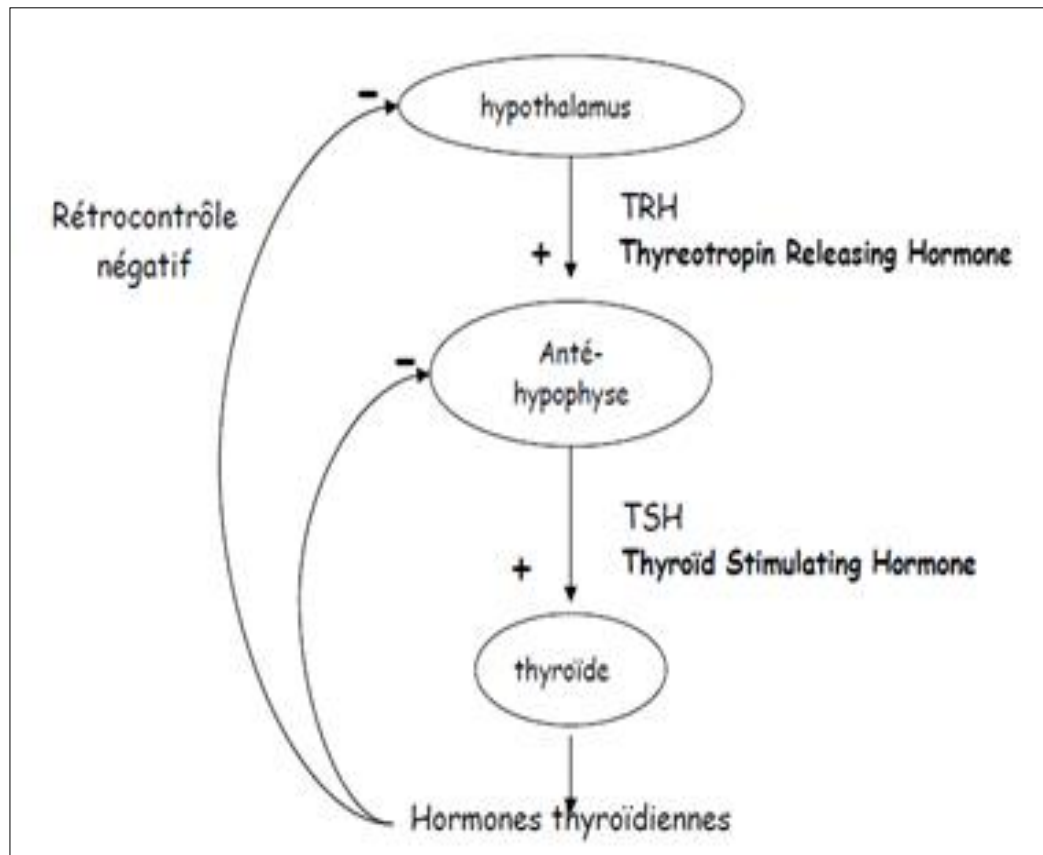
### ❖ La TSH agit de la façon suivante

-Si la production des hormones thyroïdiennes (T<sub>4</sub> et T<sub>3</sub>) est insuffisante dans le sang:

L'hypophyse secrète davantage de TSH, dont le taux dans le sang sera élevé ce qui va stimuler la thyroïde pour qu'elle produise une plus grande quantité d'hormones thyroïdiennes.

-Si la production de T<sub>4</sub> et T<sub>3</sub> est trop forte dans le sang :

L'hypothalamus et l'hypophyse vont réagir pour freiner la production de TSH, dont le taux dans le sang sera bas ce qui va ralentir la formation des hormones thyroïdiennes. [Schlumberger M., 2010 ] (Figure 05).



**Figure 05:** Mécanisme de régulation de l'activité thyroïdienne. [Martin A-P., et Dauzat., 2007]

### I.2. Carcinome papillaire de la thyroïde

#### I.2.1. Définition

Le carcinome papillaire est le cancer endocrinien malin le plus fréquent parmi les carcinomes thyroïdiens dont il représente environ 70% à 90% des cancers dans le monde. [Yip L. et al, 2015 ; Brecheteau C., 2014 ; Kilfoy BA. et al, 2009 ; Truong T. et al, 2007]

Il est défini selon la classification OMS 2004 comme «une tumeur épithéliale maligne, présentant une différenciation folliculaire évidente, d'architecture papillaire et caractérisée par un aspect nucléaire particulier». [Benseraï F/Z., 2011] (Annexe A- tableau 01)

Macroscopiquement; le CPT se présente sous forme de nodules blanchâtres infiltrants ou encapsulés [Do Cao.C., 2010] avec ou sans adénopathie métastatique, plus rarement révélés par une métastase à distance.[Kilfoy BA. et al, 2009; Truong T. et al, 2007]

## Chapitre I: Rappels bibliographiques

---

Il peut être découvert lors de l'examen anatomopathologique dans la suite d'une intervention chirurgicale pour une pathologie thyroïdienne banale. **[Kilfoy BA. et al, 2009; Truong T. et al, 2007]**

L'éventuelle diffusion se fait essentiellement par voie lymphatique avec envahissement ganglionnaire fréquent. **[Kilfoy BA. et al, 2009; Truong T. et al, 2007]**

Histologiquement ; il est caractérisé par une architecture papillaire et défini par la reconnaissance de cellules tumorales aux noyaux clarifiés, rainurés, présentant des chevauchements, des inclusions. **[ Do Cao.C, 2010]** (Figure 06)

Il est parfois à caractère héréditaire. Des formes familiales ont été décrites, soit isolées, soit dans le cadre d'une autre maladie héréditaire.

Il est le plus fréquent des cancers thyroïdiens soit 63% avec une prédominance féminine. Le sex-ratio femme/homme est entre 2 et 3 (répartition en Algérie 2011) avec une moyenne d'âge au moment du diagnostic de 31 à 49 ans. Il constitue 90% de l'ensemble des carcinomes thyroïdiens de l'enfant en Algérie. **[Benseraï F/Z., 2011]**

Le CPT résulte de l'accumulation de différentes altérations génétiques et épigénétiques au niveau du noyau cellulaire des thyrocytes. Pour les mutations il convient de faire la distinction entre les mutations ponctuelles et les réarrangements chromosomiques. La majorité des CPT surviennent de façon sporadique et non familiale. La plupart des mutations concernent la voie MAPK. Parmi celles-ci, le gène le plus fréquemment muté code pour l'oncogène B-Raf (dénommé B-Raf<sup>V600E</sup>). **[Longvert C., et Larue L., 2012]**

### ❖ Principales variantes microscopiques du CPT

Le CPT comporte de multiples variantes morphologiques, dont certaines sont définies en fonction de leur architecture histologique, parmi ces principales variantes :

**1-Variante vésiculaire:** la tumeur n'est composée que de vésicules. Son architecture est très proche de celle d'une tumeur bénigne adénomateuse être, surtout si elle est encapsulée, mais les noyaux sont ceux d'un CPT et son comportement est celui d'un CPT dans les formes encapsulées **[Frederique T., et**

## Chapitre I: Rappels bibliographiques

---

**Caroline E-M., 2014**], le diagnostic peut être difficile avec certains cancers vésiculaires.[**Laurence B. et al, 2015**] (Annexe A- Figure 20-A)

**2-Variante oxyphile (oncocytaire):** il s'agit d'une entité rare devant faire éliminer un adénome à cellules oxyphiles présentant vésicules dont les cellules montrent un cytoplasme caractéristique très éosinophile.[**Frederique T., et Caroline E-M., 2014**] Le diagnostic peut également être difficile avec certains carcinomes papillaires à variante oncocytaire. [**Laurence B. et al, 2015**] (Annexe A- Figure 20-B)

**3 -Variante à cellules hautes:** caractérisée par des cellules deux fois plus hautes que larges, ces cancers représenteraient près de 10% des CPT et sont de pronostic moins favorable. Le cytoplasme cellulaire est rose pale un peu dépoli et contient, en microscope électronique, de nombreuses mitochondries. [**Frederique T., et Caroline E-M., 2014**] Le diagnostic peut également être difficile avec certains carcinomes papillaires à cellules hautes. [**Laurence B. et al, 2015**] (Annexe A- Figure 20-C).

**4-Variante à cellules cylindriques:** sont très rares, cellules cylindriques pseudo stratifiées, cytoplasme clair (parfois vacuole supra ou infra-nucléaire).Noyaux hyper-chromatiques : les anomalies nucléaires «classiques» de carcinome papillaire sont rares. La morphologie rappelle un carcinome endométrial ou colique métastatique. Elles sont des tumeurs plus agressives que la forme classique. Souvent évoluée localement au moment du diagnostic. [**Frederique T., et Caroline E-M., 2014**] (Annexe A-Figure 20-D).

### I.2.2. Facteurs de risques

- Les rayonnements ionisants représentent le facteur de risque majeur du CPT. [**Kondo T. et al, 2006**]
- les cancers folliculaires sont plus fréquents en cas de carence en iode.
- le CPT est élevé en cas de polypose colique familiale et de maladie de Cowden.
- Environ 5 % des sujets atteints du CPT ont également un apparenté atteint d'un cancer papillaire, ce qui suggère l'existence d'une prédisposition génétique chez certains patients ; les anomalies génétiques responsables

## Chapitre I: Rappels bibliographiques

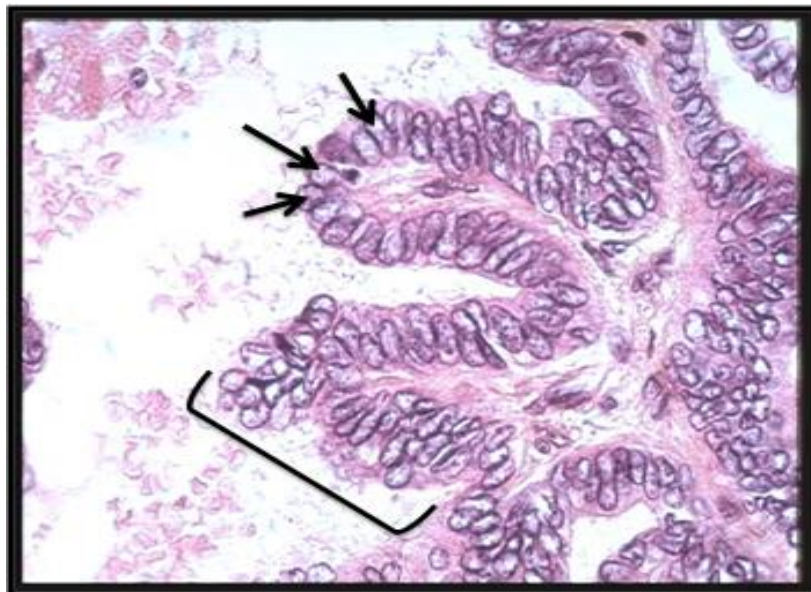
---

de cette prédisposition familiale ne sont pas connues. **[Schlumberger M. 2010]**

### I.2.3. Diagnostic

Le diagnostic repose sur des critères nucléaires caractéristiques, les noyaux étant de taille augmentée, de forme ovale, se chevauchent, d'aspect clarifié et contenant des incisures et des pseudo-inclusions. **[Kondo T. et al, 2006]** (Figure06)

L'architecture est variable, la tumeur étant constituée de papilles, mais également fréquemment de vésicules de taille variable; l'architecture peut également être kystique, solide ou trabéculaire, dans tous les cas ce sont les critères nucléaires qui permettront de faire le diagnostic de carcinome papillaire. **[Gauchotte G. 2010]**



**Figure 06:** Histologie : aspect microscopique d'un CPT classique (HE ; Gr x40). **[Bejjani L., 2008]**

→ : Les noyaux en verre dépoli.

⌈ : Forme papille.



## I.2.4. Profil génétique

### A- Carcinogenèse du CPT

- **Principales altérations génétiques**

Le CPT résulte de l'accumulation de différentes altérations génétiques et épigénétiques. La plupart sont des anomalies moléculaires activant la voie MAPK, environ 70% des carcinomes papillaires de la thyroïde.

Il s'agit de réarrangements chromosomiques, le plus souvent de type RET/PTC, de mutations ponctuelles activatrices des trois isoformes de l'oncogène Ras (H, N et K-Ras), ou de l'oncogène B-Raf. La mutation B-Raf<sup>V600E</sup> est la plus fréquemment identifiée, elle est associée à une plus grande agressivité clinique (diagnostic à un stade tardif, risque de récives et de décès accru). **[Roger S. et al, 2014 ; Buffet C., 2014]** (Annexe A- Tableau 02).

#### 1-Réarrangements chromosomiques de types RET/PTC

Il s'agit d'une fusion entre la portion C-terminale du proto-oncogène RET (domaine à activité Tyrosine Kinase) et la partie N-terminale d'un partenaire de fusion dont le gène est exprimé dans le thyrocyte et qui a la capacité de s'homodimériser. L'oncogène RET est exprimé uniquement dans les cellules C (para folliculaires). La dimérisation constitutive de cette protéine de fusion permet l'activation du domaine catalytique de RET conduisant ainsi à l'activation constitutive de la voie MAPK. Les modèles murins ont montré de façon constante que le réarrangement RET/PTC était probablement un événement précoce car, il est capable d'initier la carcinogenèse thyroïdienne. **[Buffet C., 2014]**

#### 2- Mutation de Ras

Les mutations ponctuelles du gène Ras ne sont pas spécifiques d'un type particulier de tumeur de la thyroïde et sont ainsi observées dans les CPT. Les mutations surviennent sur les isotopes de Ras (H, K et N-Ras). Dans sa forme inactivée, la protéine Ras est liée au GDP. Après activation, la protéine Ras se dissocie du GDP et se lie ainsi au GTP, activant la voie MAPK et d'autres voies de signalisation, comme la voie PI3K/AKT. Les points de mutation dans le domaine spécifique du gène Ras augmentent l'affinité de la protéine Ras-GTP pour le GTP ou bien inactivent sa fonction auto-catalytique GTPase. La résultante de ces mutations est que la protéine mutée devient activée de façon permanente et

## Chapitre I: Rappels bibliographiques

---

stimule de façon chronique les cibles situées en aval. En pathologie thyroïdienne, dans le CPT, les mutations de Ras surviennent dans 10-20 % des tumeurs. Il est intéressant de constater que parmi les CPT présentant une mutation de Ras, il s'agit presque toujours de CPT à variante histologique folliculaire, encapsulés, et avec peu ou pas de métastases ganglionnaires. **[Hofman P., 2011]**

### 3- Mutation de B-Raf

Les mutations activatrices sur le gène B-Raf sont les altérations génétiques les plus communes des carcinomes papillaires de la thyroïde.

Une grande majorité de ces mutations surviennent sur le nucléotide 1799 et résultent de la substitution d'une valine sur une glutamine sur le résidu 600 (V600E). Cette mutation ponctuelle entraîne une activation constitutive de la kinase B-Raf, une stimulation chronique de la voie MAP kinase, et apparaît tumorigénique pour les cellules thyroïdiennes.

