

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

Université Saad Dahlab - BLIDA 1-

Faculté des Sciences de la Nature et de La Vie

Département de Biologie



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

Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Thème :

***Etude immunohistochimique du phénotype MSI
dans les cancers colorectaux et son rôle dans
l'orientation de la démarche thérapeutique.***

Présenté par :

MIDOUN khaoula

SADOUN safia

Soutenu le : 18 .07.2021.

Devant le jury composé de :

Mr BENYAHIA N.	Maitre de Conférences A.	UB1	Président
Mme AISSANI R.	Maitre de Conférences B.	UB1	Examinatrice
Mme CHALAL N.	Maitre de Conférences B.	UB1	Promotrice
Mme BEN DIMERAD T.	Maitre-Assistant A.	CHU Beni Massous	Co-promotrice

Promotion : 2020/2021



REMERCIEMENTS

Avant tous nous remercions le dieu qui nous créés et nous avoir accordé la vie et la force

Nécessaire afin de réaliser ce travail.

Je remercie ma mère, mon père, frères, sœurs, mes amies et tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin à réaliser ce travail.

Au terme de ce travail, on exprime nos profonds remerciements à notre encadreur, Docteur **CHALAL. N**, pour avoir dirigé ce sujet, pour son aide, ses encouragements, sa disponibilité et tous ces précieux conseils qu'elle nous a prodigué tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Notre sincères remerciements à Mme **Saadi.L** enseignant et chef d'option de la biologie moléculaire et cellulaire pour ses efforts considérables et son travail dévoué au cours de des ces dernières années pour le développement de la spécialité biologie moléculaire et cellulaire.

Nos remerciements plus respectueux à Monsieur **BENYAHIA. N** qui nous a fait l'honneur d'accepter de présider le jury de soutenance de ce mémoire.

Nous remercions également chaleureusement Mme **AISSANI .R** d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Notre profond respect et remerciements s'adresse aux membres de service d'anatomopathologie, en particulier **Pr. SLIMANI**, qui nous a bien accueilli dans son service.

Nos vifs remerciements à notre Co-promotrice, Docteur **BEN DIMERAD T**, Maitre-assistant A aux niveaux de CHU béni- massous, qui a accepté de nous encadrer pour la partie pratique pour son aide précieuse, ses encouragements, et son soutien favorable pour l'aboutissement de ce travail.



Je dédie ce mémoire à

A MES PARENTS BIEN-AIMES

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

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

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

A MES SŒURS

✚ Sabrina et Nessrine et mes tante Fatima et rokaya.

✚ Rahma et Fathia et sa marie et ses enfants Mohamed, chaima et Alaa.

MES FRERES

✚ Walid et Abd el halime et ses enfants Nour el yakine et Mohamed.

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

A mes amis : Ikram, Maroua, Manel, yasmine, Yousra, Ayda, Khadîdja, Nour el houda, sabrina et hamida.

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

Résumé

Le cancer colorectal (CCR), par sa fréquence et sa gravité, représente un enjeu majeur de santé publique à travers le monde. En Algérie, ce type de cancers est classé en deuxième position chez les deux sexes avec un taux annuel de 6000 nouveaux cas.

L'objectif principal de ce travail était d'une part, de faire ressortir certaines particularités épidémiologiques, cliniques et anatomopathologiques des cancers colorectaux et d'autre part, d'en déterminer l'instabilité microsatellitaire (MSI), en démontrant son rôle dans l'orientation de la démarche thérapeutique.

Une enquête rétrospective a été effectuée sur les patients atteints de cancer colorectal, recensés dans le laboratoire d'anatomie pathologique de Béni Messous, durant la période comprise entre le 1^{er} Janvier 2018 et le 31 Mars 2021. De plus, une étude anatomopathologique a été faite prospectivement sur 28 cas via une analyse histologique et immunohistochimique au moyens de plusieurs anticorps à savoir, MLH1, PMS2, MSH2 et MSH6, en vue de confirmer le diagnostic du cancer colorectal.

Au total 151 cas de cancer colorectal ont été enregistrés. L'âge moyen des patients était de 57.58 ± 15.42 ans, avec une prédominance masculine de 58.2 %. Le sex-ratio (H/F) était de 1,35. La localisation tumorale la plus répandue était le colon droit caractérisant 29 % des cas avec une prédominance de l'adénocarcinome bien différencié noté chez 84 % des cas. 51% des patients ont pris le capécitabine comme agent chimiothérapeutique en association avec la radiothérapie. Pour ce qui est du statut MSI, 19% de cas de CCR ont présenté le phénotype MSI, dont l'âge moyen des femmes était plus élevé par rapport à celui des hommes soit 62.96 ± 2.62 ans contre 56.52 ± 0.95 ans. La majorité des patients soit 64.2% des cas avait un cancer touchant principalement le colon droit et gauche. Une prédominance de l'adénocarcinome bien différencié a été notée chez 75.86 % des cas MSI. Les protéines MSH6, MSH2, PMS2 et MSH2/MSH6 étaient surexprimées chez respectivement 89.28%, 82.14% et 75% des cas. Enfin, tous les patients ont bénéficié d'une chimiothérapie adjuvante.

A l'issue de notre étude, il en ressort que les cancers colorectaux sont fréquemment diagnostiqués au sein du service d'anatomie pathologique du CHU de Beni Messous. En outre, ce travail a pu mettre en évidence quelques particularités épidémiologiques et clinico-anatomopathologiques du cancer colorectal, notamment les cas présentant le phénotype MSI. Néanmoins, il serait très remarquable de poursuivre cette étude, en utilisant des techniques de biologie moléculaire en l'occurrence, la PCR et les techniques de séquençage, afin d'identifier de nouveaux marqueurs d'instabilité microsatellitaire chez les patients atteints de cancer colorectal.

Mots- clés : Cancer colorectal, enquête rétrospective, étude anatomopathologique, statut MSI, marqueurs, démarche thérapeutique.

Abstract

Colorectal cancer (CRC), due to its high frequency and severity, is considered as a serious public health issue worldwide. In Algeria, this type of cancer is ranked second in both sexes with an annual rate of 6,000 new cases.

The objective of the present study was to retrieve some epidemiological, clinical and anatomopathological characteristics of colorectal cancer. Additionally, this work aimed not only to determine the microsatellite instability (MSI) status but also to demonstrate its role in guiding therapeutic decision-making in patients with colorectal cancer.

