



Original Article

Molecular Biology in Colorectal Cancer

Author (s): Fatiha Atif *¹

¹Service d'oncologie médicale du Centre hospitalier Pierre et Marie Curie d'Alger

Corresponding Author: * Fatiha Atif (Email: oncoatif@yahoo.fr)

1. Abstract:

Introduction : Colorectal cancer (CRC) is a frequent neoplasia with an increasing incidence in the world and in Algeria and still has a poor prognosis. It is a complex disease that develops over many years involving several processes during carcinogenesis. The characterization of the molecular tumor status is considered today as an important phase in the management of these patients.

Objective : This article aims to study the biomarkers and their correlation with survival in patients with colorectal adenocarcinomas regardless of the treatments received.

Methods : The retrospective study included 80 patients with locally advanced or metastatic CRC collected in medical oncology over a 3-year period from January 2014 to December 2017.

Results : The univariate analysis retained among the factors studied a statistical significance for the KRAS and BRAF statuses and in multivariate analysis, only the KRAS status.

Discussion : The role of the pathologist during the analysis of surgical specimens or biopsies on primary tumors or CRC metastases is essential in different ways, both for the anatomopathological study and for molecular biology. Thus, the information provided can be of paramount importance, allowing the selection of the most appropriate treatment and the prediction of a therapeutic response. Some of them have a pejorative impact on survival, and this is what this article aims to demonstrate.

Conclusion : The identification of biomarkers is an important phase for therapists because it determines the choice of targeted therapies for patients with CRC. It thus makes it possible to ensure the maximum response in first intention without deleterious effects and to offer better comfort and longer survival. A better knowledge of the biological processes of tumors remains necessary for the progression of biomarkers.

Manuscript Information

Received Date: 21-08-2023

Accepted Date: 25-09-2023

Publication Date: 01-10-2023

Plagiarism Checked: Yes

Manuscript ID: IJCRM:2-5-8

Peer Review Process: Yes

How to Cite this Manuscript

Fatiha Atif. **Molecular Biology in Colorectal Cancer.** *International Journal of Contemporary Research in Multidisciplinary.* 2023; 2(5):38-42.

2. **Keywords:** Molecular Biology, Colorectal Cancer, Survival.

3. Introduction:

Le cancer colorectal (CCR) est une affection maligne d'incidence et de mortalité élevée dans les pays riches et au Japon et peu fréquente en Asie, en Amérique du Sud, et en Afrique noire. Il représente des enjeux majeurs de santé publique dans notre pays et se situe en deuxième position chez l'homme et chez la femme respectivement après le

cancer du poumon et du sein [Globocan 2020]. Il touche des personnes de plus de 60 ans dans 95 % des cas. Histologiquement, les adénocarcinomes sont les plus fréquents (> 95 %) et se développent dans environ 80 % des cas, à partir d'un adénome. Les facteurs anatomopathologiques des CCR sont nombreux et beaucoup d'entre eux sont de mauvais pronostic et pourvoyeurs de récurrences comme le siège tumoral ^[1, 2], le

degré de différenciation ^[2], l’envahissement à distance (M) et le profil MSI ^[3]. Certains biomarqueurs permettent de poser le diagnostic et sont prédictifs de réponse aux traitements médicamenteux anti cancéreux et d’autres, ont un impact péjoratif sur la survie.

Le but de notre travail était d’étudier quelques biomarqueurs selon leur disponibilité dans les dossiers des patients et d’établir leur corrélation avec la survie.

4. Méthodes :

L’étude rétrospective descriptive et analytique s’est déroulée au centre Pierre et Marie Curie d’Alger s’étalant sur une période de 3 ans où nous avons colligé 80 patients , atteints d’un CCR localement avancé et/ou métastatique avec preuve histologique sur biopsie ou pièce opératoire de la tumeur primitive ou de la métastase. L’analyse des biomarqueurs recherchait les anomalies sur de l’ADN à partir d’un échantillon de tumeur primitive ou de métastase, après avoir amplifié l’ADN. Les biomarqueurs étudiés : **KRAS, NRAS,RAS,P53 ,BRAF et PIK3CA**. L’étude statistique descriptive était illustrée sous forme de pourcentages. Les courbes de survies ont été réalisées grâce à la méthode de Kaplan-Meier. La valeur des paramètres étudiés ayant un retentissement sur la survie a été évalué par le test du Log Rank et le modèle de Cox .Les facteurs ont été considérés significatifs pour une p-value <0.05. La comparaison des variables en analyse uni variée a été établie par les tests de Khi carré et de Fisher tandis que le test de régression a permis l’analyse multivariée devant une différence significative retrouvée en analyse uni variée.