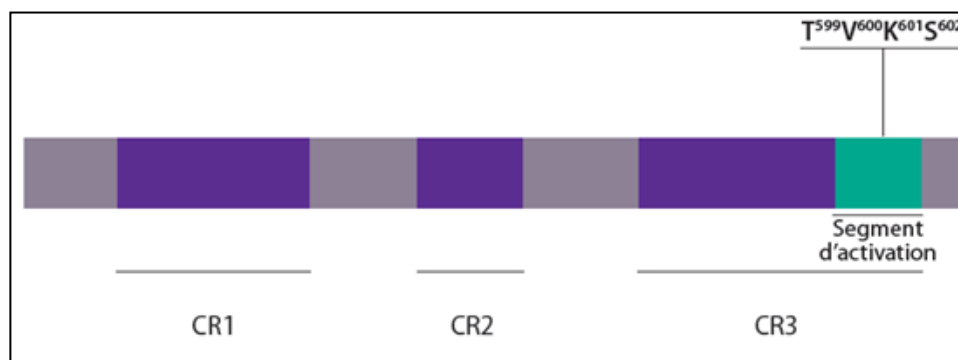
D'autres mutations du gène B-Raf sont plus exceptionnellement trouvées, en particulier dans certains CPT associés à des antécédents d'exposition à des radiations ionisantes ou dans des types histologiques rares. La mutation B-RafV600E est essentiellement observée dans le CPT de type histologique « conventionnel ou classique » et dans la variante histologique à cellules hautes, bien plus rarement dans la variante folliculaire des CPT. Cette mutation peut parfois être observée dans les carcinomes anaplasiques (indifférenciés) et dans certains carcinomes peu différenciés se développant sur un CPT. Finalement, cette mutation de B-Raf est un marqueur spécifique des CPT. **[Hofman P., 2011]**

### B - Oncogène B-Raf

B-Raf fait partie de la voie MAPK qui régule la croissance cellulaire, la prolifération et la différenciation en réponse à une stimulation par des facteurs de croissance, des cytokines et des hormones. **[Wan PT. et al, 2004]** Il fait partie d'une famille de 3 sérine/thréonine kinases incluant A-Raf et C-Raf (aussi nommée Raf-1). Chacune de ces protéines est codée par un gène situé chez l'humain sur les chromosomes X, 7 et 3 respectivement pour A-Raf, B-Raf et C-Raf. A-Raf est la plus petite des isoformes (68 kDa) ; C-Raf a une masse de 72-74 kDa. B-Raf est soumis à un épissage alternatif produisant différentes isoformes de 75 à 100 kDa. Les 3 protéines Raf partagent la même structure et sont formées de 3 régions conservées : CR1, CR2 et CR3. La région CR1, à l'extrémité N-terminale, contient un domaine de liaison à Ras et un domaine riche en cystéines,

## Chapitre I: Rappels bibliographiques

tous les 2 nécessaires pour le recrutement de Raf à la membrane plasmique. La région CR2 contient un domaine de liaison à la protéine 14-3-3 qui maintient Raf dans une conformation inactive, dans le cytoplasme, à l'état basal. La région CR3, à l'extrémité C-terminale, contient le domaine catalytique. A l'état basal, Raf adopte une conformation dans laquelle l'extrémité N-terminale inhibe le domaine catalytique C-terminal. B-Raf est également exprimé dans un grand nombre de tissus, mais son expression prédomine nettement dans les tissus neuronaux. [Montero C. et al, 2013] (Figure 07).



**Figure 07:** Structure schématique de B-Raf. [Longvert C. et Larue L., 2012]

### B.1. Régulation de B-Raf

A l'état basal, Raf est maintenue dans une conformation inactive, dans le cytosol par son association avec la protéine 14-3-3 et possiblement aussi la protéine CNK.

Après stimulation par un facteur de croissance, Raf est recruté à la membrane plasmique où il interagit avec RAS activé via les domaines de liaison à RAS et riche en cystéines de Raf. La liaison de RAS modifie l'interaction de Raf avec p14-3-3, rendant certaines sérines phosphorylées accessibles à la phosphatase PP2A. La déphosphorylation de ces sites entraîne un changement de conformation de Raf lui permettant d'être la cible d'autres modifications activatrices. [Sala E. et al, 2008] (Figure 09). Une étape clé permettant l'activation de Raf est également la formation d'homodimères ou d'hétérodimères entre les 3 isoformes de Raf.

L'activation de Raf entraîne l'activation de MEK suite à sa phosphorylation (MEK est la seule cible connue des protéines Raf). [Sala E. et al, 2008] Elle active

## Chapitre I: Rappels bibliographiques

---

ERK par phosphorylation de sites tyrosine et thréonine. ERK phosphoryle à son tour de nombreux substrats cytoplasmiques, membranaires et nucléaires.

ERK phosphorylé peut transloquer vers le noyau pour activer différents facteurs de transcription et ainsi réguler l'expression de gènes impliqués dans la prolifération, la différenciation et la survie cellulaires. **[Chen Z. et al, 2001; Nikiforov YE., 2008]**

### **B.2. Anomalies moléculaires de B-Raf**

Plus de 45 mutations ont été identifiées dans le gène B-Raf dans une large variété de cancers humains. L'oncogène B-Raf est muté dans approximativement 7% des cancers humains. **[Dultz LA. et al,2013]** La plupart de ces mutations concernent des acides aminés conservés entre les 3 isoformes de Raf. **[Montero C. et al, 2013; Dultz LA. et al, 2013]**

La substitution d'une thymine par une adénine en position 1799 du gène, responsable d'un changement d'une valine en glutamine en position 600 (B-Raf<sup>V600E</sup>) (Figure 08); représente 90% des mutations identifiées. Cette mutation est située dans le domaine catalytique de la kinase et la rend environ 500 fois plus active que B-Raf sauvage activée par Ras. **[Durante C. et al, 2007]**

Au contraire de la protéine sauvage, le mutant B-RafV600E est capable d'activer MEK sans dimérisation préalable. La majorité des autres mutations identifiées de B-Raf sont situées dans la région CR3 de la protéine, au sein du domaine catalytique et d'une boucle riche en glycine. Certains mutants de B-Raf altèrent l'activité kinasique (réduction de l'activité de 30 à 80% par rapport à B-Raf sauvage activé par Ras). Ces mutants sont malgré tout capables d'entraîner l'activation constitutive de la voie MAPK, grâce à une interaction avec C-Raf qui active alors en aval MEK. **[Durante C. et al, 2007; Mesa C. et al, 2006]**

Comme évoqué ci-dessus (Figure10-B), les mécanismes d'activation de B-Raf pourraient expliquer la fréquence élevée de mutations du gène B-Raf identifiées en cancérogenèse humaine. **[Montero C et al, 2013 ; Long GV. et al, 2011]**

Au contraire, pour A-Raf et C-Raf, rarement mutées en pathologie cancéreuse humaine, ayant une activité kinasique basale faible et dont l'activation nécessite plusieurs évènements moléculaires successifs, de simples mutations ponctuelles ne seraient pas suffisantes pour entraîner leur activation constitutive

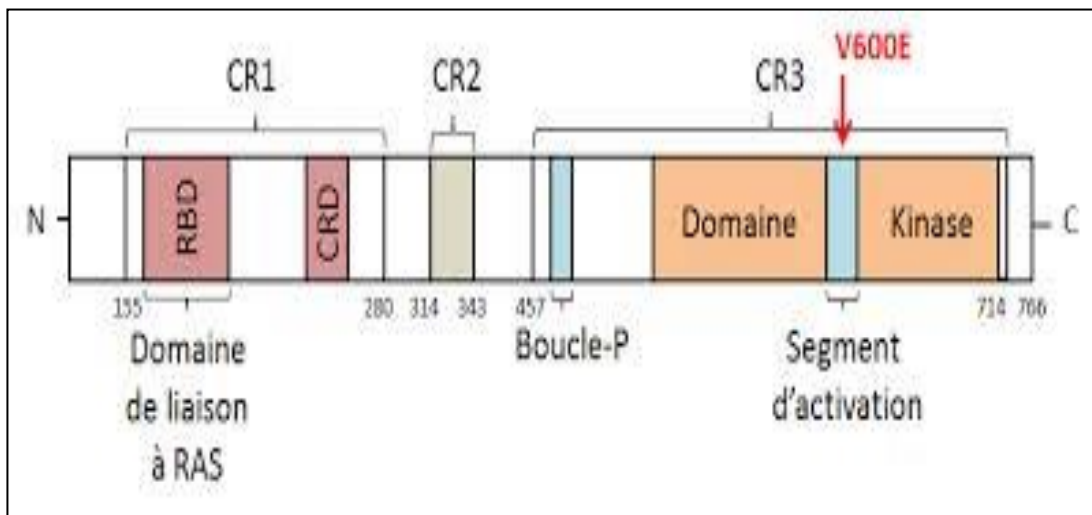
## Chapitre I: Rappels bibliographiques

(aucune mutation d'A-Raf ou C-Raf n'a été identifiée dans le CPT).

**[Krauthammer M. et al, 2012]**

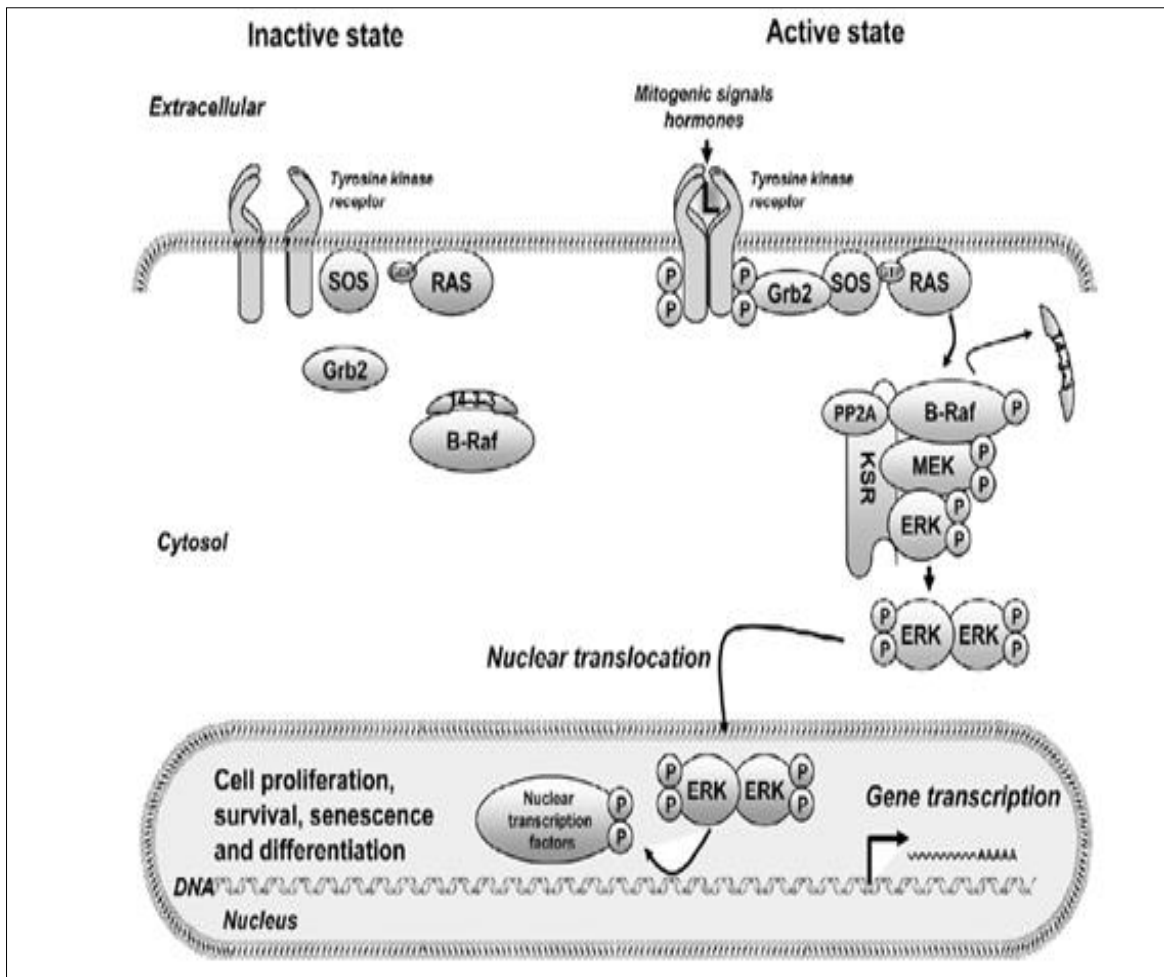
La mutation de l'oncogène B-Raf est identifiée en dehors des cancers de la thyroïde, principalement dans les mélanomes.

Une mutation de B-Raf peut être identifiée dans des cancers où l'oncogène RAS est également impliqué. Les mutations B-Raf<sup>V600E</sup> et de RAS surviennent de façon mutuellement exclusive, suggérant qu'un seul évènement suffit à entraîner une activation constitutive de la voie MAPK. **[Degl'Innocenti D., et al, 2013]**



**Figure 08:** Structure schématique de B-Raf<sup>V600E</sup>. **[Lise B., 2015]**

**V600E :** La position de la mutation V600E.



**Figure 09:**Activation de la voie MAPK via Ras, RET/PTC et B-Raf. [Tang T.K., Lee C.H., 2010]

## I.2.5. Traitement

**Le traitement dépend du stade du cancer: le compte-rendu anatomopathologique va servir de base au traitement.**

- ❖ **Les stades du développement du CPT [Roger S. et al, 2014; Société canadienne du cancer, 2008]**

La stadification du cancer consiste à définir la taille de la tumeur et à vérifier si elle s'est développée au-delà du site où elle a pris naissance. Elle varie selon les types du CPT car chacun d'eux se comporte et se développe à sa façon. De plus, le CPT se manifeste souvent de manière différente selon que les sujets ont soit : (Annexe A- Tableau 03)

- moins de 45 ans: deux stades I et II.
- plus de 45 ans: quatre stades de I - IV.

(La classification pTNM actualisée en 2010 = annexe A- Tableau 04).

# Chapitre I: Rappels bibliographiques

---

## **A- Traitement chirurgical et l'Ira-thérapie**

La thyroïdectomie totale est le traitement de première ligne. Cet acte chirurgical est complété par une destruction isotopique à l'iode qui a pour but de détruire les reliquats thyroïdiens normaux afin de faciliter la surveillance ultérieure en augmentant la spécificité du dosage de la thyroglobuline, d'effectuer une scintigraphie du corps entier 2 à 7 jours après la prise de I-131 pour permettre un bilan d'extension complet et s'assurer de l'absence de maladie résiduelle, de traiter d'éventuels résidus tumoraux permettant ainsi de diminuer les rechutes cliniques et d'améliorer la survie. **[Leboulleux S. et al, 2014]**

## **B- Radiothérapie externe**

La radiothérapie externe peut être utilisée lorsque le traitement à l'iode radioactif n'a pas permis de détruire la totalité des cellules thyroïdiennes cancéreuses et qu'il est impossible de les retirer par la chirurgie.

Elle consiste à utiliser des rayons pour détruire les cellules cancéreuses restantes. Contrairement au traitement à l'iode radioactif, la radiothérapie repose sur l'utilisation de rayons fabriqués par une machine qui cible, depuis l'extérieur, les régions du cou et du médiastin concernées. Dans de nombreux centres, la radiothérapie conformationnelle est utilisée. Cette technique modélise en trois dimensions sur ordinateur la zone traitée et permet ainsi de cibler de manière plus précise les tissus cancéreux. **[les traitements des cancers de la thyroïde, 2013]**

## **C-Thérapie ciblée**

La chimiothérapie a montré des résultats peu satisfaisants aux stades avancés où la chirurgie et l'iodo-thérapie ne sont plus de mise. Ces dix dernières années ont été marquées par des avancées majeures dans la connaissance des particularités moléculaires de ce cancer et leurs corrélations thérapeutiques, de même des essais cliniques se sont intéressés au traitement de cette pathologie aux stades métastatiques et ont permis de développer un panel thérapeutique important ciblant l'angiogenèse.