A retrospective investigation was carried out on patients with colorectal cancer, diagnosed during the period between January 1, 2018 and March 31, 2021, within the anatomical pathology department of Beni Messous University Hospital Center. Moreover, an anatomopathological study was conducted prospectively on 28 cases via histological and immunohistochemical analysis using several antibodies, namely, MLH1, PMS2, MSH2 and MSH6, in order to confirm the diagnosis of colorectal cancer.

Overall, 151 cases of colorectal cancer have been recorded. The mean age of patients was 57.58 ± 15.42 years, with a male predominance of 58.2%. The sex ratio (M / F) was 1.35. The most common tumor location was the right colon which characterized 29% of cases with a predominance of the well-differentiated adenocarcinoma noted in 84% of cases. 51% of patients have received capecitabine as a chemotherapeutic agent in combination with radiotherapy. With regard to MSI status, 19% of CRC cases have presented the MSI phenotype. The mean age of women was higher than that of men (62.96 ± 2.62 years against 56.52 ± 0.95 years). The majority of patients (64.2%) had a cancer that affected mainly the right and the left colon. A predominance of the well-differentiated adenocarcinoma was noted in 75.86% of MSI cases. The MSH6, MSH2, PMS2 and MSH2 / MSH6 proteins were overexpressed in 89.28%, 82.14% and 75% of cases, respectively. Finally, all patients received adjuvant chemotherapy.

To conclude, colorectal cancer is frequently diagnosed within the pathological anatomy department of Beni Messous University Hospital Center. Furthermore, this work highlighted some epidemiological and clinico-anatomopathological features of colorectal cancer, particularly in cases with MSI phenotype. Nevertheless, it would be very interesting to pursue this study by using molecular biology techniques namely, PCR and sequencing techniques, in order to identify new markers of microsatellite instability in patients with colorectal cancer.

Keywords: Colorectal cancer, retrospective investigation, anatomopathological study, MSI status, markers, therapeutic decision-making.

ملخص

يمثل سرطان القولون والمستقيم ، بتواتره وشدته ، مشكلة صحية عامة رئيسية في جميع أنحاء العالم. ويحتل هذا النوع

من السرطان في الجزائر المرتبة الثانية لكلا الجنسين بمعدل 6000 حالة جديدة سنويا

كان الهدف الرئيسي من هذا العمل ، من ناحية ، هو إبراز بعض الخصائص الوبائية والسريرية والتشريحية المرضية لسرطان القولون والمستقيم ومن ناحية أخرى ، تحديد حالة MSI، من خلال إظهار دورها في توجيه المرض النهج العلاجي

تم إجراء مسح بأثر رجعي على مرضى سرطان القولون والمستقيم ، الذي تم تحديده في مختبر التشريح المرضي في بني مسوس ، خلال الفترة ما بين 1 يناير 2018 و 31 مارس 2021. بالإضافة إلى ذلك ، أجريت دراسة تشريحية باثولوجية على 28 حالة. عن طريق التحليل النسيجي والكيميائي المناعي باستخدام العديد من الأجسام المضادة ، وهي 1MLH و 2PMS و 2MSH و 6MSH، من أجل تأكيد تشخيص سرطان القولون والمستقيم.

تم تسجيل إجمالي 151 حالة إصابة بسرطان القولون والمستقيم. كان متوسط عمر المرضى 57.58 ± 15.42 سنة ، مع غلبة الذكور 58.2%. كانت نسبة الجنس (M / F) 1.35. كان موقع الورم الأكثر شيوعًا هو القولون الأيمن الذي يميز 29% من الحالات مع غلبة سرطان غدي جيد التباين لوحظ في 84% من الحالات. تناول 51% من المرضى عقار ، قدمت 19% من حالات CRC النمط MSI كابسيتابين كعامل علاج كيميائي مع العلاج الإشعاعي. فيما يتعلق بحالة الظاهري ل-IMS I ، حيث كان متوسط عمر النساء أعلى من متوسط عمر الرجال ، أي 62.96 ± 2.62 سنة مقابل 56.52 ± 0.95 سنة. غالبية المرضى ، أي 64.2% من الحالات ، كان لديهم سرطان يصيب القولون الأيمن والأيسر بشكل رئيسي. لوحظ غلبة سرطان غدي جيد التمايز في 75.86% من حالات التصلب العصبي المتعدد. تم الإفراط في التعبير عن بروتينات 6MSH و 2MSH و 2PMS و 6MSH / MSI في 89.28% و 82.14% و 75% من الحالات على التوالي. أخيرًا ، تلقى جميع المرضى العلاج الكيميائي المساعد.

في نهاية دراستنا ، يتبين أن سرطانات القولون والمستقيم يتم تشخيصها بشكل متكرر في قسم التشريح المرضي في مستشفى بني مسوس الجامعي. بالإضافة إلى ذلك ، كان هذا العمل قادراً على تسليط الضوء على بعض السمات الوبائية والتشريحية السريرية لسرطان القولون والمستقيم ، ولا سيما حالات النمط الظاهري MSI. ومع ذلك ، سيكون من الرائع جداً مواصلة هذه الدراسة ، باستخدام تقنيات البيولوجيا الجزيئية في هذه الحالة ، وتقنيات تفاعل البوليميراز المتسلسل وتقنيات التسلسل ، من أجل تحديد العلامات الجديدة لعدم استقرار السوائل الدقيقة في مرضى سرطان القولون والمستقيم

الكلمات المفتاحية: سرطان القولون والمستقيم ،دراسة رجعية ، الدراسة التشريحية المرضية ، حالة MSI ، المؤشرات ، المنهج العلاجي.