5. Résultats:

Parmi les 80 patients, il y avait 49% hommes et 51% femmes avec un sexe-ratio égal F/H= 1,1 et l’âge moyen était de 57ans. Les localisations tumorales gauches prédominaient (75%) ainsi que l’adénocarcinome bien différencié (66%).La protéine **KRAS** muté représentait 32,5%. Cette protéine s’exprimait fortement chez l’homme au-delà de70 ans par rapport à la femme quel que soit le statut. Parallèlement, nous avons retrouvé une corrélation significative avec la protéine **TP53**.

Aucune différence significative de la survie globale (SG)selon le statut **KRAS** n’a été objectivée aussi bien pour les patients localement avancés que pour les métastatiques .En ce qui concerne le biomarqueur **NRAS**, le statut sauvage dominait 53% et il existait un lien significatif avec l’envahissement ganglionnaire. Un pourcentage élevé et exclusif de **NRAS** sauvage était noté en cas d’atteinte ganglionnaire N1 et N2, contrastant avec les N0 qui étaient majoritairement mutés. Cependant, les patients **NRAS** sauvages métastatiques avaient une meilleure survie qui était significative avec une médiane de 21 mois, intervalle de confiance(IC) à 95% pour le muté [12,207, 15,793] versus 14 mois IC à95%[17,724,24,276] pour le sauvage (Figure1).Pour le biomarqueur **RAS**, il était sauvage dans plus d’un tiers des cas soit 40% et attestait lui aussi, une corrélation significative avec l’envahissement ganglionnaire .En effet ,les N0 étaient d’avantage mutés alors que les N1et N2 étaient plus sauvages. Il n’y avait cependant pas de différence significative des SG quel que soit le stade clinique et le statut de **RAS**. Quant à la protéine **PIK3CA** ,43% étaient sauvages .Un lien significatif existait entre elle et **KRAS** et **RAS**. La SG des patients métastatiques était en faveur du statut sauvage avec une médiane de 22mois IC à 95% [20, 059,23,941] versus 13 mois IC à 95%[7,413,18,587] pour le muté (Figure2).Quant à propos de **BRAF**, le statut sauvage prédominait et un lien significatif existait avec **KRAS** et **RAS**. Le **BRAF** muté était mutuellement exclusive de **RAS** muté et du coup , ne se rencontrait dans notre série qu’en cas de tumeur **RAS** sauvage. La valeur pronostique de la mutation **BRAF V600E** chez nos patients métastatiques était vérifiée puisque la SG était en faveur du statut sauvage avec une médiane pour les patients métastatiques de 24mois IC à 95% [12,627,32,373] versus 3 mois pour le muté (Figure3). Pour ce qui était de la phosphoprotéine nucléaire **TP53**, la prévalence variait avec l’âge et les mutations siégeaient surtout à gauches .La médiane de survie passait de 21 mois avec IC à 95% pour le statut sauvage [18,523,23,477] à 14 mois pour le muté IC à 95% [9,768,18,232] (Figure 4). Les résultats sont illustrés sur le tableau 1et les figures(1,2,3 et 4).

Tableau 1: Caractéristiques des biomarqueurs et leur corrélation avec la survie

Biomarqueur	Fréquences(%)			Tableau croisé			Test du Khi-carré	Médiane SG(mois)/p-value	
	WT	M	NF					Stade M0	Stade M1
KRAS	58,5	32,5	9	AGE * K RAS * SEXE : F(%) H(%)			,037	WT vs M 18 18 p=NS	WT vs M 23 21,7 p= NS
				>70ans					
				WT	28,6	71,4			
M	33,3	66,7							
NRAS	53	3	44	NRAS * STADE DU GANGLION(%)			,020	-	WT vs M 21 14 p=0,047 (Figure 1)
				N1 N2 N0					
				WT	30	17,8 12,2			
M	0	0 20							
RAS	40	34	26	RAS * STADE DU GANGLION(%)			,001	WT vs M 24 39 p=NS	WT vs M 16 16 p= NS
				N1 N2 N0					
				WT	28,4	20,9 13,5			
M	33,3	22,8 10,5							
				K RAS WT (%) M(%)		,002		WT vs M 22 13	
* PIK3CA									
WT	70	30							
M	50	50							