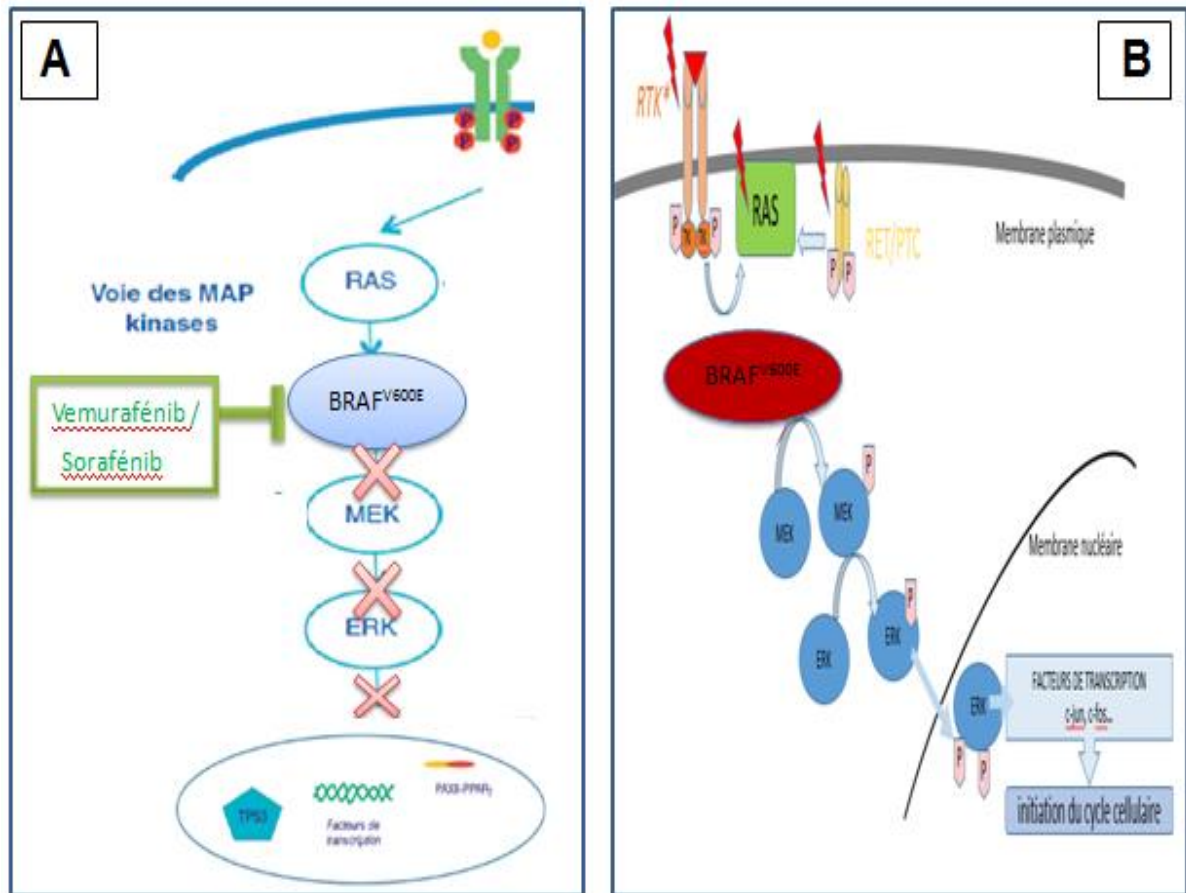
### ❖ Ciblage angiogenèse et B-Raf

Le sorafénib est un inhibiteur tyrosine kinase multi-cibles qui bloque de multiples voies impliquées dans la pathogenèse du cancer différencié de la thyroïde. Ces voies de signalisation comprennent: Ras, B-Raf, MEK, des voies de signalisation de ERK indépendantes du ligand: VEGF, PDGF et leurs récepteurs. (Figure 10-A) L'effet anti tumoral du sorafénib semble meilleur dans le CPT que dans les carcinomes folliculaires et dans les cas de lésions secondaires pulmonaires plutôt qu'osseuses. **[Brose MS. et al, 2009 ; Hoftijzer H. et al, 2009]**

### ❖ Ciblage B-Raf

Le vemurafénib est un des inhibiteurs qui a été testé dans le cancer papillaire thyroïdien métastatique non résécable ou réfractaire à l'iode avec une mutation du B-Raf<sup>V600E</sup>. Cette molécule a déjà démontré une activité anti tumorale dans l'étude de phase I chez les patients atteints du CPT (B-Raf<sup>V600E</sup>). **[Kevin B., 2013]** (Figure 10-A) Les effets indésirables sont l'éruption cutanée, la fatigue, perte de poids, l'augmentation de la bilirubine, anémie, augmentation de la créatinine. **[Rose MS. et al, 2013]**





**A-** Activation paradoxale de la voie MAPK le dans les tumeurs traitées par

**B-** Activation de la voie MAPK dont B-Raf<sup>V600E</sup>. [Eymerit-Mori C., 2014]

l'inhibiteur du B-Raf<sup>V600E</sup>. [Hsiao SJ. et al, 2014]

**Figure10:** Schémas explicative de la voie MAPK en cas pathologique et en cas du traitement.

## Chapitre II: Matériel et méthodes

---

Notre étude est basée sur 40 prélèvements présentant un carcinome papillaire thyroïdien réalisée au Service d'anatomie pathologique du CHU MUSTAPHA PACHA ALGER, notre stage a duré 6 mois (janvier – juin 2016).

### II.1. Objectifs de l'étude

Vu qu'il existe plusieurs variantes histologique du CPT montré par l'étude anatomo-pathologique ; Nous avons voulu approfondi nos résultats et confirmer certains types par une étude immunohistochimique pour le marquage de la protéine B-Raf<sup>V600E</sup> impliqué dans la voie de la prolifération, dont cette dernière pourrait être le produit d'une mutation activatrice du gène B-Raf.

### II.2. Matériel

#### II.2.1. Population d'étude

- La population comporte 40 patients. (39 femmes et 1 seul homme). (Annexe B-tableau 05)

- L'âge varie entre 06 à 78 ans.

- Etude rétrospective (période entre 2011-2015) comporte 39 cas dont : 12/40 cas ont été réceptionnés en 2015 ; 11/40 en 2014 ; 2/40 en 2013 ; 13/40 en 2012 et un seul cas en 2011, dont les cas sélectionnés ont subi soit une thyroïdectomie totale soit une lobectomie ou une lobectomie totale + un curage ganglionnaire, et on n'a pas pris les blocs communiqués.

- Etude prospective d'une période de 4 mois, de Février 2016 à Mai 2016 dont il a été réceptionné un seul cas.

#### II.2.2. Matériel d'étude

- ❖ Le matériel utilisé consiste en:
  - Des dossiers de patients:
    - Fiches de renseignements accompagnant les pièces opératoires et comportant obligatoirement les données suivantes : nom, prénom ; âge ; sexe ; type d'intervention, antécédents du patient, traitements éventuels diagnostics soulevés par le clinicien.
  - Des comptes-rendus anatomo-pathologiques.
  - Des blocs de paraffine et des lames pour les cas rétrospectifs.
  - Des pièces opératoires pour les cas prospectifs.

# Chapitre II: Matériel et méthodes

---

## II.3. Méthodes

### II.3.1. Etude anatomopathologique

- ✓ Les prélèvements arrivant au laboratoire sont réceptionnés dans des flacons remplis de formol (formaldéhyde à 10%) c'est un fixateur.
- 🌈 Le but de la fixation par le formol est de :
  - ✓ Conserver les structures des tissus.
  - ✓ Permettre la technique histologique et les colorations ultérieures.
  - ✓ Permettre une bonne étude immuno-histochimique :
    - Le prélèvement ne doit être ni sous fixé ni sur fixé et le temps de la fixation dépend de la taille et de type du prélèvement ou de la tumeur (à partir de 6h à 24h).

#### A- Etude macroscopique

-Permet un examen à l'œil nu de la pièce et précisant : forme, taille, consistance, coloration, présence de nodules dans cette pièce (nombre, taille, consistance, situation exacte dans la pièce et par rapport à la capsule thyroïdienne). (Annexe B- figure 21)

-Permet de réaliser des prélèvements sur le ou les nodules suspects.

Un schéma est réalisé précisant le siège exact des prélèvements sur le ou les nodules suspects ainsi que leur situation par rapport à la capsule.

Les prélèvements sont ensuite mis dans des cassettes d'inclusion, pour subir les différentes étapes de la technique usuelle de routine.

#### B- Technique usuelle de routine

##### b.1. Déshydratation

- permettant d'éliminer l'eau. (Annexe B-figure 22- a)
  - ✓ On passe les tissus dans des bains d'alcool de degré croissant (40°, 80°, 90°, 95°, 99°, 100°) ; l'intérêt est d'éliminer le fixateur.
  - ✓ L'alcool (éthanol) est ensuite remplacé par le xylène ou du toluène ; ces substances éliminent l'éthanol.

##### b.2. Inclusion

- ✓ L'éclaircissement des tissus.

## Chapitre II: Matériel et méthodes

---

- ✓ Une fois totalement imprégné, le tissu placé dans la paraffine fondue (portée à 56 /58°C) ; la chaleur provoque l'évaporation du solvant et sa dissolution dans la paraffine.
- ✓ La paraffine est placée dans des petits moules métalliques, à température ambiante, ce qui provoque son durcissement ; donc on obtient des fragments tissulaires inclus dans un bloc de paraffine. (Annexe B-figures 22-b et 23)

### b.3. Coupes

- ✓ On coupe à l'aide d'un microtome (Annexe B-figure 24) les blocs pour obtenir des rubans de 4 à 5 µm d'épaisseur.
- ✓ Puis, étalement des rubans obtenus sur des lames de verre.

### b.4. Colorations à l'hématoxyline éosine

Toutes les colorations passent par le déparaffinage des coupes pour cela trois bains successifs de xylène et deux bains d'alcool puis un rinçage à l'eau du robinet. (Annexe B-figure 25)

- ✓ Elle permet de visualiser les principaux constituants morphologiques des cellules :
  - L'hématoxyline colore les noyaux en violet.
  - L'éosine colore le cytoplasme en rose.

### b.5. Montage

- ✓ Les coupes colorées sont montées entre lame et lamelles avec une colle « Eukitt » dont l'indice de réfraction est voisin de celui du verre. (Annexe B-figure 26)
- ✓ On dispose alors d'une lame prête à être observée au microscope optique.

## C- Etude microscopique

- ✓ Un compte rendu d'analyse anatomopathologique est alors rédigé par le médecin, reportant toutes les données macroscopiques et microscopiques et posant un diagnostic.
- ✓ Ce compte rendu sera remis au médecin traitant qui décidera d'une conduite thérapeutique en fonction des résultats de cette analyse. (Annexe B- figures 27)

## Chapitre II: Matériel et méthodes

---

### II.3.2. Immuno-histochimie

- Elle ne se fait pas de façon systématique pour tous les prélèvements.
- Elle obéit à des indications bien précises : c'est l'examen morphologique sur coupes colorées à l'HE qui va déterminer le ou les AC à utiliser.
- ✓ L'étude immuno-histochimie consiste à mettre en évidence divers antigènes cellulaires, ou extracellulaires, grâce à des anticorps spécifiquement dirigés contre eux, sur des coupes histologiques. Les Ag recherchés peuvent être des Ag membranaires, cytoplasmiques, nucléaires, ou des protéines de la matrice extracellulaire.
- ✓ Dans notre étude ; l'anticorps anti-BRaf est utilisé pour marquer l'expression de la protéine mutante BRaf (Ag cellulaire cytoplasmique) dans le CPT sur des échantillons fixés au formol, et inclus en paraffine.

#### Remarque I

- ❖ Dans notre étude, on a pris en considération l'étude de trois (03) lames correspondant à trois (03) variantes du CPT.
  - ❖ L'étude immuno-histochimique est réalisée à l'aide de l'automate VENTANA (Annexe B-figure 28), il fonctionne selon le même principe que la technique manuelle. Cet automate est dirigé par un système informatisé ; cette machine fonctionne avec des réactifs qui sont indispensables :
- DAB (Diamino-benzidine) : détecte l'expression de la protéine BRaf<sup>V600E</sup>.

C'est un révélateur des zones tumorales.

- Blueing Reagent : colore les tissus en bleu.
- LCS : liquide qui couvre les lames.(Annexe B-figure 29)

#### II.3.2.1. Confection des lames pour l'IHC

Des coupes de 3µm sont réalisées sur les blocs d'inclusion en paraffine, ensuite l'étalement sur des lames silanisées (permet l'adhérence sur la lame, et une bonne fixation du prélèvement sur la lame), puis séchées dans une étuve à 54° pendant une nuit.

#### II.3.2.2. Technique

##### a. Déparaffinage

- Déparaffiner les lames dans 4 bains de xylène pour 5 min.
- Réhydrater les lames dans 4 bains d'alcool pour 5 min.

## Chapitre II: Matériel et méthodes

---

- Passage à l'eau courante.

### b. Démasquage

- Permet aux AC d'entrer en contact avec les Ag en coupant les liaisons covalentes inter et intra moléculaires entre les protéines et les glycoprotéines occasionnées par la fixation formolée.
- Selon la fiche technique de l'AC la lame subit plusieurs traitements, soit :
  - Traitement enzymatique (Protéinase k).
  - Sans prétraitement PH0.
  - Traitement thermique via un bain marie (PH6 ou PH9) : Immersion des lames dans un tampon et incubation à 95° pendant 40 min, ensuite laisser les lames refroidir pendant 20 min ( pour éviter le choc thermique et l'éclatement cellulaire), puis disposition des lames sur un plateau en milieu humide et rinçage à l'eau distillée (ED).

### c. Dépôt de l'anticorps sur la lame

- Délimiter le prélèvement par un marqueur gras hydrophobe Dakopen.
- Mettre les lames dans l'eau oxygénée H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pendant 10 min (pour bloquer l'activité des peroxydases endogènes présentes dans certaines cellules).
- Rinçage à ED.
- Application de l'AC primaire dilué selon l'intervalle, puis incubation pendant 40 min à 1h.
- Rinçage au PBS : 3bains x2 min.
- Application de l'AC secondaire (pour renforcer la réponse immunitaire).
- Rinçage via PBS : 3 bains x 2 à 5 min.
- Incubation avec le complexe streptavidine peroxydase (pour amplifier les sites antigéniques).

### d. Révélation

- Ajout du chromogène DAB pendant 10 min on obtient une coloration brunâtre.
- Rinçage soit à l'eau ou PBS.

### e. Coloration

- Coloration à l'hématoxyline de Meyer(pour colorer le noyau).
- Lavage à l'eau courante.
- Passage dans l'alcool rapidement (la déshydratation).

## Chapitre II: Matériel et méthodes

---

### f. Montage

- En utilisant l'Eukitt.
- Observation au microscope optique des lames confectionnées.

### g. La lecture microscopique

Les résultats de l'IHC sont consignés sur la base de cellules tumorales marquées ou non avec une coloration cytoplasmique comme suit:

- (0) aucune coloration ou faible coloration, intensité dans 10% ou moins de cellules.
- (1+) faible coloration dans plus de 10% des cellules.
- (2+) coloration modérée dans plus de 10% des cellules.
- (3+) une forte coloration dans plus de 10% des cellules.

La tumeur a été enregistrée comme positive lorsque le score était (1+) ou plus, négative lorsque le score était de (0).

#### ❖ Remarque II

Il existe quatre indications essentielles de l'IHC en cancérologie :

- Le diagnostic.
- La recherche de cancer primitif.
- La recherche de facteurs pronostiques.
- La recherche de facteurs prédictifs de la réponse aux traitements.