Liste des abréviations

ADK	Adénocarcinome
AJCC	American Joint Commission on Cancer
CCR	Cancer colorectal
CIMP	CpG Island Methylation Phenotype.
CIN	Chromosomal instability
CMMRD	MMR-deficiency syndrome
CpG	Cytosine–phosphate–guanine
EGF	Epidermal Growth Factor
EGF	Epidermal Growth Factor
EpCAM	Epithelial Cell Adhesion Molecule
HNPCC	Hereditary Non Polyposis Colorectal Cancer (Syndrome de Lynch)
IHC	Immunohistochimie
LOH+	Loss of heterozygoty
MLH1	Mut L Homologue 1
MMR	MisMatch Repair
MSH2	Mut S Homologue 2
MSH6	Mut S Homologue 6
MSI	Microsatellite Instability
MSI-H	High Microsatellite instabilité.
P53	Polymerase Chain Reaction
PCR	polymerase chain reaction
PMS2	Postmeiotic segregation Increased 2
SAMD2	Mothers against De Capentaplegic Homolog 2
SMAD4	Mothers against decapentaplegic homolog 4
TACSTD1	Tumor-associated calcium signal transducer1
TGF-β	Transforming Growth Factor-β TGF-β

Liste des abréviations

TNM	Tumor Node Metastasis
UICC	Union for International Cancer Control
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
WNT	Widely Conserved Family

Liste des figures

Figure1: Localisation des CCR.....	3
Figure 2: Estimation de la mortalité due aux cancers dans le monde en 2012.....	4
Figure 3 : Estimation de la mortalité due aux cancers en Algérie en 2012.....	4
Figure 4: stades du CCR.....	7
Figure 5: Observation microscopique démontrant le grade de différenciation du cancer colorectal (HE*100).....	8
Figure 6: Séquence d'adénome colorectal-carcinome.....	9
Figure 7: La modélisation de la cancérogenèse au cours du cancer du côlon.....	10
Figure 8: la voie Wnt/APC/ β -catenine impliquée dans la carcinogénèse colorectale.....	11
Figure 9: Voie de signalisation de TGF-bêta contribuant au cancer colorectal.....	12
Figure 10: La voie RAS/RAF/MAPK altérée dans le cancer colorectal.....	13
Figure 11: Voie P53 altérée dans le cancer colorectal.....	14
Figure 12 : Immunohistochimie des quatre protéines MMR observées par un microscope optique (G X 200).....	19
Figure 13 : Représentation du système MMR.....	20
Figure 14 : les gènes impliqués dans le syndrome CMMRD.....	21
Figure 15: les gènes impliqués dans le syndrome de lynch.....	22
Figure16 : Algorithme du diagnostic moléculaire du syndrome de Lynch.....	24
Figure 17 : Observation microscopique de l'expression immunohistochimique des protéines MMR illustrant une perte d'expression conjointe de hMLH1 et hPMS2 (G X 200).....	25

Liste des figures

Figure 18 : Amplification des 5 microsatellites de la Pentaplex par PCR.....	26
Figure 19: Immunité anti-tumorale, check point immunitaire (ICK) et thérapie anti ICK.....	28
Figure 20 : Répartition de cas selon l'année de recrutement.....	36
Figure 21 : Répartition des cas par sexe.....	37
Figure 22: Répartition de cas par tranche d'âge.....	38
Figure 23: Répartition des patients selon l'âge par sexe.....	39
Figure 24 : Répartition des cas selon le siège du CCR.....	40
Figure 25 : Répartition des cas selon le degré de différenciation.....	41
Figure 26: Répartition des cas selon les stades de différenciation.....	42
Figure 27: répartition des cas selon le T-tumeur primitive.....	43
Figure 28: Répartition des cas selon le N-ganglions lymphatiques régionaux.....	43
Figure 29 : répartition des cas selon le traitement administré.....	44
Figure 30: Fréquence du phénotype MSI.....	45
Figure 31: Répartition des cas MSI selon l'âge par sexe.....	46
Figure 32: Répartition des cas MSI selon la localisation de la tumeur.....	47
Figure 33: Répartition des cas MSI selon le degré de différenciation.....	48
Figure 34: Répartition des cas MSI selon le stade de différenciation.....	49
Figure 35: Répartition des cas MSI selon le T-tumeur primitive.....	50
Figure 36: Répartition des cas MSI selon le N-ganglions lymphatiques régionaux.....	51
Figure 37: répartition des cas MSI selon l'expression des protéines MMR.....	52
Figure 38 : répartition des cas MSI selon le traitement administré.....	53

Liste des figures

- Figure 39** : photomicrographie d'un adénocarcinome colique bien différencié.....54
- Figure 40** : photomicrographie d'un marquage immunohistochique par anti MLH1, anti Msh6, anti PMS2 et anti MSH2 de la muqueuse colique normale (témoin).....55
- Figure 41** : immunomarquage positif de MSH2 dans un cas de CCR de phénotype MSI, marquage nucléaire intense diffus de toutes les cellules tumorales.....57
- Figure 42** : immunomarquage positif de MSH6 dans un cas CCR de statut MSI, marquage nucléaire intense et diffus de toutes les cellules tumorales.....58
- Figure 43** : immunomarquage négatif de MLH1 dans un cas MSI de CCR, absence d'expression des cellules tumorales.....58
- Figure 44**: immunomarquage négatif de PMS2 dans un cas MSI de CCR, absence d'expression des cellules tumorales.....59

Liste des tableaux

Tableau 1 : la classification de TNM.....	6
Tableau 2 : stades selon la 8 eme édition TNM (AJCC/UICC).....	7
Tableau 3 : grade de différenciation OMS.....	8
Tableau 4 : Modalités de dépistage de cancer colorectal dépendent du niveau de risque.....	15
Tableau 5 : Répartition des cas MSI selon l'année de diagnostic.....	46
Tableau 6 : Résultats de marquage immunohistochimique avec MLH1, PMS2, MSH2 et MSH6.....	55

Sommaire

Introduction	1
Partie I : Rappel bibliographique	
Généralités sur le cancer colorectal	3
I .1.Définition	3
I .2.Épidémiologie.....	3
I.2.1.Dans le monde.....	3
I.2.2.En Algérie.....	4
I .3. Facteurs de risque.....	5
I.3. 1. Facteurs de risque modifiables.....	5
I.3. 2. Facteurs de risque non modifiables	5
I .4.Classification anatomopathologique.....	6
I.4.1.Classification selon pTNM	6
I.4.2.Classification selon les Stades de pTNM	7
I.4. 3.Grades de différenciation du cancer colorectal.....	8
I .5. Mécanismes moléculaires de la cancérogénèse colorectale.....	9
I.5.1. Modifications génétiques.....	9
I.5.1.1.Instabilité chromosomique.....	9
I.5.1.2.Instabilité des microsatellites.....	10
I.5.1.3. Hyperméthylation des îlots CpG	10
I.5.2.Principales voies de signalisation impliquées dans la carcinogenèse colorectal.....	10
I.5.2.1.Voie Wnt/APC/ bêta caténine.....	11
I.5.2.2. Voie du TGF- β	12
I.5.2.3.Voie du RAS/RAF/MAPK.....	13
I.5.2.4. Voie p53.....	13