PIK3CA	43	5	52					-	p=0,000 (Figure 2)
				RAS * PIK3CA	WT(%)	M(%)	,000		
				WT	66	34			
				M	50	50			
BRAF (V600E)	51	2	47	K RAS * BRAF	WT (%)	M(%)	,000	-	WT vs M 24 vs 3 p=0,003 (Figure 3)
				WT	56,6	2,0			
				M	54,5	0,0			
				RAS * BRAF	WT (%)	M(%)	,000		
				WT	77,6	3			
				M	56,1	0,0			
TP53	18,4	19	62,5						WT vs M 21 vs 14 p=0,005 (Figure 4)

Légende :WT=sauvage, M=muté, NF=non fait M0= non métastatique, M1=métastatique ,VS= versus, p=p value.

Figure 1 : SG des stades métastatiques selon NRAS et l'envahissement ganglionnaire(N)

Figure 2 : SG des stades métastatiques selon le statut PIK3CA

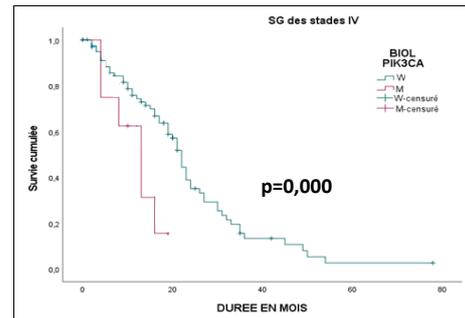
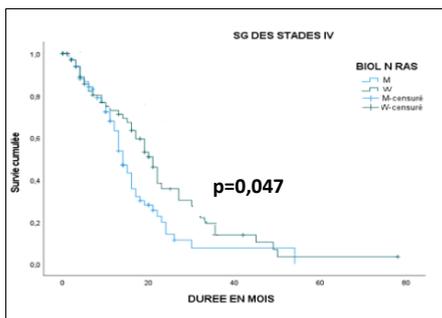
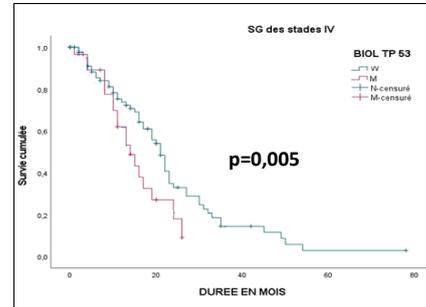
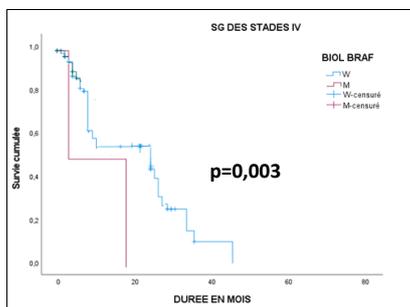


Figure 3 : SG des stades métastatiques selon le statut BRAF

Figure 4 : SG des stades métastatiques selon le statut TP53



L'analyse univariée a retenu le statut muté des biomarqueurs *KRAS* et *PIK3CA* comme facteurs de mauvais pronostic tandis que seul *KRAS* muté ressortait en multivariée ,comme un facteur pronostique puissant scoré à 23(Tableau 2).