L'immuno-histochimie n'est en principe pas utile en pratique quotidienne pour porter le diagnostic de carcinome papillaire : l'étude morphologique (architecture papillaire, noyau en verre dépoli) suffit à poser le diagnostic.

L'IHC devient utile en cas de tumeur métastatique et en cas d'échec avec les autres armes thérapeutiques.[ DeLellis RA. et al,2004]

### II.3.3. Evaluation de l'immunomarquage

Le marquage attendu est de localisation cytoplasmique de couleur brunâtre.

## Chapitre II: Matériel et méthodes

---

### **II.4. Analyse des données**

Les données ont été saisies et analysées avec le logiciel Excel. Les résultats des analyses descriptives étaient exprimés en pourcentage pour les variables qualitatives, et en moyenne, médiane, écart-type pour les variables quantitatives.

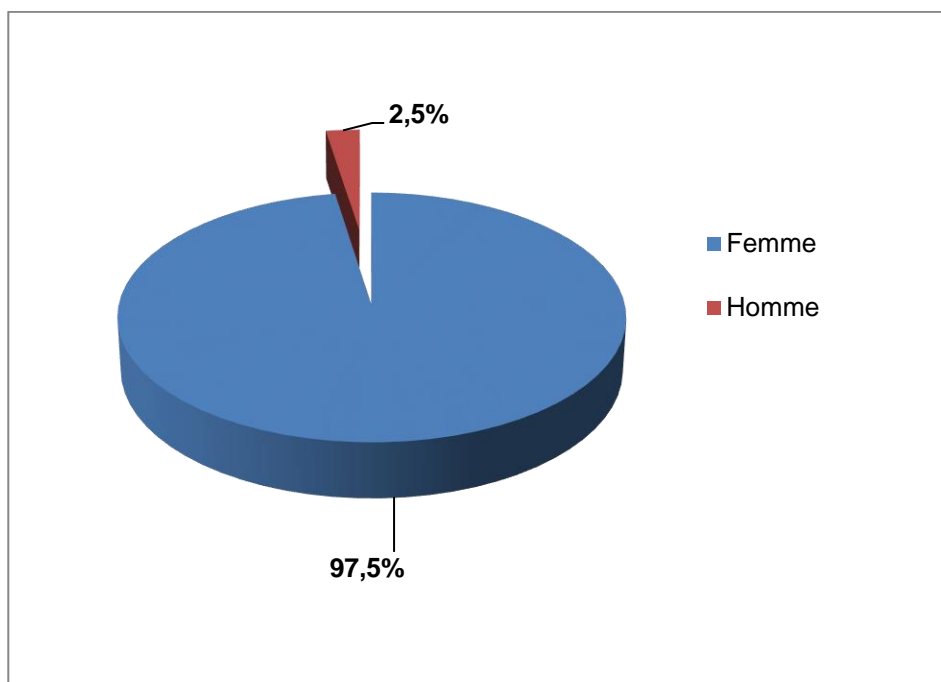


### III.1. Données cliniques

Notre étude concerné 40 patients qui présentaient tous un carcinome papillaire thyroïdien.

#### III.1.1. Répartition des patients selon le sexe et l'âge

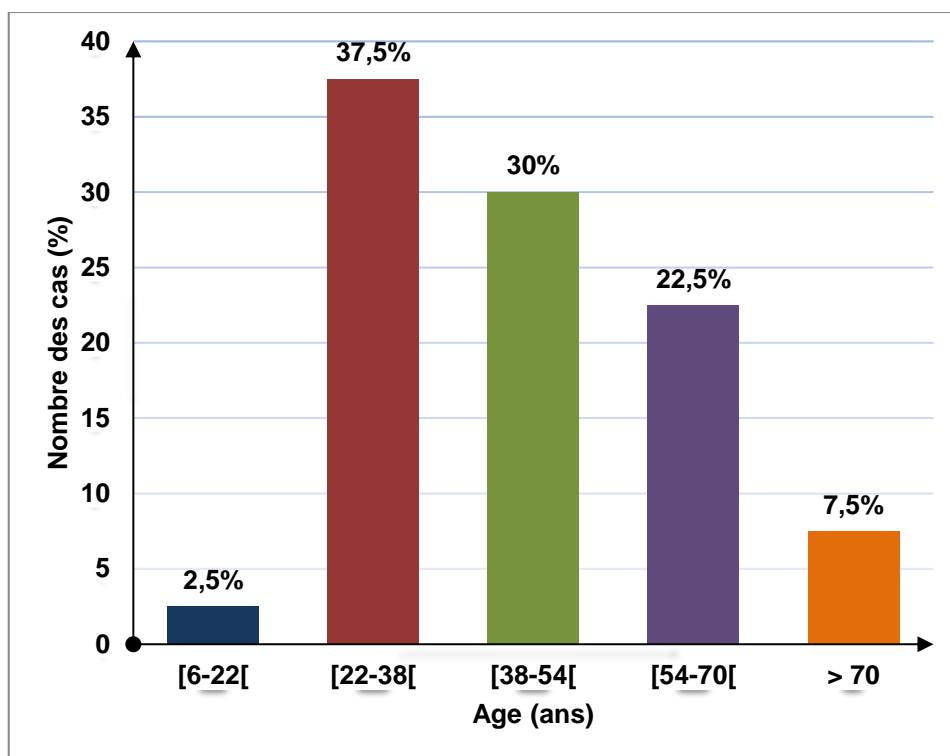
##### A. Représentation graphique selon le sexe



**Figure 11:** Répartition des patients selon le sexe.

Dans notre série de 40 cas de CPT. Nous avons enregistré une prédominance féminine représentée par 39 femmes soit 97,5% et un seul homme soit 2,5% avec un sex-ratio H/F de 1/39. (Figure 11) (Annexe C-tableau 06)

### B. Représentation graphique selon l'âge

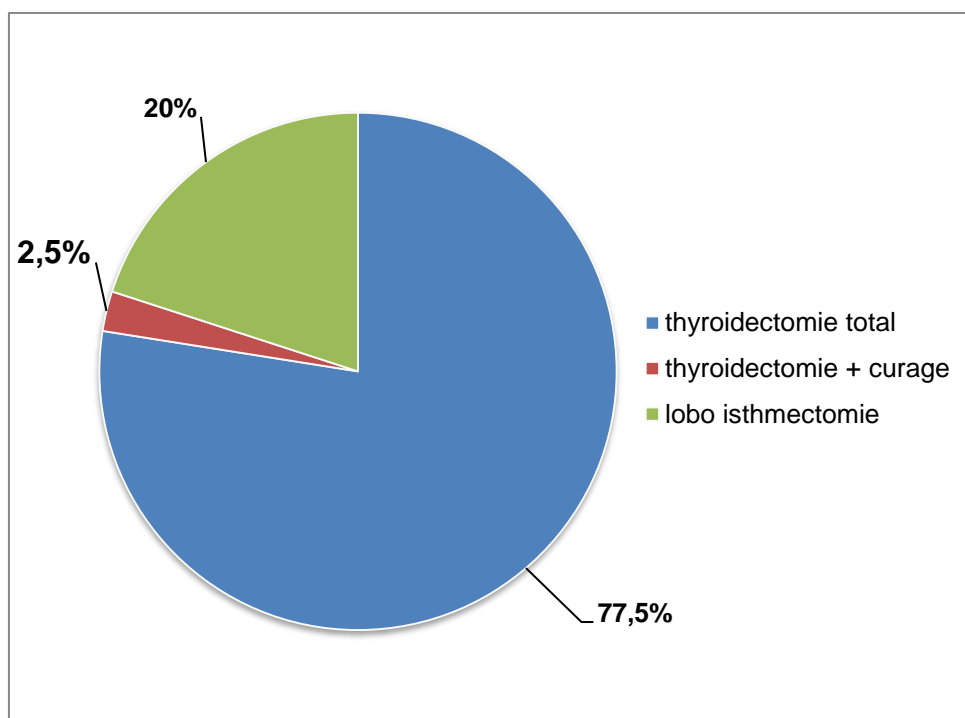


**Figure 12:** Répartition des cas selon l'âge.

L'âge moyen de nos patients est de 43,63 ans ( $\pm 13,05$  ; médiane= 43ans) la tranche d'âge la plus représentée étant celle de [22- 38[ avec 15 patients soit 37,5%, elle est suivie par les tranches [38-54[ et [54-70[ représentant successivement par 30% ( 12 cas) et 22,5% ( 9 cas), un seul cas de la classe [6-22[soit 2,5% et 3 patients de plus de 70ans soit 7,5% . (Figure 12) (Annexe C-tableau 07)

### III.1.2. Répartition des cas selon le type du prélèvement

#### ❖ Représentation graphique selon la nature du prélèvement



**Figure 13:** Répartition des cas selon le type du prélèvement.

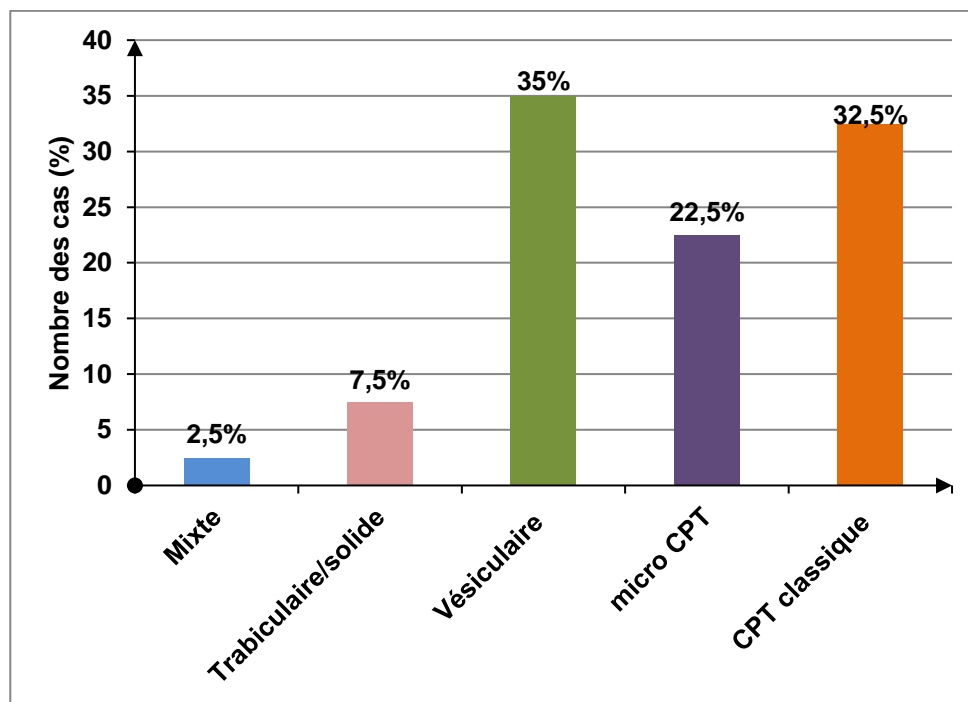
Dans notre étude, trois types d'interventions chirurgicales ont été pratiqués, dont le prélèvement le plus réalisé est la thyroïdectomie totale soit 77,5% de cas, la lobo-isthmectomie représente la deuxième classe après la thyroïdectomie totale soit 20% cas, et le troisième type représenté par une faible répartition avec 2,5% de cas concerne la thyroïdectomie suivie par le curage ganglionnaire. (Figure 13)(Annexe C-tableau 08)

- La taille tumorale est très variable: taille microscopique  $\leq 1$ cm et taille macroscopique  $> 1$ cm.

### Résultats histologiques

#### III.1.3. Répartition des cas selon le type histologique

##### ❖ Représentation graphique selon les variantes du CPT

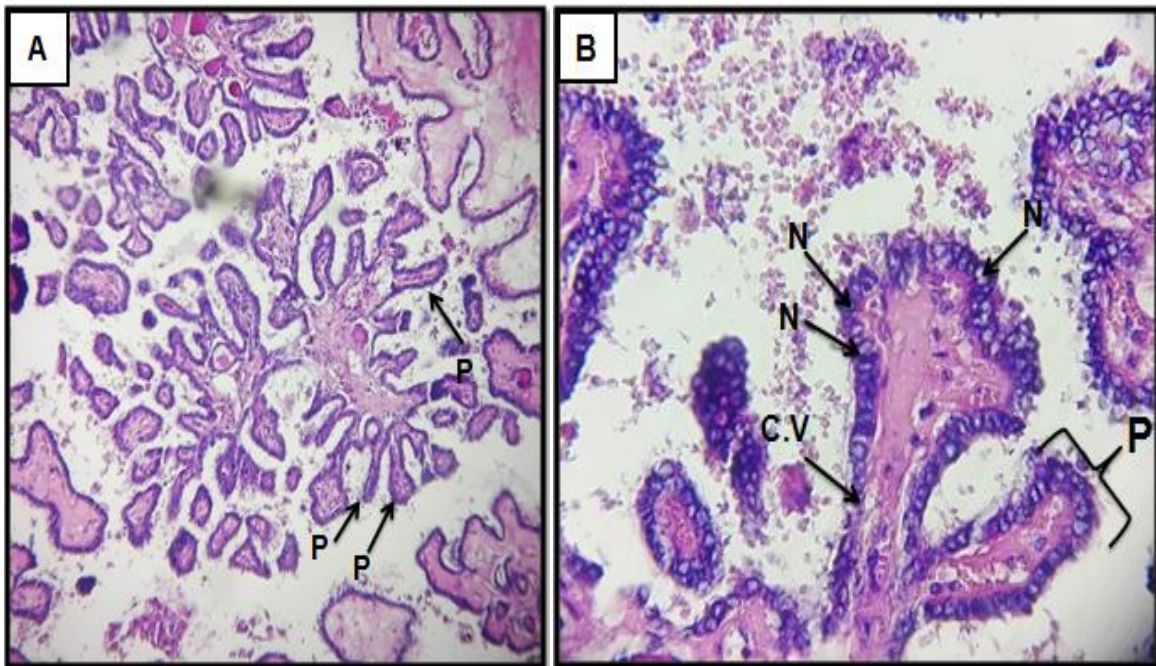


**Figure 14:** Répartition des cas selon les types histologiques.

Dans notre série de 40 cas, nous avons enregistré 05 principaux types histologiques du CPT, répertoriés comme suit : la variante vésiculaire est la plus représentée avec 35% des cas, 32,5% des cas concernent le CPT classique, 22,5% des cas présentent l'aspect micro-CPT et les deux derniers types sont enregistrés par de faibles répartitions, la variante trabéculaire/solide avec 7,5% des cas et pour l'aspect histologique mixte avec 2,5% des cas. (Figure 14) (Annexe C-tableau 09)