Sommaire

I	.6. Dépistage du cancer colorectal.....	14
I	.7.Diagnostic.....	15
	I.7.1. Interrogatoire et examen clinique.....	15
	I.7.2. Examen complémentaire.....	15
	I.7.2.1. Coloscopie totale.....	15
	I.7.2.2.Examens biologiques.....	16
I	.8. Prise en charge thérapeutique du cancer colorectal.....	16
	I.8.1.Chirurgie.....	16
	I.8.2.Radiothérapie.....	16
	I.8.3. Chimiothérapie.....	17
	I.8.4. Thérapie ciblée.....	17
I	.9. Facteurs pronostiques.....	17
Partie II : Partie pratique		
II	II. Instabilité microsatellitaire et cancer colorectal.....	19
II	.1. Phénotype d'instabilité microsatellitaire (MSI).....	19
	II.2. Système MMR (MisMatch Repair)	19
II	.3. Phénotype MSI et survenue du cancer colorectal.....	20
	II.3. 1. MSI et cancers colorectaux sporadiques.....	20
	II.3. 2. MSI et cancers colorectaux héréditaires.....	21
II	.4. Détermination du statut MSI.....	22
	II.4. 1.Technique d'immunohistochimie.....	23
	II.4. 2. Technique PCR (polymerase chain reaction)	25
II	.5. Traitement.....	26

Sommaire

II.5. 1. Chimiothérapie.....	26
II.5.2. Immunothérapie.....	26
III .1.Matériel.....	29
III. 1.1.Matériel biologique.....	29
III. 1. 2. Matériel non biologique.....	29
III .2.Méthodes.....	29
III.2.1.Enquête rétrospective.....	30
III. 2. 2. Etude anatomopathologique.....	30
III.2.2.1. Prélèvements tissulaires.....	30
III.2.2.2. Analyse anatomo-pathologique.....	30
III.2.2.2.1.Examen histologique.....	31
III.2.2.2.2. Etude immunohistochimique.....	33
IV. Résultats et discussion.....	36
IV . 1. Enquête rétrospective.....	36
IV.1.1.Caractéristiques épidémiologiques, cliniques et anatomopathologiques des patients atteints de cancer colorectal.....	36
IV.1.2.Caractéristiques épidémiologiques, cliniques et anatomopathologiques des cas présentant le phénotype MSI.....	45
IV .2.Résultats anatomopathologiques.....	54
IV.2.1.Résultats histologiques.....	54
IV.2.2. Résultats immunohistochimiques.....	55
Conclusion.....	60

Références bibliographiques

Annexes



Introduction



Introduction

Le cancer colorectal (CCR), par sa fréquence et sa gravité, représente un sérieux problème de santé publique dans le monde. Il frappe toutes les populations et ce, de manière non discriminatoire. Dans le monde, le CCR est la troisième cause de décès chez les hommes et les femmes avec environ 1,8 million de nouveaux cas et 881 000 décès enregistrés en 2018 [1]. En Algérie, ce type de cancers est classé en deuxième position chez les deux sexes avec un taux annuel de 6000 nouveaux cas [2].

La carcinogenèse colorectale est un processus multifactoriel et multiphasique, où interagissent des facteurs de risque endogènes et environnementaux. La plupart des travaux considèrent qu'une alimentation riche en viande rouge, en calorie, en graisses et pauvre en fibres est corrélée à un risque accru de cancer colorectal. Néanmoins, une alimentation diversifiée, riche en fruits, légumes, poissons, viandes blanches et en céréales entières, est associée à faible risque d'apparition de ce type de cancers. En outre, l'obésité, le surpoids et l'inactivité physique contribuent fortement à l'augmentation du taux d'incidence des cancers colorectaux. De plus, l'exposition professionnelle à l'amiante a été également incriminée comme facteur de risque du cancer colorectal [3].

Les cancers colorectaux MSI représentant 15 % à 20 % des cancers colorectaux de stades II et III et seulement 5 % des cancers colorectaux en situation métastatique, sont associés à des caractéristiques clinico-pathologiques spécifiques. Ils sont principalement développés au niveau du côlon droit, peu différenciés, mucineux, avec un haut niveau d'infiltration lymphocytaire, métastasés préférentiellement au niveau péritonéal et ganglionnaire [4].

Actuellement, l'identification des biomarqueurs tumoraux dans le CCR, s'appuie principalement sur l'investigation des niveaux d'expression de protéines d'intérêt ou sur l'étude de la séquence ou l'amplification des gènes correspondants. Les biomarqueurs utilisés à l'heure actuelle en pratique clinique, concernent d'une part, l'IMS et d'autre part, la voie EGFR et ses voies connexes [5].

L'une des techniques utilisées dans la détermination du phénotype MSI est l'immunohistochimie. Elle permet de mettre en évidence l'absence d'expression de l'un des gènes du système MMR dans la cellule tumorale. Ce type d'analyses est considérée comme moins lourde et moins coûteuse que l'allélotypage des microsatellites et permet donc, de

Introduction

“cibler” le gène MMR en cause et de rechercher la mutation constitutionnelle dans les familles prédisposées au CCR de type HNPCC [6].

Plusieurs travaux ont été réalisés à travers le monde, en vue d'évaluer l'efficacité diagnostique, pronostique voire même thérapeutique du phénotype MSI dans le cancer colorectal. Néanmoins, le nombre d'études effectuées dans ce sens est très limité en Algérie notamment dans la région centre du pays.

C'est dans cette optique, que nous avons réalisé une étude à la fois rétrospective et prospective, en vue de comparer nos données aux résultats déjà obtenus par d'autres investigations effectuées dans ce contexte. Ce qui pourrait donc contribuer au développement de stratégies pour améliorer la prise en charge du cancer colorectal.

Mis à part le profil épidémiologique des cancers colorectaux abordé par notre étude, la visée principale de notre travail était d'investiguer prospectivement, l'expression immunohistochimique de MLH1, PMS2, MSH2 et MSH6 dans les CCR, tout en démontrant leur intérêt diagnostique ainsi que leur rôle dans l'orientation de la démarche thérapeutique.