Tableau 2 :Analyse univariée et multivariée et résultats

Analyse univariée		
Attribut	OR IC 95%	P-value
KRAS=M	OR=1.7445 IC= [1.2336 ;2.4843]	0.0021
PIK3CA=M	OR=27.158 IC= [7.5383 ;97.51]	<0.0001
Analyse multivariée		
Attribut	Coefficient	Score
KRAS =M	4.41158	23

Légende : OR=Odds ratio , M=muté, IC= intervalle de confiance, p=p value

6. Discussion:

Le CCR est une tumeur maligne fréquente, avec une incidence en augmentation dans le monde, passant de 1,4 millions en 2012 à 1,9 millions (10%) en 2020. En Algérie, il représente le 2^{ème} cancer chez l'homme (12.1%) et chez la femme (9%) et la mortalité se place au 3^{ème} rang avec 2984 décès en 2020 dans les deux sexes [GLOBOCAN 2020]. La moyenne d'âge de nos patients était de 55 ans se rapprochant de celle décrite dans les cas rapportés en Afrique [4] et qui était entre 46,7 à 51,2 ans. Le sexe-ratio dans notre série était de 1,1 semblable à celui décrit dans la littérature [5]. Quant au siège tumoral, les localisations distales prédominaient et, pour les patients métastatiques, les résultats d'une étude méta-analytique englobant 13 essais randomisés et d'une étude prospective, ont confirmé le meilleur pronostic de la localisation tumorale gauche en dehors de la thérapeutique administrée [6]. La protéine KRAS fonctionne comme un interrupteur et joue un rôle important depuis le déclenchement du signal jusqu'aux différentes fonctions de la cellule comme la prolifération, l'apoptose et la survie. La mutation KRAS agit très tôt dans le processus néoplasique [7]. La médiane de SG chez nos patients localement avancés était identique quel que soit le statut KRAS et son rôle pronostique reste incertain dans les stades non métastatiques de CCR comme suggéré par *Westra et al* [8] et controversé à la fois avec et sans micro instabilité (MSS,MSI) [9]. Pour nos patients métastatiques, aucune différence n'a été décelée. Le gène KRAS muté confère un pronostic plus sombre parce que la thérapie ciblée (ANTI -EGFR) n'agit pas sur la tumeur [10] et en dehors de cette situation, aucune donnée ne permet à ce jour de considérer formellement cette mutation comme d'intérêt pronostique [11]. Dans notre étude, la fréquence des mutations NRAS était de 3%, les fréquences décrites dans la littérature, sont entre de 3% à 9,6% et nos patients NRAS mutés avaient une survie diminuée comparativement aux NRAS sauvages et attestaient une différence très significative. Nos résultats se superposaient à ceux de la littérature [12, 13], où les NRAS mutés avaient un plus mauvais pronostic (HR = 1,83; IC95: 1,40-2,39 ; p < 0,001). Quant aux fréquences des mutations KRAS et NRAS de notre série, elles étaient incluses dans l'intervalle des valeurs publiées et qui étaient

respectivement entre 30 % à 50 % et 2 % à 7 % . Nous n'avons pas retrouvé de différence de SG pour nos patients localement avancés et métastatiques selon le statut RAS et il ne semble pas que le statut mutationnel RAS ait une valeur pronostique. Cependant la question fait encore débat. Les résultats des études sont contradictoires tant dans les formes localisées que dans les formes métastatiques [14]. En ce qui concerne la protéine PIK3CA, important composant de la membrane cellulaire jouant un rôle dans la signalisation cellulaire [15], sa mutation était de 5% dans notre série et celle décrite dans la littérature varie entre 10 à 20% des cas. Parallèlement, nous avons retrouvé d'une part, un lien significatif entre la mutation de PIK3CA et KRAS et, d'autre part entre la mutation de PIK3CA et RAS. Nos résultats rejoignaient ceux de Rosty C et al et Day FL [16,17], qui ont montré que la mutation de PIK3CA était significativement associée à la mutation de KRAS et à la perte d'expression de MGMT (O6-méthylguanine-ADN méthyltransférase) et que l'effet de la mutation PIK3CA dépendait de RAS dans le domaine hélicoïdal mais pas dans le domaine kinase, expliquant l'association plus forte de la mutation KRAS avec les mutations de l'exon 9 de PIK3CA. La SG de nos patients métastatiques mutés était diminuée et Selon Origino et al [18] et en analyse univariée, les patients mutés, attestaient une surmortalité (HR = 1,64; 95% CI, 0,95 à 2,86) qui, cependant, n'atteignait pas la significativité statistique. Un article publié dans le *Lancet Oncology* en 2010, soutient que la mutation serait un facteur de mauvaise réponse aux anti-EGFR [19]. Quant à la mutation de BRAF V600E, elle engendre une activation de la voie RAS/MAPK ce qui explique le lien significatif obtenu dans notre série avec KRAS et RAS [20]. Parallèlement, nous n'avons pas noté de mutation à la fois de BRAF et de RAS. La fréquence de la mutation était de 2% chez nos patients, elle serait présente dans moins de 10 % des CCR [21] et la SG était diminuée. La valeur pronostique de la mutation BRAF V600E dans les CCR métastatiques est bien établie au travers de nombreuses études et confère à la tumeur un très mauvais pronostic. Sa présence est associée à une nette diminution de la SG [22]. Pour le biomarqueur TP 53, nous avons noté des variations de la prévalence de TP 53 muté selon l'âge avec plus les tumeurs localisées à gauches chez nos patients comme retrouvé dans la littérature [23,24]. Nos patients TP53 sauvages avaient une meilleure survie se superposant aux données de Bouzourene et al [25].