### III.2. représentation histologique des différents types du CPT

#### A. Carcinome papillaire classique de la thyroïde



A. Vue générale des papilles (Gr x 10).

B. Aspect microscopique d'architecture papillaire (Gr x40).

**Figure 15:** Aspect microscopique d'un carcinome papillaire classique de la thyroïde, coloration à l'HE.

**P:** Papilles; **N :** Noyaux; **C.V:** axe Conjonctivo-Vasculaire.

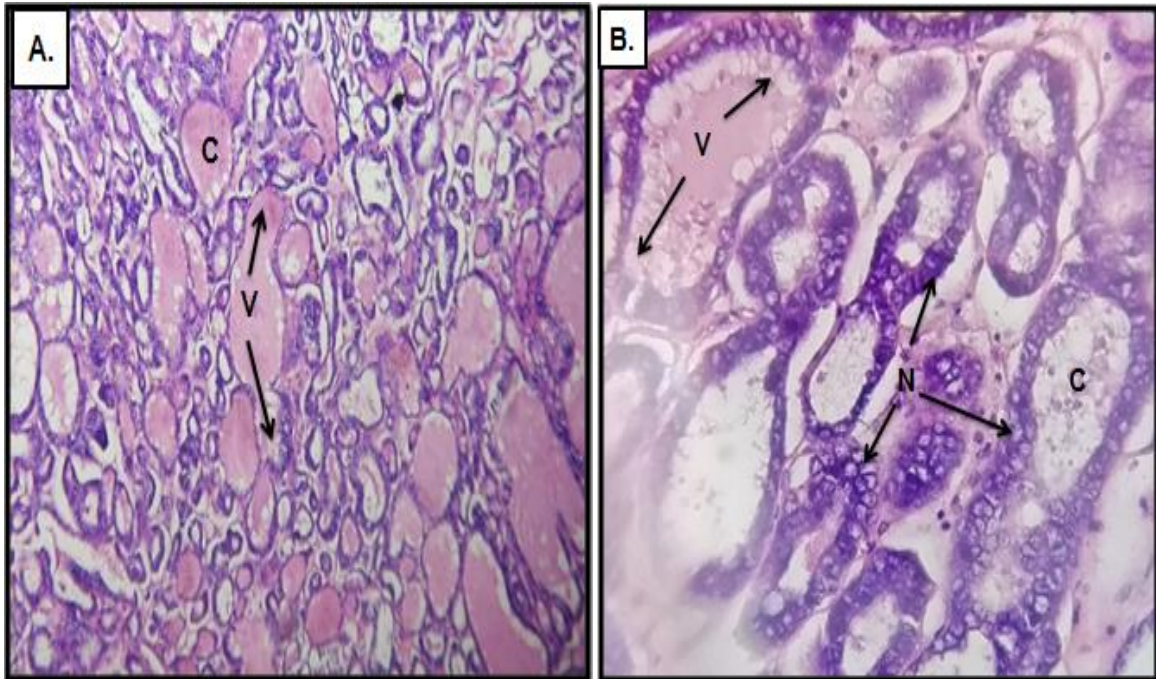
La tumeur, dans ce type de carcinome, est représentée par des papilles, faites d'un axe conjonctivo-vasculaire et de forme allongée. (Figure 15)

#### ➤ Aspects nucléaires du carcinome papillaire de la thyroïde

Les noyaux sont arrondis de forme en grains de café (aussi dénommés «en verre dépoli»), leurs chromatines sont condensées. Ils sont caractéristiques quelle que soit l'architecture de la tumeur. (Figure 15-B)

### B. Les différentes variantes du CPT

#### a. CPT de type Vésiculaire



**A.** Aspect microscopique vésiculaire (Grx10).

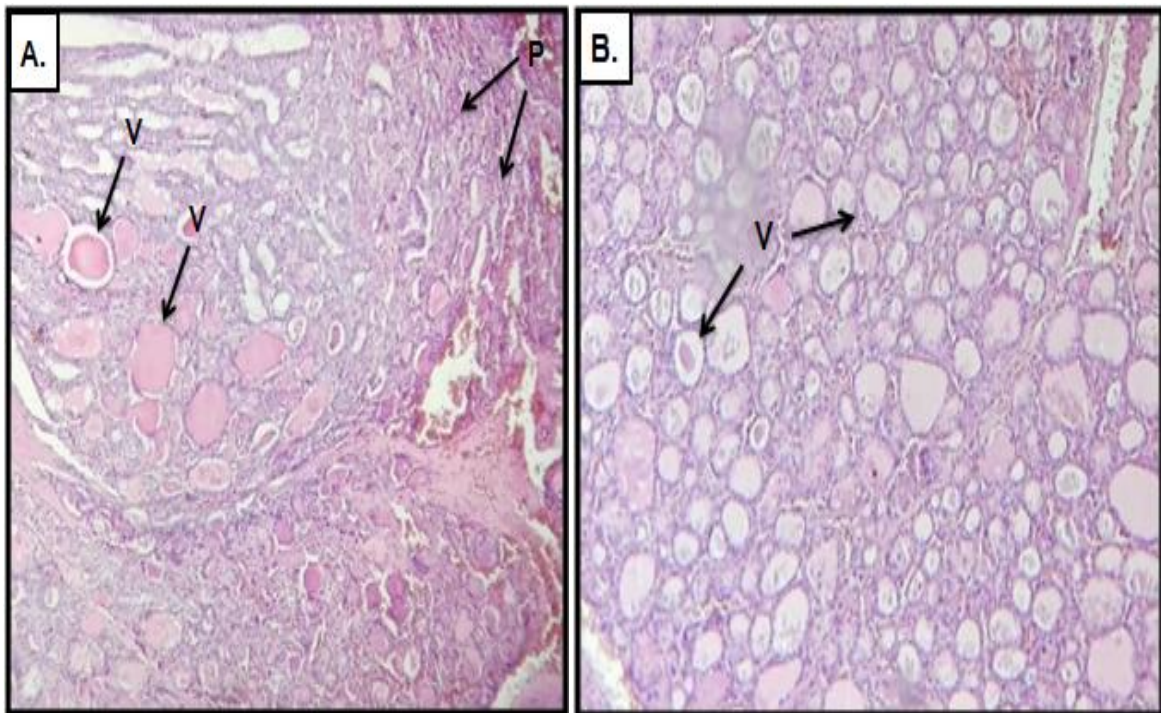
**B.** Aspect microscopique vésiculaire (Gr x 40).

**Figure 16:** Variante vésiculaire du carcinome papillaire (HE).

**V:** vésicule, **C:** colloïde, **N:** noyaux.

Les vésicules sont irrégulières de petite ou de taille moyenne avec des noyaux caractéristiques du CPT. Absence de papilles vraies. (Figure 16)

### b. Micro carcinome papillaire de la thyroïde



A. Micro carcinome papillaire

B. Forme vésiculaire pure du micro-CPT.

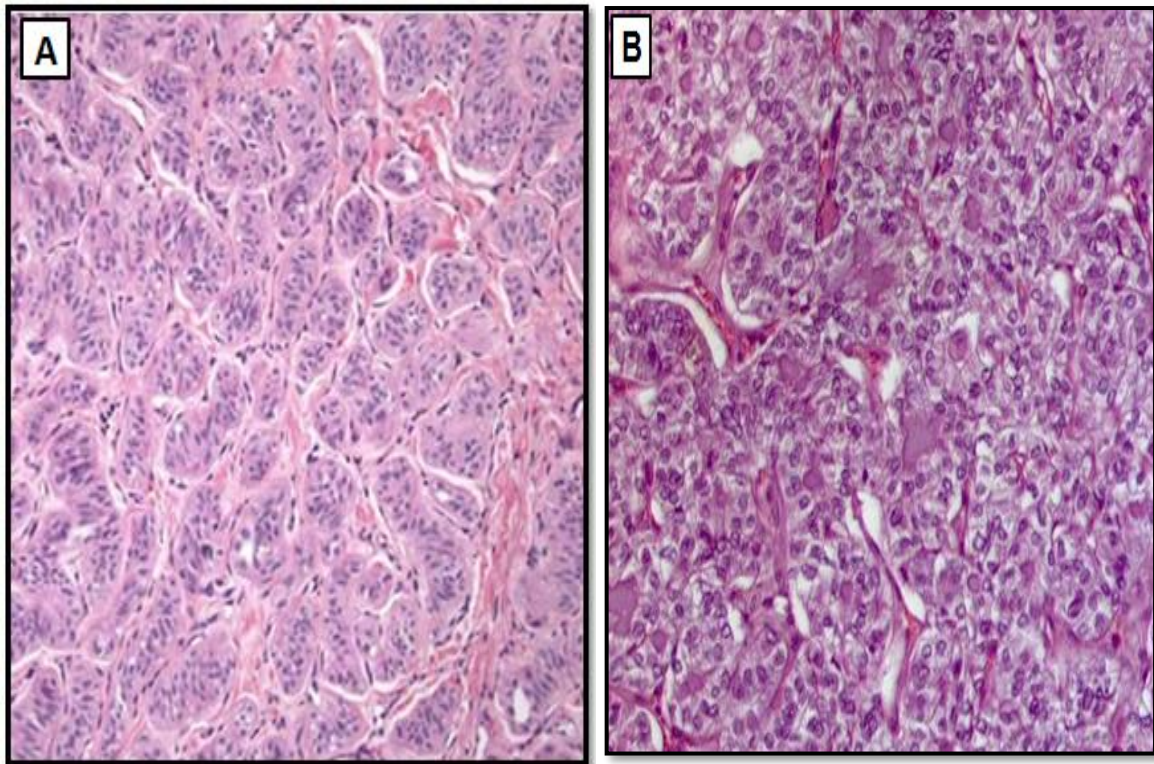
d'architecture mixte.

**Figure 17:**Micro carcinome papillaire (HE; Gr x 10).

**V:** forme vésiculaire. **P:** foyers papillaires.

Cette variante se caractérise par une petite taille de la tumeur qui est inférieure à 1 cm d'où son nom. C'est un cancer de découverte souvent fortuite au cours de l'analyse microscopique d'un goitre ou d'une thyroïdite. Il possède une architecture mixte: papillaire et/ou vésiculaire pure. (Figure 17)

### c. La variante trabéculaire/solide



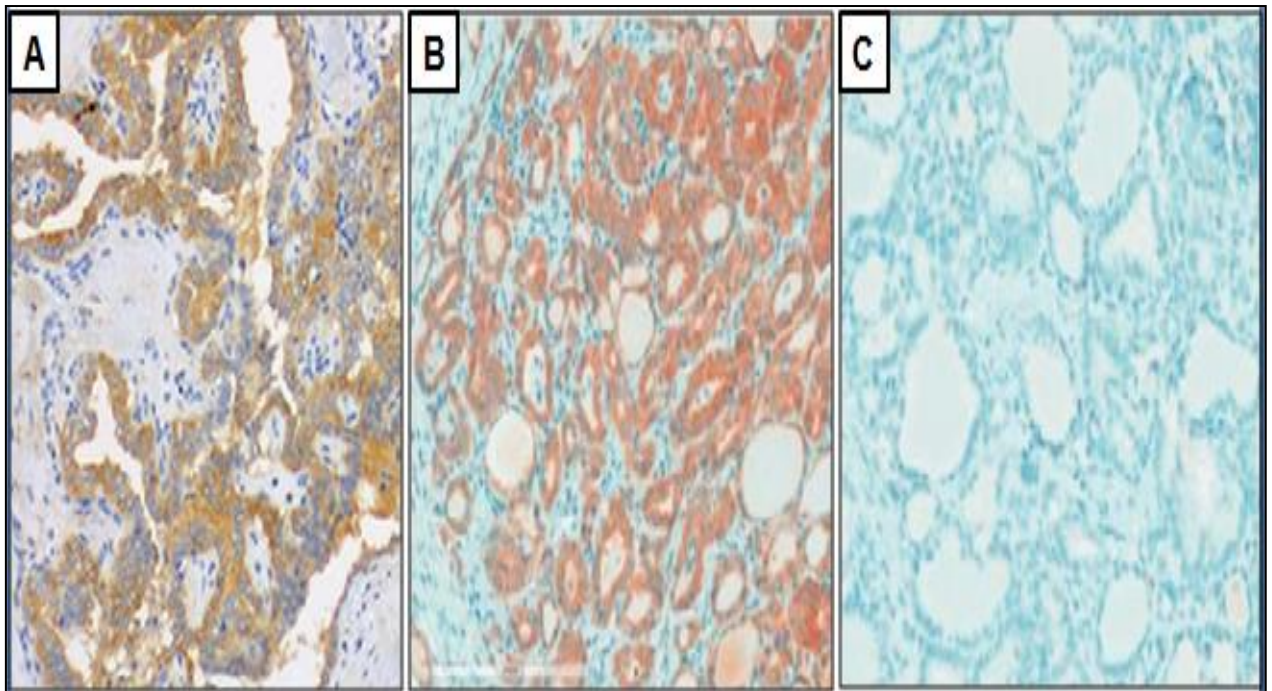
**A.** Aspect microscopique d'architecture trabéculaire . **B.** Aspect microscopique d'architecture solide.

**Figure 18 :** Variante trabéculaire/solide du carcinome papillaire de la thyroïde (HE ; Gr x10).

Cette variante est constituée de Massifs pleins ou épaisses travées fibreuses. (Figure 18)



### III.4. Résultats Immuno-histochimiques de l'expression du B-Raf<sup>V600E</sup>



**A.** Carcinome papillaire thyroïdien classique.

**B.** Micro-carcinome papillaire thyroïdien.

**C.** Variante vésiculaire du CPT.

**Figure 19 :** Expression du B-Raf<sup>V600E</sup> au niveau cytoplasmique dans les variantes du carcinome papillaire de la thyroïde détecté par l'immunohistochimie (Gr x10).

L'expression cytoplasmique du marqueur B-Raf<sup>V600E</sup> est positive dans les deux variantes : le CPT classique avec une forte coloration (3+) (Figure 19-A) et le micro-CPT avec une coloration modérée (2+) (Figure 19-B) et négative dans la variante vésiculaire (aucune coloration observée) (Figure 19-C).

## Chapitre III : Résultats et discussion

---

Le carcinome papillaire est le cancer endocrinien le plus fréquent parmi les carcinomes thyroïdiens représentant environ 70 % à 90% des cancers dans le monde. [ Yip et al. 2015 ; Brecheteau, 2014 ; Kilfoy et al. 2010; Moses et al., 2009 ; Truong et al., 2007].

Il est défini selon l'OMS 2004 comme « une tumeur épithéliale maligne, présentant une différenciation folliculaire évidente, d'architecture papillaire et caractérisée par un aspect nucléaire particulier ».

Les noyaux sont caractéristiques quelle que soit l'architecture de la tumeur.ils sont dits en « verre dépoli ». [Benseraï F/Z., 2011 ; Leenhardt L. al, 2005.]

D'après les données épidémiologiques de nos résultats sur 40 patients atteints de CPT :

Une prédominance féminine [de 39 cas (97,5%)] est observée par rapport au sexe masculin [un seul cas soit 2,5%], cette prédominance est confirmée chez plusieurs chercheurs : HAFID I., 2012, Benseraï F/Z., 2011 ;Krahenbuhl et al, 2012 ; Boumansour et al, 2014 ; Zoghlami et al, 2014 ; Xiaoli et al, 2016.

L'origine de cette inégalité sexuelle serait due à des facteurs hormonaux propres aux femmes, ainsi qu'aux grossesses qui favorisent la constitution de goitres et de nodules thyroïdiens. [DeLellis R. et al., 2004] De plus, l'allaitement pourrait jouer un rôle propre dans l'augmentation transitoire de CPT. [Brindel et al, 2009]

Plusieurs études suggèrent une implication du taux d'oestrogènes circulant dans la pathologie thyroïdienne proliférative. [DeLellis R. et al, 2004 ; Vivacqua A. et al, 2006; Chan EK. et al, 2006]. Cette prédilection féminine reste toutefois encore mal élucidée.