Partie I

Rappel bibliographique



I. Généralités sur le cancer colorectal

I.1. Définition

Le cancer colorectal (CCR) comprend le cancer de colon et le cancer rectal dont 96% des cas sont des adénocarcinomes survenant dans les glandes de la muqueuse intestinale [7]. Il commence généralement par des tumeurs précancéreuses appelées polypes qui se développent progressivement, pouvant ainsi évoluer vers une tumeur maligne (~5% des polypes) ; [8]. Environ 60% des cas de CCR sont localisés dans le colon, principalement dans le colon sigmoïde. Lorsque la lésion est à moins de 15 cm du rectum, 40 % des CCR affecteront le rectum (**Figure1**) ; [9].

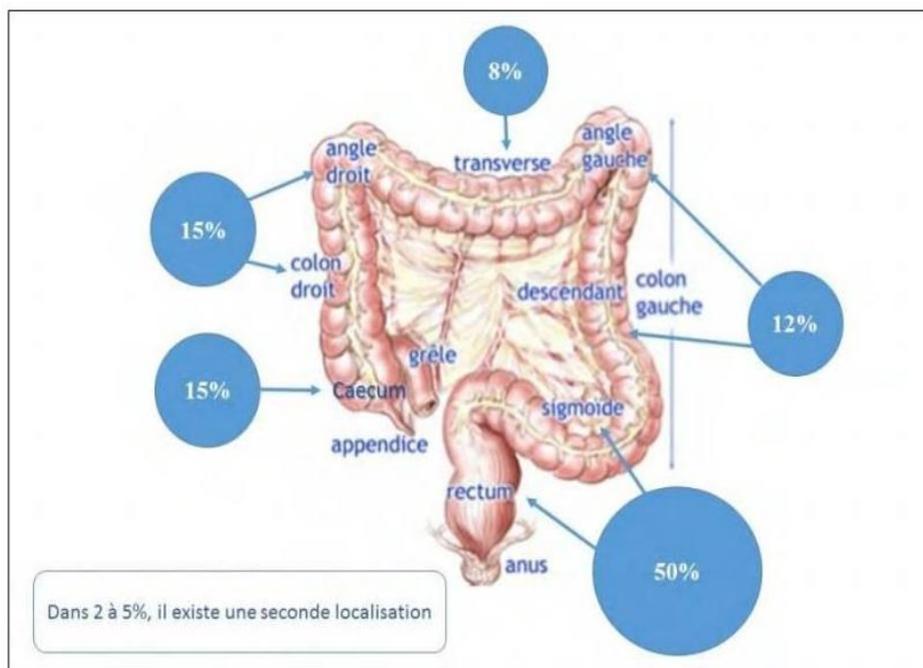


Figure 1: Localisation des CCR [9].

I.2. Épidémiologie

I.2.1. Dans le monde

Le CCR est le troisième cancer dans le monde chez les hommes et le deuxième chez les femmes avec 1,3 million de nouveau cas et près de 700 000 morts (**Figure 2**) ; [10].

Ce type de cancers est en effet, la 4ème cause de décès par cancer dans le monde [11, 12].

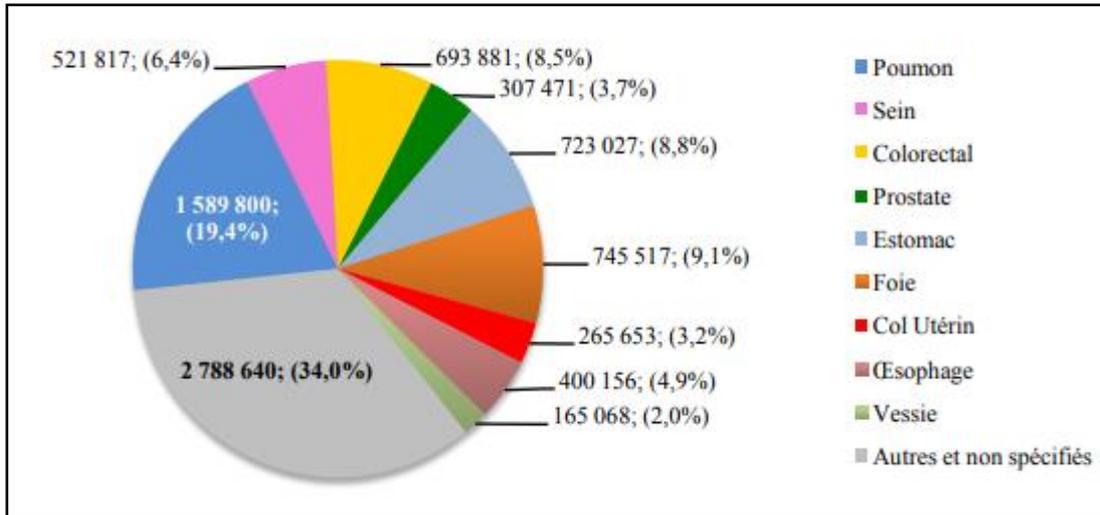


Figure 2: Estimation de la mortalité due aux cancers dans le monde en 2012 [10].

I.2.2. En Algérie

Ces dernières années, l'incidence du cancer colorectal s'est multipliée par 4 et elle continue d'augmenter. Le CCR est considéré comme une deuxième cause de mortalité chez les hommes et les femmes. En 2016, le taux des CCR est d'environ 6.000 nouveaux cas enregistrés chaque année (Figure 2) ; [9, 13].

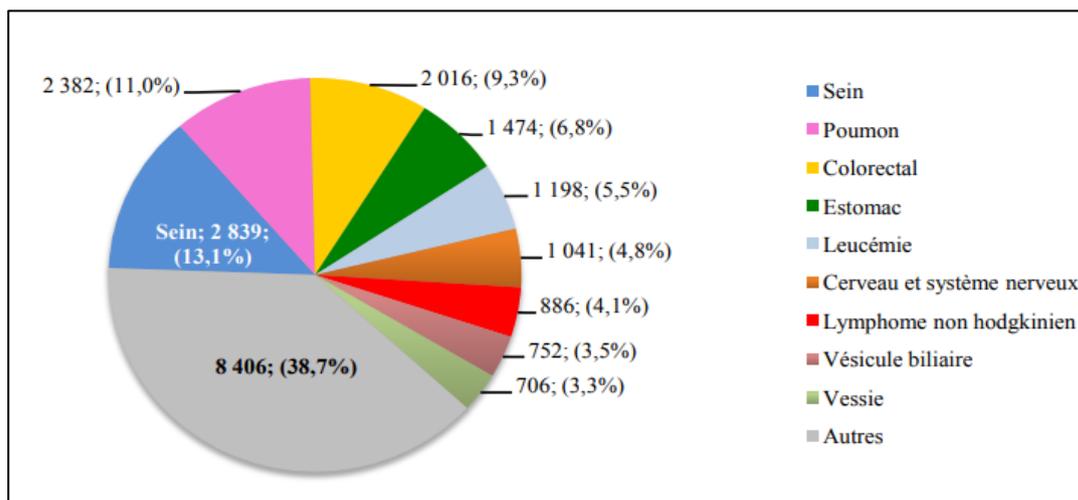


Figure 3 : Estimation de la mortalité due aux cancers en Algérie en 2012 [10].