7. Conclusion :

Les résultats de l'analyse multivariée de notre série étudiant les biomarqueurs des patients porteurs d'adénocarcinomes colorectaux, a permis de retenir la mutation KRAS comme un paramètre biologique puissant ayant une corrélation avec la survie des patients métastatiques.

Les progrès de recherche dans le domaine de la biologie moléculaire, permettront d'apporter des affinements dans le choix des traitements et la prédiction des réponses et du pronostic et l'oncologie de demain sera désormais consubstantielle du progrès que connaîtront les biomarqueurs.

8. Remerciements :

Nous remercions toute l'équipe médicale et paramédicale du service d'oncologie médicale du Centre Pierre et Marie Curie d'Alger et toute notre gratitude aux patients inclus dans cette série.

9. Conflits d'intérêt :

L'auteur ne déclare aucun conflit d'intérêts.

10. Lettre de motivation :

Nous auteur principal de cet article, attestons que le manuscrit n'a pas été soumis pour publication dans un autre journal et, que nous acceptons que l'article soit publié dans l'**International Journal of Contemporary Research in Multidisciplinary**.

11. Références :

1. Qiu MZ, Pan WT, Lin JZ, et al. Comparison of survival between right-sided and left-sided colon cancer in different situations. *Cancer Medicine*. 2018; 4 :1141-1150 65. [[Wiley](#)] [[Google Scholar](#)]
2. O'Connell JB, Maggard MA, Ko CY. Colon Cancer Survival Rates With the New American Joint Committee on Cancer Sixth Edition Staging. *JNCI J Natl Cancer Inst*. 2004 juin 10;96(19):1420-5. [[Google Scholar](#)]
3. Roberts SA, Gordenin DA. Hypermutation in human cancer genomes: footprints and mechanisms. *Nat Rev Cancer*. 2014; 14:786. [[Google Scholar](#)]
4. Az S, Bm M, DI Malignant colorectal tumours: a ten year review in Jos, Nigeria. *West Afr J Med*. 2000;20(4):251-5
5. Wilmink ABM. Overview of the epidemiology of colorectal cancer. *Dis Colon Rectum*. 1997;40(4):483-93. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
6. Holch JW, Ricard I, Stintzing S et al. The relevance of primary tumour location in patients with metastatic colorectal cancer: A meta-analysis of first-line clinical trials. *Eur J Cancer*. 2017;70:87-98. [[Scopus](#)] [[Crossref](#)]
7. Cox et al. *Landes Bioscience*. 2010.
8. Westra JL, Schaapveld M, Hollema H, et al. Determination of TP53 mutation is more relevant than microsatellite instability status for the prediction of disease-free survival in adjuvant-treated stage III colon cancer patients. *J Clin Oncol*. 2005;23:5635-43. [[ResearchGate](#)]
9. Gallo G, Sena G, Vescio G, et al. The prognostic value of KRAS and BRAF in stage I-III colorectal cancer. A systematic review. *Ann Ital Chir*. 2019;90:127-37. [[ResearchGate](#)]
10. Lopez NE, Yeh JJ. Gastrointestinal malignancy: genetic implications to clinical applications. Bentrem D & Benson AB (eds.). (2016). *Gastrointestinal Malignancies*. Springer. 2016 ;393 - 479. [[Google Scholar](#)]
11. Di Fiore F, Michel P. Rôle pronostique des mutations du gène KRAS dans le cancer colorectal. *Bulletin du cancer*. 2009 Dec 1;96(4):23-30. [[Google Scholar](#)]
12. Wang Y et al. Mutations NRAS : un impact pronostique défavorable sur la survie des CCRm abstr. 3513