Le CPT survient à tout âge ; L'âge moyen de nos patients est de 43.63 ans ( $\pm 5.92$ ) avec une tranche d'âge la plus représentée de [22- 38[ pour 12 cas (37,5%). Nos données se rapprochent de celles rapportées par Benseraï F/Z, 2011 (de 35,5 ans ) ;Krahenbuhl et al, 2012 (l'âge moyen d'apparition de 30 à 50 ans) ; Boumansour et al, 2014 (de 46 ans) ;Zoghlami et al, 2014 ( de 43,2 ans) ; Sun et al, 2015 (de 41ans) ; Xiaoli et al. 2016 (de 44ans), HAFID I.,2012 (de 43,27 ), Hadjarab S. et al. 2004 (de 46 ans).

## Chapitre III : Résultats et discussion

---

L'âge est un facteur déterminant dans le cancer de la thyroïde, Cela peut être dû à l'irradiation externe de la thyroïde à l'âge adulte et dans l'enfance ou une exposition radioactive dans une zone contaminée qui sont les principaux facteurs de risque. **[Bouklikha C. et Sefiane D. 2014 ; Roger S. et al, 2014]**

Les patients âgés de 20 à 45 ans lors du diagnostic initial présentent la meilleure évolution. Tant que le carcinome reste limité à la thyroïde, l'âge ne présente pas d'incidence pronostique. La situation est différente en cas de métastase. **[Roger S. et al, 2014]**

Concernant la nature du prélèvement, 77% des prélèvements effectués sont des thyroïdectomies totales, 20% pour lobo-isthémectomie et 3% pour une thyroïdectomie + curage, ces chiffres sont proches de l'étude de **Zoghiami et al, 2014.**

Le plus souvent une thyroïdectomie totale est la plus recommandée car, même dans les cancers papillaires de bon pronostic, ce geste donne un taux de récurrence loco régionale plus faible qu'un geste unilatéral (le cancer papillaire est souvent multifocal). **[Bouklikha C. et Sefiane D. 2014]**

Il est uniquement possible de renoncer à une totalisation de la thyroïdectomie en cas de micro-carcinome papillaire (diamètre <1 cm) confiné à la thyroïde et non métastatique, lorsque le diagnostic a été posé après résection partielle de la thyroïde. **[Roger S. et al, 2014]**

On peut discuter un geste limité à une lobo-isthmectomie uniquement dans les formes d'excellent pronostic (âge <45 ans, cancer papillaire <1,5cm uni focal et intra lobaire, et dans les micro-carcinomes). **[Bouklikha C. et Sefiane D. 2014]**

Dans le CPT, la thyroïdectomie est complétée d'un curage ganglionnaire cervical latéral en cas de métastases des ganglions lymphatiques et constitue la première étape et la plus importante des étapes du traitement initial du CPT. **[Roger S. et al, 2014]**

La taille tumorale est très variable : taille microscopique  $\leq$  1cm et taille macroscopique  $>$  1cm.

D'après **Roger S. et al, 2014**, plus la tumeur est volumineuse lors du diagnostic initial, plus le pronostic est défavorable. En cas de CPT de diamètre inférieur à 1,5 cm, la mortalité est extrêmement faible.

## Chapitre III : Résultats et discussion

---

De nombreux facteurs pronostiques ont été proposés par **Ito et al.,2007**; **Döbert et al.,2004** afin d'identifier précocement cette population à risque et limiter ainsi la morbidité et la mortalité liées au CPT. L'âge avancé, le sexe, la taille importante de la tumeur, son extension extra-thyroïdienne, son caractère multifocal, la présence de métastase ganglionnaire et/ou à distance sont des facteurs de risque d'évolution péjorative et de récurrence.

Par ailleurs, l'analyse histopathologique révèle chez nos malades la présence de 5 variantes histologiques différentes du CPT, la variante vésiculaire est la plus fréquente (35%), suivi du CPT classique (32,5%) et puis le micro CPT(22,5%) alors que les formes solide et mixte ne représentent que (7,5%) et (2,5%), ces résultats corroborent ceux de **Baloch et al., 2002** ; **Chan, 2002** ; **Schlumberger et al., 2003** ; **Harach et al., 1985** ; **Tourniaire et al., 1998** ; **Nikiforov et al., 2001** .

Plusieurs auteurs **Watanabe et al., 2009** ; **Espandiha et al., 2009** ; **Nucera et al., 2010** suggèrent que la présence des 5 variantes histologique serait due au gène B-RAF qui régule l'expression de plusieurs gènes susceptibles de modifier les caractéristiques du CPT tels que : la fibronectine, la vimentine, l'iodure de sodium et la thyroperoxydase.

L'utilisation d'anticorps anti-B-Raf<sup>V600E</sup> en immuno-histochimie a montré une expression cytoplasmique de la protéine B-Raf mutée, dont l'expression est positive dans les deux variantes : le CPT classique avec un score de 3+ et le micro-CPT avec un score de 2+ et négative dans la variante vésiculaire du CPT.

Nos résultats confirment ceux de séries plus importantes :

**Xiaoli Z. et al 2016** ; on observe une coloration cytoplasmique tout au long de la tumeur qui a été observée dans les cas IHC-positifs B-Raf<sup>V600E</sup>.

**Ronald A et al. 2013**, ont trouvé que toutes les variantes folliculaires du CPT étaient B-Raf<sup>V600E</sup> négatives.

Et ils ont montré une forte coloration (3+) pour la protéine mutée B-Raf au niveau du CPT classique.

D'après **Tang et Lee, 2010** ; La mutation B-Raf<sup>V600E</sup> est présente dans environ 50% des cas de CPT. Il a été trouvé dans les variantes histologiques agressives et dans le cancer anaplasique de la thyroïde dérivé du CPT, mais elle est rare dans les variantes folliculaires.

## Chapitre III : Résultats et discussion

---

**Girelli et al. 1999 et Sedliarou et al. 2004** indiquent que La mutation B-Raf est fréquemment détectée dans les micro-carcinomes papillaires.

La technique d'IHC est largement utilisée dans les laboratoires de diagnostic de pathologie, car elle a les avantages d'être rapide, simple et peu onéreuse en comparaison avec les techniques de biologie moléculaire. Ces dernières années, l'IHC a été utilisée de plus en plus pour détecter les protéines mutantes en raison de ces avantages. **[Xiaoli et al., 2016]**

Elle permet de détecter la protéine mutante B-Raf<sup>V600E</sup> en utilisant un AC spécifique (VE1) de la mutation, ayant été montré pour avoir une haute sensibilité et spécificité **[Zagzag et al.,2013; Wobker et al., 2015]**. Bien que l'IHC soit un outil de diagnostic clinique utile et mis en place, cette technique avec le B-Raf<sup>V600E</sup> n'est pas encore bien élucidée selon **Zagzag et al., 2013**.

La mutation B-Raf<sup>V600E</sup> est un marqueur de diagnostic plus efficace et spécifique du CPT. En outre, cette mutation est associée à un plus mauvais pronostic et à un comportement clinique plus agressif dans le CPT. **[Mekelet al. 2010; Xing, 2013 ; ZAGZAG et al, 2013; Boursault et al, 2013]**

**Xing et al, 2005**, parmi les événements oncogénétiques identifiés dans le CPT, ont noté une prévalence élevée de la mutation activatrice du gène codant la protéine kinase B-Raf, montré qu'elle est une puissante activatrice dans la voie de signalisation des MAP kinase et joue un rôle important dans la régulation de la croissance, la division et la prolifération cellulaires. Cette mutation survient dans 29 à 83 % dans le CPT. Elle est spécifique du CPT.

D'après **Zoghlami et al., 2014** ; La mutation B-Raf survient précocement dans la tumorigenèse du CPT mais semble insuffisante pour lui conférer un phénotype agressif. On pourrait penser que la mutation B-Raf prédispose les cellules tumorales à la survenue d'autres événements oncogénétiques conduisant à un certain degré de dédifférenciation cellulaire et une évolution péjorative.

Certaines équipes **Trovisco et al., 2005 ; Nikiforova et al.,2003** ont montré que la mutation B-Raf est associée à l'âge avancé du patient et à l'extension extra-capsulaire de la tumeur.

Pour **Lupi et al., 2007** la mutation B-Raf est corrélée à l'extension extra-capsulaire de la tumeur, la présence de métastases ganglionnaires et le stade T avancé.

## Chapitre III : Résultats et discussion

---

**Xing et al., 2005** ; sur une série rétrospective de 219 patients, rapportent une corrélation significative avec l'extension tumorale extra-capsulaire, l'extension ganglionnaire et le stade tumoral avancé.

La revue de la littérature proposée par **Lee et al., 2007** évaluant 12 études incluant un total de 1168 patients trouve une corrélation significative entre la mutation B-Raf et le sous-type histologique du CPT, l'extension extra-thyroïdienne et le stade tumoral avancé. En revanche, il n'existe pas de corrélation significative avec l'âge, le genre, la taille de la tumeur.

**Girelli et al., 1999 ; Sedliarou et al., 2004** ; trouvent que ces discordances dans le rôle pronostique de la mutation B-Raf pourraient être dues à l'inclusion de différents sous-types histologiques de CPT, à des facteurs épidémiologiques, à des durées de suivi insuffisantes, à des séries trop petites ou à l'utilisation de méthodes de recherche de la mutation B-Raf différentes. Par ailleurs, ces résultats contradictoires peuvent être expliqués par la durée d'évolution naturelle de la maladie avant la prise en charge thérapeutique qui est différente pour chacun des patients inclus dans une étude.

**Selon Zagzag et al. 2013; Boursault et al., 2013** ; La mutation B-Raf<sup>V600E</sup> est spécifique pour le CPT dans les tumeurs de la thyroïde et est un marqueur de diagnostic efficace. En outre, la mutation B-Raf<sup>V600E</sup> est associée à un pronostic défavorable dans ce CPT.

**Schulten et al. 2015; Czarniecka et al. 2015; Xing et al. 2014** ; informent dans leurs résultats que la détection B-Raf<sup>V600E</sup> par l'IHC était spécifique pour le diagnostic de CPT.

**Ihle et al., 2014** ; des études limitées ont signalé qu'il n'y avait pas tout à fait une spécificité pour la mutation B-Raf<sup>V600E</sup> : cas rapporté du mélanome qui a montré une intensité modérée par l'IHC et une réactivité croisée avec la mutation B-Raf<sup>V600E</sup>.

La limite de notre étude se trouve dans le faible nombre de patients inclus ce qui peut réduire la puissance de notre étude.

## Conclusion

---

L'étude s'est déroulée au Service d'anatomie pathologique du CHU MUSTAPHA PACHA ALGER sur 40 patients présentant un carcinome papillaire thyroïdien. Elle a pour objectif la mise en évidence du gène B-Raf<sup>V600E</sup> dans le typage des variantes du CPT par technique d'immuno-histochimie.

Le carcinome papillaire thyroïdien est la tumeur maligne la plus fréquente parmi les carcinomes thyroïdiens, survient à tout âge avec une prédominance féminine, son incidence croissante est observée avec le temps. Il a un excellent pronostic si sa découverte est précoce.

Histologiquement, il est caractérisé par une architecture papillaire, il se trouve sous plusieurs variantes, chacune d'elles a une architecture tumorale caractéristique, les noyaux sont caractéristiques quelle que soit l'architecture de la tumeur.

La mutation B-Raf<sup>V600E</sup> joue un rôle important dans le développement et la progression du carcinome papillaire de la thyroïde, il est considéré comme un marqueur de diagnostic [détection par IHC] plus efficace pour le CPT et il est généralement associé à un comportement clinique plus agressif.

De nombreuses altérations génétiques ont été décrites au cours de l'apparition et de la progression du CPT ; donc on ne peut pas prédire que la mutation du B-Raf est un marqueur pur au diagnostic du CPT.

Lors d'un traitement par l'inhibiteur de B-Raf mutée se pose le problème d'une adaptation des cellules tumorales à l'inhibiteur, dont l'intervention d'autres altérations génétiques telles que la mutation de Ras et mutation de MEK...etc. Pour cela, l'inhibition de B-Raf mutée n'est pas la seule voie de traitement du CPT.

Une meilleure compréhension de ces mécanismes permettra d'élargir le développement des thérapies ciblées.

## Références bibliographiques

---

- **Asa S L.** My approach to oncocytic tumours of the thyroid. *J Clin Pathol* . 2004, 57: 226.
- **Baloch Z.W., Li Volsi V.A.,** Follicular patterned lesions of the thyroid. The bane of the pathologist. *Am J Clin Pathol* 2002 ; 117 : 143-150.
- **Bejjani Lina.** Tumeur de la thyroïde. Présentation service de pathologie. 2008 ; p2.
- **Benseraï F/Z,** 2011- Cancer de la thyroïde ; Expérience Algériennes (Série de 554 cas). Ed. l'office des publications universitaires place centrale-Ben Aknoun- Alger p:361,362.
- **Bouklikha Choayb et Sefiane Djamel,** 2014- Cancer de la thyroïde. Thèse Doctorat en Médecine, faculté de médecine de Tlemcen, p2.
- **Boumansour N., Beldjilali H., Agag F., Ouhaj R., Tidjani N., Midoun.** Profil épidémiologique des cancers thyroïdiens à l'Oest algérien. *Revue d'Epidémiologie et de Santé Publique*. 2014, volume 62 : 1-4.
- **Boursault, L., Haddad, V., Vergier, B., et al.,** 2013. Tumor homogeneity between primary and metastatic sites for BRAF status in metastatic melanoma determined by immunohistochemical and molecular testing. *PLoS One*. 8 (8), e70826 Aug 20.
- **Brecheteau Clémence.,** 2014- carcinomes différenciés de la thyroïde : indication chirurgicale et place de l'évidement ganglionnaire systématique en cas de nodule suspect. Thèse Doctorat en Médecine, faculté de médecine D'ANGERS, 12 p.
- **Brindel P., Doyon F., Rachedi F., Boissin J.L., Sebbag J., Shan L., et al.** 2009, « anthropometric factors in differentiated thyroid cancer in French polynesia : A cas-control study ». *Cancer causes control.*, 20: 581-590.
- **Brose MS, Troxel AB, Redlinger M, Harlacker K, Redlinger C, Chalian AA, et al.** Effect of BRAFV600E on response to sorafenib in advanced thyroid cancer patients [abstract]. *J Clin Oncol* 2009;27:6002.
- **Broutin Sophie,** 2013- Pharmacologie moléculaire du sunitinib et du vandetanib, deux inhibiteurs d'activité kinase, dans le cancer médullaire de la thyroïde. Thèse Doctorat en Médecine, faculté de médecine de Paris sud 11. p:11 et 12.
- **Buffet Camille,** 2014- Anomalies moléculaires de la voie MAPK et cancer papillaire de la thyroïde : étude de deux phosphatases spécifiques de ERK, DUSP5 et DUSP6. Thèse Doctorat de Cancer. Faculté de Paris Descartes, p:20-24 et 31-33.
- **Chan EK, Sepkovic DW, Yoo Bowne HJ, Yu GP, Schantz SP.** 2006, A hormonal association between estrogen metabolism and proliferative thyroid disease. *Otolaryngol Head Neck Surg*; 134:893-900.
- **Chan J.K.C.** Strict criteria should be applied in the diagnosis of encapsulated follicular variant of papillary thyroid carcinoma *Am J Clin Pathol* 2002 ; 117 : 16-18.
- **Chen Z, Gibson TB, Robinson F et al.** MAP Kinases. *Chem Rev* 2001 ;101(8) :2449-76.