I.3. Facteurs de risque

I.3. 1. Facteurs de risque modifiables

Plusieurs facteurs peuvent être distingués à savoir [14, 15] :

+ Obésité

Le surpoids et l'obésité augmentent le risque de cancer colorectal chez les deux sexes.

+ Mode de vie (l'alimentation, la sédentarité)

La consommation de viande rouge et d'alcool, le tabagisme et le surpoids sont des facteurs de risques du CCR.

I.3. 2. Facteurs de risque non modifiables

Plusieurs facteurs peuvent être notés en l'occurrence [16, 17]:

+ Age et sexe

Le risque de cancer colorectal augmente progressivement à partir de l'âge de 50 ans. La proportion de cancers localisés au niveau du côlon droit augmenterait avec l'âge.

+ Syndrome de Lynch

C'est le syndrome de cancer colorectal héréditaire le plus commun. Il représente environ 2% à 4% de tous les cancers colorectaux.

+ Maladies inflammatoires

Il s'agit principalement des pathologies inflammatoires chroniques de l'intestin (maladie de Crohn et rectocolite hémorragique).

+ Antécédents familiaux de cancer colorectal chez un parent au premier degré

Sont trouvés généralement dans 10 à 15 % des cancers colorectaux.

+ Antécédents personnels du cancer colorectal

Les personnes qui ont déjà eu un cancer du côlon ou du rectum risquent davantage d'être atteintes d'un autre cancer colorectal.

I.4. Classification anatomo-pathologique

I.4.1. Classification selon pTNM

La classification TNM (tumor/node/metastasis) décrit l'extension d'une tumeur maligne à un moment donné dans un organe particulier. La classification utilisée à l'heure actuelle a été proposée par l'AJCC (American Joint Commission on Cancer) et l'UICC (Union for International Cancer Control) Classification TNM (8^{ème} édition, 2017), (**Tableau 1**) ; [17,18].

Tableau1 : La classification des TNM [17].

T-tumeur primitive	
TX	Renseignements insuffisants pour classer la tumeur primitive
T0	Pas de signe de tumeur primitive
Tis	Carcinome in situ – intra-épithélial ou envahissant la lamina propria (chorion de la muqueuse)
T1	Tumeur envahissant la sous – muqueuse
T2	Tumeur envahissant la musculature
T3	Tumeur envahissant la sous-séreuse ou les tissus péri-coliques ou péri-rectaux non péritonisés
T4	Tumeur envahissant directement d'autres organes ou d'autres structures et /ou perforant le péritoine
	T4a – tumeur qui perce le péritoine viscéral
	T4b – tumeur qui envahit directement d'autres organes ou structures
N-Ganglions lymphatiques régionaux	
NX	Impossible d'évaluer les ganglions lymphatiques régionaux
N0	Absence de métastases dans les ganglions lymphatiques régionaux
N1	Présence de métastases dans 1 à 3 ganglions lymphatiques régionaux
	N1a – métastases dans 1 ganglion lymphatique régional
	N1b – métastases dans 2 à 3 ganglions lymphatiques régionaux
	N1c – nids de cellules cancéreuses (satellites) dans les zones de drainage lymphatique de la sous-séreuse ou dans le tissu qui entoure le côlon ou le rectum sans métastases dans les ganglions lymphatiques régionaux
N2	nPrésence de métastases dans au moins 4 ganglions lymphatiques régionaux
	N2a – métastases dans 4 à 6 ganglions lymphatiques régionaux
	N2b – métastases dans au moins 7 ganglions lymphatiques régionaux
M-Métastases à distance	
M0	Absence de métastases à distance
M1	Présence de métastases à distance
	M1a – métastases limitées à 1 organe (foie, poumon ou ovaire par exemple) ou à un ou plusieurs ganglions lymphatiques non régionaux ; M1b – métastases dans plus de 1 organe ou dans le péritoine

I.4.2. Classification selon les Stades de pTNM

Les stades du CCR décrivent la taille de la tumeur, à quelle profondeur elle a pénétré dans paroi du côlon ou du rectum. Il existe Cinque stades selon la classification PTNM qui sont représentés dans le (tableau 2), (Figure 4) ; [19].

Tableau 2 : Stades selon la 8 ème édition TNM (AJCC/UICC) ; [19].

STADE :	TNM :		
Stade 0	Tis	N0	M0
Stade I	T1, T2	N0	M0
Stade II	T3, T4	N0	M0
Stade IIA	T3	N0	M0
Stade IIB	T4a	N0	M0
Stade IIC	T4b	N0	M0
Stade III	Quelque soit T	N1, N2	M0
Stade IIIA	T1, T2	N1	M0
	T1	N2a	M0
	T3, T4a	N1	M0
Stade IIIB	T2, T3	N2a	M0
	T1, T2	N2b	M0
	T4a	N2a	M0
Stade IIIC	T3, T4a	N2b	M0
	T4b	N1, N2	M0
Stade IVA	Quelque soit T	Quelque soit N	M1a
Stade IVB	Quel que soit T	Quel que soit N	M2b