13. Cercek A, Braghiroli MI, Chou JF, et al. Clinical Features and Outcomes of Patients with Colorectal Cancers Harboring NRAS Mutations. *Clin Cancer Res*. 2017; 23:4753. [[Google Scholar](#)]
14. Laurenty AP, Selves J, Guimbaud R. Biomarqueurs des cancers colorectaux utiles en pratique clinique. *Hepato-Gastro*. 2015 Mar 1;22:217-27. [[Google Scholar](#)]
15. Vivanco I, Scieurs CL. La voie AKT de la phosphatidylinositol 3-kinase dans le cancer humain. *Nat Rev Cancer*. 2002 ; 2:489-501. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
16. Rosty C, Young JP, Walsh MD, Clendenning M, Sanderson K, Walters RJ, et al. Mutation activatrice de PIK3CA dans le carcinome colorectal : associations avec les caractéristiques moléculaires et la survie. *PLoS One*. 2013 ; 8 :e65479. 10.1371/journal.pone.0065479. [[Article PMC gratuit](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
17. Day FL, Jorissen RN, Lipton L, Mouradov D, Sakthianandeswaren A, Christie M, et al. Associations clinico-pathologiques et moléculaires spécifiques aux mutations des gènes et des exons PIK3CA et PTEN dans le cancer colorectal. *Clin Cancer Res*. 2013 ; 19 :3285-96 10.1158/1078-0432.CCR-12-3614. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
18. Ogino S, Nosho K, Kirkner GJ, Shima K, Irahara N, Kure S, Chan AT, Engelman JA, Kraft P, Cantley LC, Giovannucci EL. PIK3CA mutation is associated with poor prognosis among patients with curatively resected colon cancer. *Journal of clinical oncology*. 2009 Mar 3;27(9):1477. [[Google Scholar](#)]
19. Sartore-Bianchi A et al. PIK3CA mutations in CRCr are associated with clinical resistance to EGFR-targeted monoclonal antibodies. *Cancer Res*. 1 mars 2009;69(5):1851-7.
20. Pollock PM, Harper UL, Hansen KS, Yudt LM, Stark M et al. High frequency of BRAF mutations in nevi. *Nat Genet*. 2003; 33: 19-20. [[Google Scholar](#)]
21. Dienstmann R, Tabernero. Spectre des mutations génétiques dans le cancer colorectal : implications pour le traitement. *J. Cancer J*. 2016;22(3):149155. [[PubMed](#)]
22. Thiel A, Ristimäki A. Toward a Molecular Classification of Colorectal Cancer: The Role of BRAF. *Front Oncol* 2013 Nov 15;3:281. [[Google Scholar](#)] [[Crossref](#)]
23. Lieu, C.H. ; Golemis, E.A. ; Serebriiskii, I.G. ; Newberg, J. ; Hemmerich, A. ; Connelly, C. ; Messersmith, W.A. ; Eng, C. ; Gail Eckhardt, S. ; Frampton, G. ; et al. Comprehensive genomic landscapes in early and later onset CRC. *Clin. Cancer Res*. 2019, 25, 5852-5858. [[Google Scholar](#)]
24. Russo, A.; Bazan, V.; Iacopetta, B.; Kerr, D.; Soussi, T.; Gebbia, N. The TP53 colorectal cancer international collaborative study on the prognostic and predictive significance of p53 mutation: Influence of tumor site, type of mutation, and adjuvant treatment. *J. Clin. Oncol*. 2005 ; 23, 7518-7528. [[Google Scholar](#)] [[Publisher](#)]
25. Bouzourene H, Gervaz P, Cerottini J, et al. p53 and Ki-ras as prognostic factors for Dukes' stage B colorectal cancer. *Eur J Cancer*. 2000;36:1008-15. [[Google Scholar](#)]

Creative Commons (CC) License

This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY 4.0) license. This license permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.