## Références bibliographiques

---

- **Czarniecka, A., Kowal, M., Rusinek, D., et al.**, 2015. The risk of relapse in papillary thyroid cancer (PTC) in the context of BRAF V600E mutation status and other prognostic factors. *PLoS One*.10 (7), e0132821.
- **Degl'Innocenti D, Romeo P, Tarantino E, Sensi M, Cassinelli G, Catalano V, et al.** DUSP6/MKP3 is overexpressed in papillary and poorly differentiated thyroid carcinoma and contributes to neoplastic properties of thyroid cancer cells. *Endocrine related cancer* 2013;20(1):23-37.
- **DeLellis RA, Liloyd RD, Heitz PU, et al.** 2004, World Health Organisation classification of tumors: Tumors of endocrine organs. IARC Press. Lyon, France: 502p.
- **DeLellis RA, Williams ED, LiVolsi VA, Albores-Saavedra J, Asa SL, Baloch ZW et al.** Papillary carcinoma. In: DeLellis RA, et al., eds. World Health Organization classification of tumours: Pathology and genetics of tumours of endocrine organs. Lyon: IARC Press 2004.
- **Döbert N, Menzel C, Oeschger S, et al.** Differentiated thyroid carcinoma: the new UICC 6th edition TNM classification system in a retrospective analysis of 169 patients. *Thyroid* 2004;14:65–70.
  
- **Do Cao C.**, 2010- chapitre 9 - cancer de la thyroïde. Les maladies de la thyroïde. Ed. Elsevier Masson. p72.
- **Dultz LA, Dhar S, Ogilvie JB, Heller KS, Bar-Sagi D, Patel KN.,** 2013, Clinical and therapeutic implications of Sprouty2 feedback dys-regulation in BRAF V600E mutation-positive papillary thyroid cancer. *Surgery* 2013;154(6):1239-44; discussion 44-5.
- **Durante C, Puxeddu E, Ferretti E, Morisi R, Moretti S, Bruno R, et al.**, 2007, BRAF mutations in papillary thyroid carcinomas inhibit genes involved in iodine metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92(7):2840-3.
- **Espadinha C., Santos J.R., Sobrinho L.G., Bugalho M.J.** 2009. Expression of iodine metabolism genes in human thyroid tissues: evidence for age and BRAF V600E mutation dependency. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 70 (4): 629-35.
- **Eymerit-Morin C.**, 2014- Etude de la mutation BRAF V600E dans les carcinomes papillaires de la thyroïde sur une série rétrospective de 363 patients. Thèse de Doctorat en Médecine, Faculté de Médecine d'Angers, 24p.
- **Frederique Tissier et Caroline Eymont-Morin** , 4ème édition 2014, Mémento de pathologie, p : 338.
- **Gauchotte Guillaume**, 2010- Etude de l'expression des récepteurs aux rétinoïdes acides et rétinoïdes  $\alpha$ ,  $\beta$ , et analyse du statut de méthylation du promoteur de RAR  $\beta$ 2 dans les carcinomes de la thyroïde. Thèse Doctorat en Médecine, Faculté de Médecine de NANCY, 22p.
  
- **Gia-Khanh Nguyen, Mark W Lee, Jody Ginsberg, Tina Wragg and Darcy Bilodeau.** Fine-needle aspiration of the thyroid: an overview. *CytoJournal* 2005, 2: 8.
  
- **Girelli ME, Casara D, Rubello D, et al.** Differentiated thyroid carcinoma (DTC) in the elderly: disease outcome, therapeutic approach, and long-term results in a group of 314 patients. *J Endocrinol Invest* 1999;22:45–6.

## Références bibliographiques

---

- **Greaves S, Olvera M, Fiorentine BD et I.** Follicular lesions of thyroid : fined needle aspiration experience Cancer.2006 ; 90:335-41.
- **Guidoum Mouna.** 2014, 2015- Biodiversité génétique, Cancer de la thyroïde et environnement. Thèse de Doctorat en Biologie, Faculté des Sciences de Annaba, P:123-134.
- **Hadjarab S, Abdesselem F, Chentli F.,** 2004, Cancer de la thyroïde du sujet jeune. Ann Endoc ; 65 : 299 – 300.
- **Hafid Imane,** 2012- Registre Hospitalier Des Cancers Resultats Preliminaires Du Service D'anatomie Pathologique CHU HASSAN II FES (A propos de 5532 cas). Thèse de Doctorat en Médecine, faculté de Médecine et de pharmacie de Fes.
- **Hammouda D., S.MAARAF., R. LALAOUI., C. KADRI., K. BOUZERAR., et al,** 2012 – REGISTRE DES TUMEURS D'ALGER. Edition 2015 Ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière, Institut National de la Santé Publique.
  
- **Harach H.R., Franssila K.O., Wasenius S. V.** Occult papillary carcinoma of the thyroid : A normal finding in Finland. Cancer 1985 ; 56 : 531.
- **Hazard JB.** 1977. The C cells (parafollicular cells) of the thyroid gland and medullary thyroid carcinoma. A review. Am Pathol J. 88(1):213-50.
  
- **Hodgson N. Butten J. Solerzino C.** Thyroid cancer: in the incidences in the increasing? Ann Surg Oncol. 20;11 (2012) 109-7.
- **Hofman Paul,** 2011, Apport de la biologie moléculaire en pathologie thyroïdienne, revue francophone des laboratoires anatomie et cytologie pathologiques, p : 50,51.
- **Hoftijzer H, Heemstra KA, Morreau H, Stokkel MP, Corssmit EP, Gelderblom H, et al.** Beneficial effects of sorafenib on tumor progression, but not on radioiodine uptake, in patients with differentiated thyroid carcinoma. Eur J Endocrinol 2009;161:923–31.
- **Hsiao SJ, Nikiforov YE.,** 2014, Molecular approaches to thyroid cancer diagnosis. Endocr Relat Cancer;21:T301-13.
- <http://www.algerie360.com/algerie/cancers-et-maladies-de-la-thyroide-les-specialistes-reclament-plus-de-moyens/>
  
- **Ihle, M.A., Fassunke, J., König, K., et al.,** 2014. Comparison of high resolution melting analysis, pyrosequencing, next generation sequencing and immunohistochemistry to conventional Sanger sequencing for the detection of p.V600E and non-p.V600E BRAF mutations. BMC Cancer 14, 13 Jan 10.
- **Ito Y, Miyauchi A, Jikuzono T, et al.** Risk factors contributing to a poor prognosis of papillary thyroid carcinoma: validity of UICC/AJCC TNM classification and stage grouping. World J Surg 2007;31:838–48.
  
- **Jian Sun, Jing Zhang\*, Junliang Lu, Jie Gao, Tao Lu, Xinyu Ren, Huanli Duan, Zhiyong Liang.** Immunohistochemistry is highly sensitive and specific for detecting the BRAF V600E mutation in papillary thyroid carcinoma. Int J Clin Exp Pathol. 2015, 8(11): 15075.
- **Kevin B.** Clinical responses to vemurafenib in patients with metastatic papillary thyroid cancer harboring BRAF V600E mutation. Thyroid 2013; 23(10).

## Références bibliographiques

---

- **Kilfoy BA, Zheng T, Holford TR, Han X, Ward MH, Sjodin A, et al.** International patterns and trends in thyroid cancer incidence, 1973–2002. *Cancer Causes Control* 2009;20:525–31.
- **Kim DL, Song KH, Kim SK.** High prevalence of carcinoma in ultrasonography-guided fine needle aspiration cytology of thyroid nodules. *Endo J.* 2008;5 (1:135-42).
- **Kimur ET, Nikifrova MN, hu Z, Knuf A, Nikiforova YE,** Référencesb *CI North Am* 2007;3 (3 :707-35).
- **Kondo T., Ezzat S., Sylvia L.As.** 2006 “pathogenetic mechanisms in thyroid follicular cell neoplasia”. *Nature Publishing Group.*, 6: 292-306.
- **Krahenbuhl T., Portmann L., Anchisis.,** Cancers différenciés de la thyroïde : prise en charge et place des nouvelles thérapies ciblées. *Revue Médicale Suisse.* 23 mai 2012, 8: 1112.
- **Krauthammer M, Kong Y, Ha BH, Evans P, Bacchiocchi A, McCusker JP, et al.** Exome sequencing identifies recurrent somatic RAC1 mutations in melanoma. *Nature genetics* 2012;44(9):1006-14.
- **Kumar A. CM, Goldesten E.** stradiol-nduce proliferation of papillary and follicular thyroid cancer cell is mettiated by gen receptors  $\alpha$  and  $\beta$ . *Int J Oncol* 2010, 36(5):106 -80.
  
- **laurencebernard, fredericbeziaud, francois bories, et al.,** 2015, Cancer de la thyroïde, Réseade oncérologie de la régioncentre ([http://www.oncocentre.org/dcc/ref\\_thyroïde.htm](http://www.oncocentre.org/dcc/ref_thyroïde.htm)).
  
- **Leboulleux S., Déandreis D., Lumbroso J., Baudin E., Schlumberger M.** 2014. Cancer de la thyroïde et traitement par iode 131. *Medecine Nucléaire.*, 38 : 172-178.
- **Leclère J.OJ, Rousset B., Schienger J.L., Wémeau J.L.,** 2001. La thyroïde. Amsterdam: Elsevier.
  
- **Lee JH, Lee ES, Kim YS.** Clinicopathologic significance of BRAF V600E mutation in papillary carcinomas of the thyroid: a meta-analysis. *Cancer* 2007;110:38–46.
  
- **Leenhardt Laurence,** 2014- Cancer de la thyroïde. Ed. Paris- France. 5p.
  
- **Les traitements des cancers de la thyroïde,** collection Guides patients Cancer info, INCa, juillet 2013.([www.e-cancer.fr](http://www.e-cancer.fr)).
  
- **Lise Boussemart,** 2015, Inhibiteurs de BRAF dans le traitement du cancer: Contribution à l'étude des mécanismes de résistance et des effets secondaires paradoxaux, Université ParisSud - Paris XI, p 11.
- **Long GV, Menzies AM, Nagrial AM, Haydu LE, Hamilton AL, Mann GJ, et al.,** 2011, Prognostic and clinicopathologic associations of oncogenic BRAF in metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 2011;29(10):1239-46.
- **Longvert Christine et Larue Lionel.** B-Raf : biology and function. Centre de recherche Développement normal et pathologie des mélanocytes, CNRS UMR3347 ; Inserm U1021, Orsay. 2012 ; Vol.I – n° 1 : 15,16p.

## Références bibliographiques

---

- **Lupi C, Giannini R, Ugolini C, et al.** Association of BRAF V600E mutation with poor clinicopathological outcomes in 500 consecutive cases of papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:4085–90.
- **Maladies des glandes endocriniennes et du métabolisme**, 1977- Ed. Institut des sciences médicales. p: 80 ;82.
- **Martin Antonia Pérez, Dausat**, 2007- Régulation hormonale et Chronobiologie – Physiologie des hormones – Physiologie de la glande thyroïde. 2<sup>e</sup> Ed. 2001, CHU de Nîmes, Paris. P6.
- **Mekel, M., Nucera, C., Hodin, R.A., et al.**, 2010. Surgical implications of B-RafV600E mutation in fine-needle aspiration of thyroid nodules. *Am J Surg*. 200 (1), 136–143 Jul.
- **Mesa C, Jr., Mirza M, Mitsutake N, Sartor M, Medvedovic M, Tomlinson C, et al.**, 2006; Conditional activation of RET/PTC3 and BRAFV600E in thyroid cells is associated with gene expression profiles that predict a preferential role of BRAF in extracellular matrix remodeling. *Cancer Res* 2006;66(13):6521-9.
- **Montero-Conde C, Ruiz-Llorente S, Dominguez JM, Knauf JA, Viale A, Sherman EJ, et al.**, 2013, Relief of feedback inhibition of HER3 transcription by RAF and MEK inhibitors attenuates their antitumor effects in BRAF-mutant thyroid carcinomas. *Cancer discovery*;3(5):520-33.
- **Moussaoui Khadija.**, 2009 – LES CANCERS THYROIDIENS Aspects épidémiologiques, cliniques, paracliniques, anatomopathologiques, thérapeutiques et évolutifs. Thèse du Doctorat En Médecine. Faculté de Médecine Et De Pharmacie MARRAKECH, 46p.
- **Ma z ferri** Management of thyroid nodule. *Engl J Med* 1993;328 8):553-9.
- **Nauf JA, Fangin JA.** Role of MAPK pathway oncoprotein in thyroid cancer pathogenesis and as drug targets *Currepin Cell* .2009 (21 2):2 6-303.
- **Nikiforov A, Nikiforov Y** .Molecular diagnostics and predictors in thyroid cancer. 2009 ;19(12) 351-61.
- **Nikiforova MN, Kimura ET, Gandhi M, et al.** BRAF mutations in thyroid tumors are restricted to papillary carcinomas and anaplastic or poorly differentiated carcinomas arising from papillary carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:5399–404.
- **Nikiforov Y.E., Erickson L.A., Nikiforova M.N., Caudill C.M., Lloyd R.V.** Solid variant of papillary thyroid carcinoma: incidence, clinical-pathologic characteristics, molecular analysis, and biologic behaviour. *Am J Surg Pathol* 2001 ;25 (12) : 1478-1484.
- **Nikiforov YE, Stewar DL Robin on-Smith T et al.** Molecular testing for mutations in improving the fine needle aspiration diagnostics of thyroid nodule .*Endocrino Meta* 2009;94(6):2 92 8.
- **Nikiforov YE.** Thyroid carcinoma : molecular pathways and therapeutic targets. *Mod Pathol* 2008;21 (Suppl.2):S37-43.
- **Nucera C., Lawler J., Hodin R., Parangi S.** 2010. The BRAF V600E mutation: what is it really orchestrating in thyroid cancer .*Oncotarget.*, 1(8): 751-756.

## Références bibliographiques

---

- **Olo Na M, Gros laude P, R Montet L I.** Incidence of thyroid cancer in dults recorded by French cancer registrie (1978). Euro J Cancer 2002 38(13):17 2.
- **Raman M, Chen W, Cobb M .** Differentia revulation and propertie of MAPKs Oncogene 2007;26(22):31 0-12.
- **Roger Schneitera, Markus Weberb, HenrykZulewskia, Christoph A. Meier.**Diagnostic et traitement du cancer différenciéde la thyroïde. Forum Med Suisse.2014 ; 14(9) : 171,172,173.
- **Ronald A. Ghossein, Nora Katabi, and James A. Fagin,** August 2013, Immunohistochemical Detection of Mutated BRAFV600E Supports the Clonal Origin of BRAF-Induced Thyroid Cancers Along the Spectrum of Disease Progression, E1414 jcem.endojournals.org J ClinEndocrinolMetab, , 98(8):E1414–E1421.
- **Rose MS, Cabanillas ME, Cohen EEW, et al.** 2013; An open-label, multi-center phase 2 study of the BRAF inhibitor vemurafenib in patients with metastatic or unresectable papillary thyroid cancer (ptc) positive for the BRAF V600 mutation and resistant to radioactive iodine. In: European Cancer Congress [Abstract LBA28].
- **Ryndak-Swiercz A.,**2009- Chapitre1 : Ontogenèse, anatomie, histologieet physiologie de la thyroïde.p6.
- **Sala E, Mogni L, Truffa S, Gaetano C, Bollag GE, Gambacorti-Passerini C.,** 2008, BRAFsilencing by short hairpin RNA or chemical blockade by PLX4032 leads to differentresponses in melanoma and thyroid carcinoma cells. Molecular cancer research : MCR;6(5):751-9.
- **Schlumberger MJ, Filetti S, Hay ID.**Non toxic goiter and thyroid neoplasia. In: Larsen RP,Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS, editors. Williams' Textbook of Endocrinology. 10th edition. Philadelphia: WB Saunders Company; 2003. p. 457–90.
- **Schlumberger Martin,** 2010 ;2007- le cancer de la thyroïde. Edition actualisée janvier 2010 à l'institut Gustave Roussy (IGR), à ville juif (94).p:4,5.
- **Schulten, H.J., Alotibi, R., Al-Ahmadi, A., et al.,** 2015. Effect of BRAF mutational status onexpression profiles in conventional papillary thyroid carcinomas.BMC Genomics 16(Suppl. 1), S6 Published online 2015 January 15.
- **Sedliarou I, Saenko V, Lantsov D, et al.** The BRAFT1796A transversion is aprevalent mutational event in human thyroid microcarcinoma. Int J Oncol2004;25:1729–35.
- **Sobin L.H., G.M.K., Wittekind C.,** The TNM classification of malignant tumours. UICC International Union Against Cancer, 2009. 7th Edition.
- **Société canadienne du cancer,** 2008, Cancer de la thyroïde : Comprendre le diagnostic, p : 9.
- **Tang T.K., Lee C.H.,** 2010. BRAF mutation in papillary thyroid carcinoma: pathogenic role and clinical implications. J Chin Med Assoc., 73: 113-115p.
- **Tourniaire J., Bernard M.H.,Bizollon-Roblin M.H., Berthollon-Gregoire M, Berger N.** Le micro-carcinomepapillaire de la thyroïde.179 casobservésdepuis 1973. PressMed1998 ; 27 : 1467-1469.
- **Trovisco V, Soares P, Preto A, et al.** Type and prevalence of BRAF mutations areclosely associated with papillary thyroid carcinoma histotype

## Références bibliographiques

---

and patients' age but not with tumour aggressiveness. *Virchows Arch* 2005;446:589–95.