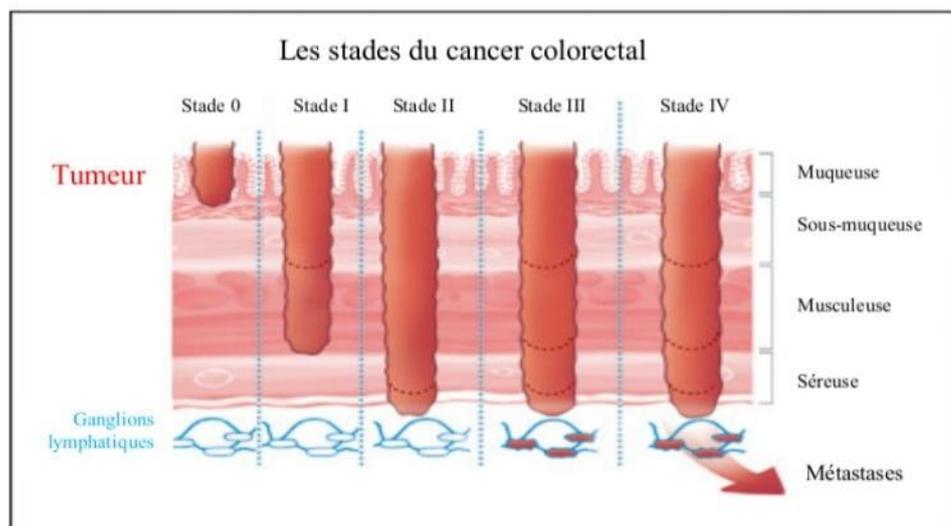


Figure 4: stades du CCR [19].

I.4. 3. La classification selon Le Grades de différenciation

Selon l'OMS, il reposait auparavant sur quatre grades, et sur une évaluation semi-quantitative du pourcentage de glandes (**figure 5**), (**Tableau 3**).

Tableau 3 : grade de différenciation OMS [9].

Formation glandulaire	Catégorie de Différenciation	Grade	Nouvelle Classification
> 95%	Bien différenciée	1	Bas grade (BG)
50-95%	Moyennement différenciée	2	
0-49%	Peu différenciée	3	Haut grade (HG)
Absence de formation glandulaire, ou autre contingent	Indifférenciée	4	

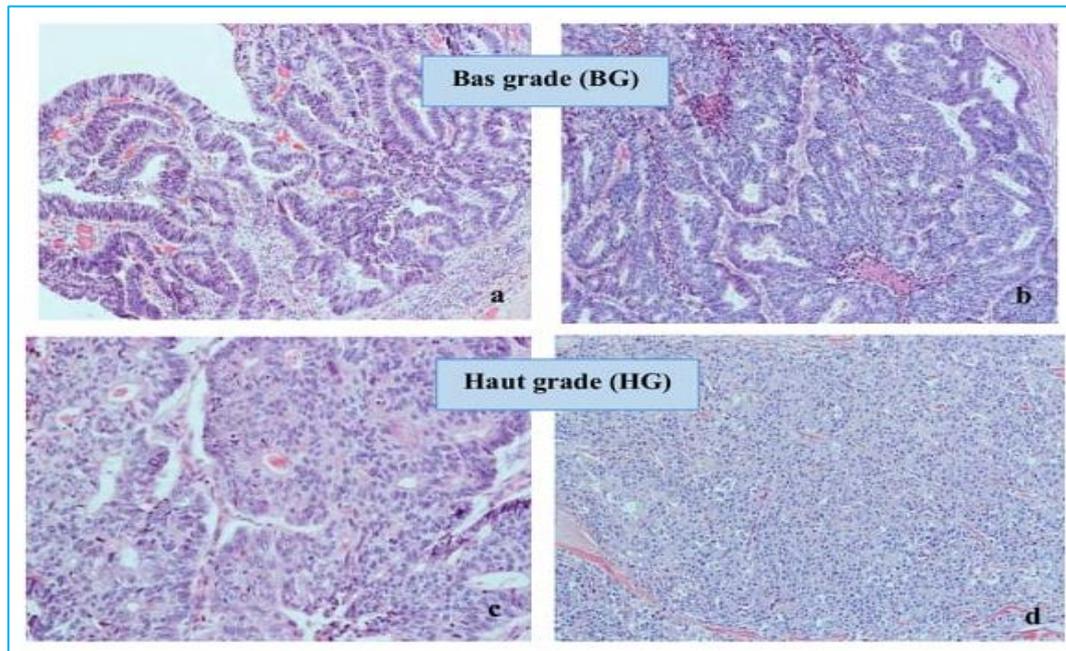


Figure 5: Observation microscopique démontrant le grade de différenciation du cancer colorectal (**HE*100**) ; [9].

a)ADK bien différencié ;b) ADK moyennement différencié ; ADK peu différencié ;d) carcinome indifférencié.

I.5. Mécanismes moléculaires de la cancérogénèse colorectale

I.5.1. Modifications génétiques

I.5.1.1. Instabilité chromosomique

L'instabilité chromosomique (CIN) est présente dans environ 75% des CCR sporadiques [20]. Ces tumeurs sont généralement situées dans le colon gauche et le rectum. La voie CIN est caractérisée par des caryotypes anormaux dus à la perte de tout ou une partie des chromosomes ou à l'acquisition de matériel chromosomique [21]. De plus, de nombreuses mutations qui activent des oncogènes ou inactivent des gènes suppresseurs de tumeurs caractérisent cette voie. En effet, la voie CIN classique est caractérisée par l'accumulation de plusieurs types de mutations (**Figure 6**) ; [20].