- **Truong T, Rougier Y, Dubourdieu D, Guihenneuc-Jouyaux C, Orsi L, Hemon D, et al.** Time trends and geographic variations for thyroid cancer in New Caledonia, a very high incidence area (1985–1999). *Eur J Cancer Prev* 2007;16:62–70.

- **Vivacqua A, Bonofiglio D, Albanito L, Madeo A, Rago V, Carpio A, et al.** 2006, 17β-estradiol, genistein, and 4-hydroxytamoxifen induce the proliferation of thyroid cancer cells through the G protein-coupled receptor GPR30. *Mol Pharmacol*; 70:1414–23. Les cancers thyroïdiens.

- **Waltz, A.E., Pao, A., Sacks, W., et al.,** 2014. BRAF genetic heterogeneity in papillary thyroid carcinoma and its metastasis. *Humanities* 45 (5), 935–941.

- **Wan PT, Garnett MJ, Roe SM, Lee S, Niculescu-Duvaz D, Good VM, et al.,** 2004, Mechanism of activation of the RAF-ERK signaling pathway by oncogenic mutations of B-RAF; 116(6):855–67.

- **Watanabe R., Hayashi Y., Sassa M., Kikumori T., Imai T., Kiuchi T., Murata Y.** 2009. Possible involvement of BRAF V600E in altered gene expression in papillary thyroid cancer. *Endocr J.*, 56 (3): 407–414.

- **Wémeau J.-L.,** 2014- Endocrinologie, diabète, métabolisme et nutrition. Ed. Elsevier Masson. p:43.

- **Wobker, S.E., Kim, L.T., Hackman, T.G., et al.,** 2015. Use of BRAF v600e immunocytochemistry on FNA direct smears of papillary thyroid carcinoma. *Cancer Cytopathol.* 123 (9), 531–539 Sep.

- **Xiaoli Zhu, Yanli Luo, Qianming Bai, Yongming Lu, Yiqiong Lu, Lijing Wu, Xiaoyan Zhou.** Specific immunohistochemical detection of the BRAF V600E mutation in primary and metastatic papillary thyroid carcinoma. *Experimental and Molecular Pathology.* 2016, 100: 236–237–240.

- **Xing, M.,** 2005. BRAF mutation in thyroid cancer. *Endocr. Relat. Cancer* 12 (2), 245–262.

- **Xing, M., Liu, R., Liu, X., et al.,** 2014. BRAF V600E and TERT promoter mutations cooperatively identify the most aggressive papillary thyroid cancer with highest recurrence. *J. Clin. Oncol.* 1 (32(25)), 2718–2726.

- **Yassa L, Cibas E, Enson CB et al.** Long term assessment of a multidisciplinary approach to thyroid nodules diagnostic evaluation. *Cancer* . 2007 111(6):50–16.

- **Yip, L., Nikiforova, M.N., Yoo, J.Y., et al.,** 2015. Tumor genotype determines phenotype and disease-related outcomes in thyroid cancer: a study of 1510 patients. *Ann. Surg.* 262(3), 519–525 Sep.

- **Zagzag, J., Pollack, A., Dultz, L., et al.,** 2013. Clinical utility of immunohistochemistry for the detection of the BRAF v600e mutation in papillary thyroid carcinoma. *Surgery* 154(6), 1199–1204.

- **Zoghalmi A., Roussel F., Sabourin J.-C., J.-M. Kuhn, J.-P. Marie, D. Dehesdina, O. Choussy.** La mutation BRAF dans le carcinome papillaire de la thyroïde : intérêt dans le pronostic à long terme et dans l'iodosensibilité. *Annales françaises d'oto-rhino-laryngologie et de pathologie cervico-faciale.* 2014 ; 131 : 8p.

## Annexe A

**Tableau 01:** Classification histologique de l'OMS 2004.[Delellis RA. et al,2004]

Tumeurs épithéliales primitives	
Tumeurs bénignes	Tumeurs malignes
<p>Adenomes thyroïdiens</p> <p style="padding-left: 40px;">Formes habituelles</p> <p style="padding-left: 40px;">Autres variétés</p>	<p style="color: red;">a-A différenciation thyrocytaire</p> <p style="padding-left: 40px;">carcinomes vésiculaires</p> <p style="padding-left: 40px;">carcinomes papillaires</p> <p style="padding-left: 40px;">carcinomes oncocytaires</p> <p style="padding-left: 40px;">carcinome insulaires</p> <p style="color: red;">b-A cellules C</p> <p style="padding-left: 40px;">carcinomes médullaires</p> <p style="color: red;">c-A calcitonine et thyroglobuline</p> <p style="padding-left: 40px;">carcinome mixtes</p> <p style="color: red;">d-indifférenciées</p> <p style="padding-left: 40px;">carcinome indifférenciées.</p>

**Tableau 02:** les principales altérations génétiques.[Guidoum M. 2015]

Gène	Type d'anomalie	Fréquence
RET/PTC	réarrangement	Adulte 20-30% Enfant 50-60%
TRK	réarrangement	10%(TRH, TGF)
Ras	Mutation ponctuelle	10-20% le plus souvent n-ras codon61
B-RAF	Mutation ponctuelle	29-69% <sup>[48]</sup>

**Tableau 03:** Groupement par stades.[Sobin L. et al,2009]

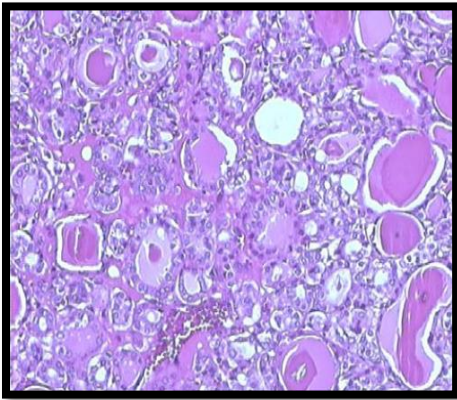
	<45ans	≥45ans
Stade I	Tout T, tout N, M0	T1,N0,M0
Stade II	Tout T, tout N, M1	T2,N0,M0
Stade III	NA	T3,N0,M0 T1-3,N1a,M0
Stade IV	NA	T1-3,N1b,M0-1 T4,N0-1, M0-1

**Tableau 04:** Classification pTNM actualisée en 2010.[Sobin L. et al,2009]

Tumeur primitive T	
Tx	Non évalué.
T1	Tumeur de diamètre ≤2cm ne dépassant pas la capsule thyroïdienne.
T2	Tumeur de diamètre de 2 à 4 cm ne dépassant pas la capsule thyroïdienne.
T3	Tumeur de diamètre >4cm ou avec extension extra-thyroïdienne minimale.
T4	Tumeur dépassant largement la capsule thyroïdienne : T4a : vers tissu sous-cutané, larynx, trachée, œsophage, récurrent. T4b : vers aponévrose pré-vertébrale ou des vaisseaux médiastinaux ou englobant l'artère carotide.
Adénopathies régionales N	
Nx	Non évalué.
N0	Absence de métastase ganglionnaire.
N1a	Adénopathies métastatiques régionales dans le compartiment central du cou.
N1b	Adénopathies métastatiques régionales, cervicales uni, bi/controlatérales ou médiastinales supérieures.
Métastases M	
M0	Absence de métastase.
M1	Présence de métastase(s).

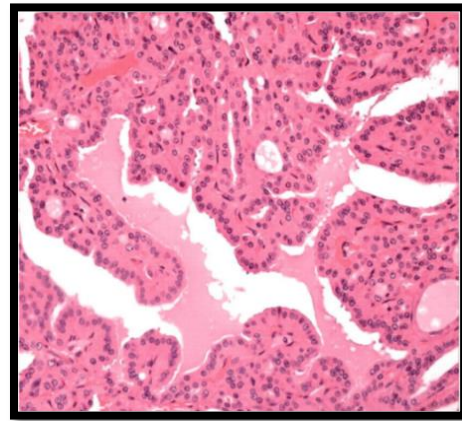


**Figure 20:** Histologie : d'aspects microscopique des principales variantes du CPT classique.



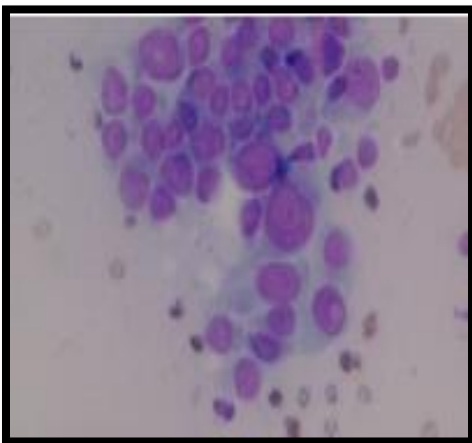
**A-** CPT à variante vésiculaire (HE×250).

**[Moussaoui K., 2009]**



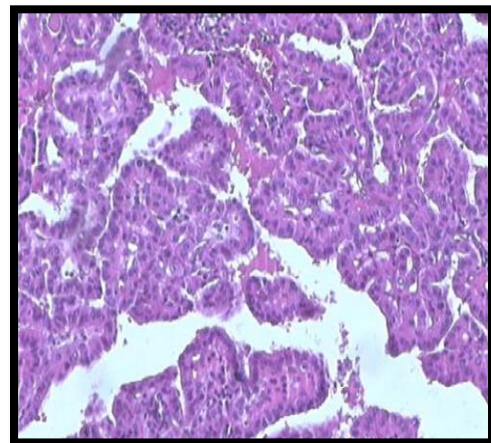
**B-** CPT à cellules oncocytaires (HE×400).

**[Asa S. 2004]**



**C-**CPT à cellules hautes (HE×400).

**[Gia-Khanh N. et al,2005]**



**D-**CPT à cellules cylindriques (HE×400).

**[Moussaoui K., 2009]**

## Annexe B

**Tableau 05** : caractéristiques des patients de la série.

	Numéro	Age	Sexe	Prélèvements
1	672/16	23	F	Tyroïdectomie totale
2	16739/15	43	F	Thyroïdectomie totale
3	12761/15	78	F	Thyroïdectomie totale
4	11710/15	48	F	Thyroïdectomie totale
5	11470/15	43	F	Thyroïdectomie totale
6	11541/15	30	F	Thyroïdectomie totale
7	11513/15	75	F	Thyroïdectomie totale
8	8415/15	75	F	Thyroïdectomie totale
9	7197/15	29	F	Thyroïdectomie totale
10	7202/15	31	F	Thyroïdectomie totale
11	4876/15	48	F	Thyroïdectomie totale
12	2317/15	26	F	Lobo isthmectomie
13	252/15	56	F	Thyroïdectomie totale
14	18397/14	35	F	Thyroïdectomie totale
15	494/14	68	F	Lobo isthmectomie
16	17863/14	32	F	Thyroïdectomie totale
17	17862/14	50	F	Thyroïdectomie totale
18	16507/14	36	F	Thyroïdectomie totale
19	15715/14	41	F	Lobo isthmectomie
20	13137/14	25	F	Thyroïdectomie totale
21	12466/14	22	F	Lobo isthmectomie
22	11079/14	31	F	Thyroïdectomie totale
23	8087/14	44	F	Lobe thyroïdien gauche
24	2733/14	56	F	Thyroïdectomie totale
25	15157/13	54	F	Nodule thyroïdien
26	1766/13	49	F	Thyroïdectomie totale
27	15119/12	6	F	Nodule thyroïdien
28	14403/12	60	F	Thyroïdectomie totale
29	15169/12	60	F	Thyroïdectomie totale- curage gg
30	15695/12	30	F	Lobo isthmectomie gauche
31	11251/12	57	F	Thyroïdectomie totale
32	4652/12	27	H	Lobo isthmectomie gauche
33	9725/12	42	F	Thyroïdectomie totale
34	8829/12	44	F	Thyroïdectomie totale
35	7650/12	48	F	Thyroïdectomie totale
36	10012/12	26	F	Lobo isthmectomie
37	15311/12	64	F	Thyroïdectomie totale
38	15888/12	34	F	Lobo isthmectomie gauche
39	1370/12	56	F	Nodule thyroïdien
40	11609/11	43	F	Thyroïdectomie totale



**Figure 21** : aspect macroscopique d'un nodule thyroïdien d'un patient atteint d'un CPT.



**Figure 22** : appareillages pour réaliser : a- la déshydratation et b- l'inclusion en paraffine.



**Figure 23 :** l'emplacement du tissu dans le moule de paraffine.



**Figure 24 :** découpé le bloc par un microtome.



**Figure 25:** coloration à l'HE.



**Figure 26:** montage à l'Eukitt.



**Figure 27:** étude microscopique.



**Figure 28:** le système médical VENTANA.



**Figure 29:** les principales réactives utilisées dans le système médical VENTANA pour la détection de B-RAF<sup>V600E</sup>.

## Annexe C

**Tableau 06:** Répartition des patients selon le sexe.

Sexe	Nombre	Pourcentage %
Femme	39	97,5
Homme	1	2,5
total	40	100

**Tableau 07:** Répartition des patients selon l'âge.

Age (ans)	nombre des patients	Pourcentage (%)
[6-22[	1	2,5
[22-38[	15	37,5
[38-54[	12	30
[54-70[	9	22,5
> 70	3	7,5
total	40	100
Moyenne d'âge	43,63 ans	
ET	±13.05	

**Tableau 08:** Répartition des cas selon le type du prélèvement.

Type du prélèvement	Pourcentage %	Nombre des cas
thyroïdectomie totale	77,5	31
thyroïdectomie + curage	2,5	1
Lobo-isthmectomie	20	8
total	100	40

**Tableau 09 :** Répartition des cas selon les types histologiques.

Variantes	Nombre	Pourcentage (%)
CPT classique	13	32,5
vésiculaire	14	35
Micro-CPT	9	22,5
trabéculaire/solide	3	7,5
mixte	1	2,5
Total	40	100

# Introduction



# **Rappels bibliographiques**

# **Matériel**

# **&**

# **Méthodes**

# Résultats & Discussion

# Conclusion

# Annexes

# **Références bibliographiques**