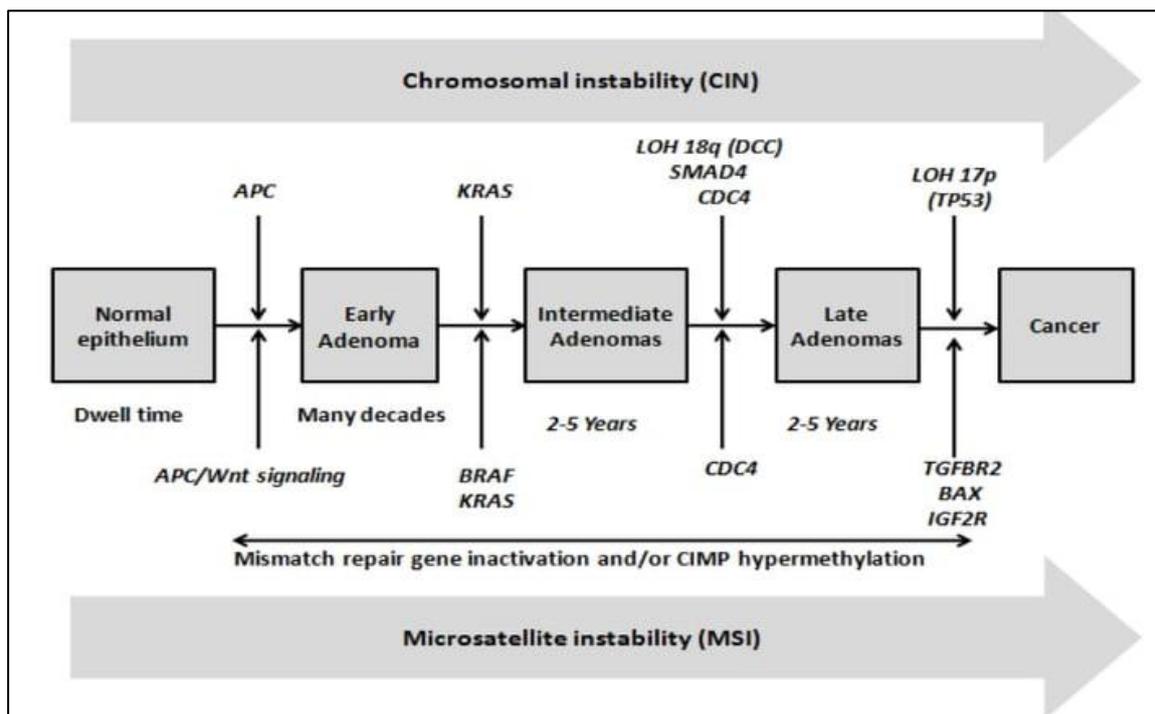


Figure 6: Séquence d'adénome colorectal-carcinome [22].

I.5.1.2. Instabilité des microsatellites

L'instabilité des microsatellites (MSI-H) est observée dans un petit groupe de tumeurs (représentant 15% des CCR) qui sont plus fréquentes dans le côlon droit. Ce type d'instabilité résulte de la défaillance du système MMR (MisMatch Repair) ; [23,24]. Ces tumeurs présentent rarement des mutations d'APC, KRAS et TP53 et sont diploïdes. Les mutations du TGF- β RII (récepteur de type II du TGF- β) et de BRAF sont des événements précoces caractérisant ces tumeurs (**figure7**) ; [25].

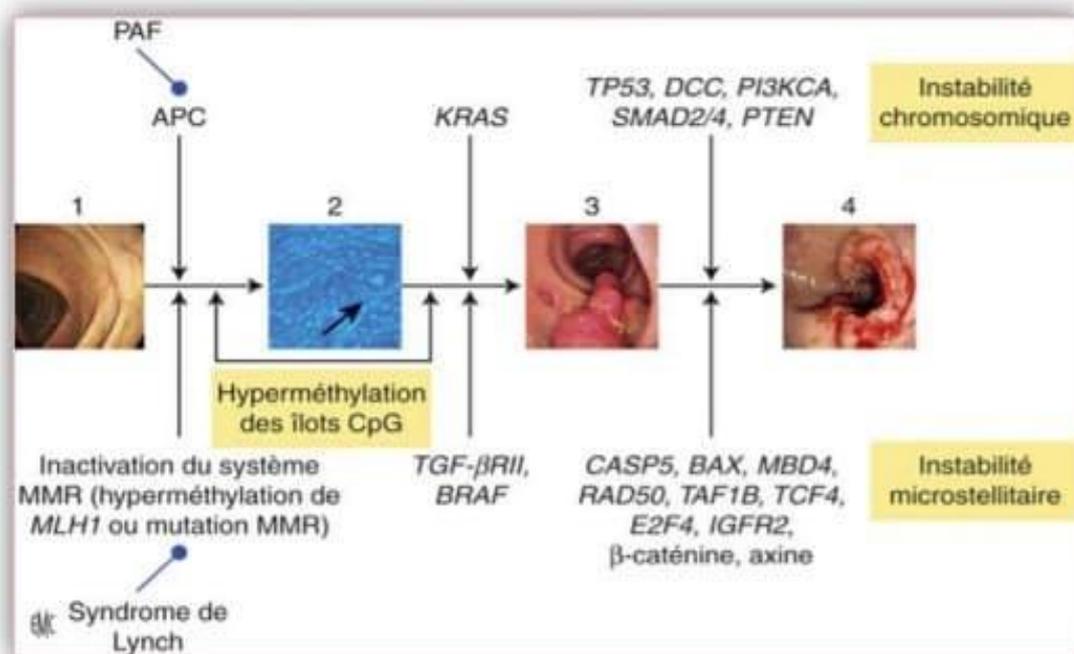


Figure 7: La modélisation de la cancérogenèse au cours du cancer du côlon.

1. Muqueuse normale; 2. Cryptes aberrantes ; 3. Adénomes; 4. Cancer invasif [10].

I.5.1.3. Hyperméthylation des îlots CpG

Le phénotype CIMP (CpG Island methylator phenotype) est fréquent dans les tumeurs du côlon droit, dans les tumeurs peu différenciées et chez la femme. Il concerne 20 à 30 % des tumeurs sporadiques [26]. Ce phénotype entraîne l'inactivation de nombreux gènes suppresseurs de tumeur par hyperméthylation de leurs promoteurs [27].

I.5.2.Principales voies de signalisation impliquées dans la carcinogénèse colorectale

Plusieurs études ont confirmées que les gènes impliqués dans le développement de cancer colorectal appartiennent principalement à quatre voies de signalisations cellulaires [28,29]. Les quatre voies sont décrites ci-dessous.

I.5.2.1.Voie Wnt/APC/ bêta caténine

Cette voie est inactivée lors de la carcinogénèse colorectale et est altérée dans plus de 90% des CCR [28]. Lorsque le ligand Wnt, une glycoprotéine sécrétée, se lie à ses récepteurs Frizzled (Fz), la kinase multifonctionnelle GSK- β est inactivée.

L'accumulation cytoplasmique de la β -caténine permet sa translocation dans le noyau pour faire un Complexe avec les facteurs TCF/CEF afin d'activer les gènes cibles [30].

En l'absence de Wnt-signal, la caséine kinase 1 (CK1) et le complexe APC / Axin / GSK- β , ciblent la β -caténine pour l'ubiquitinylation et dégradation protéasomale, empêchant ainsi sa translocation nucléaire [31]. Par conséquent, l'inactivation de la protéine APC semble être liée à l'initiation et la progression tumorale (figure8) ; [32].

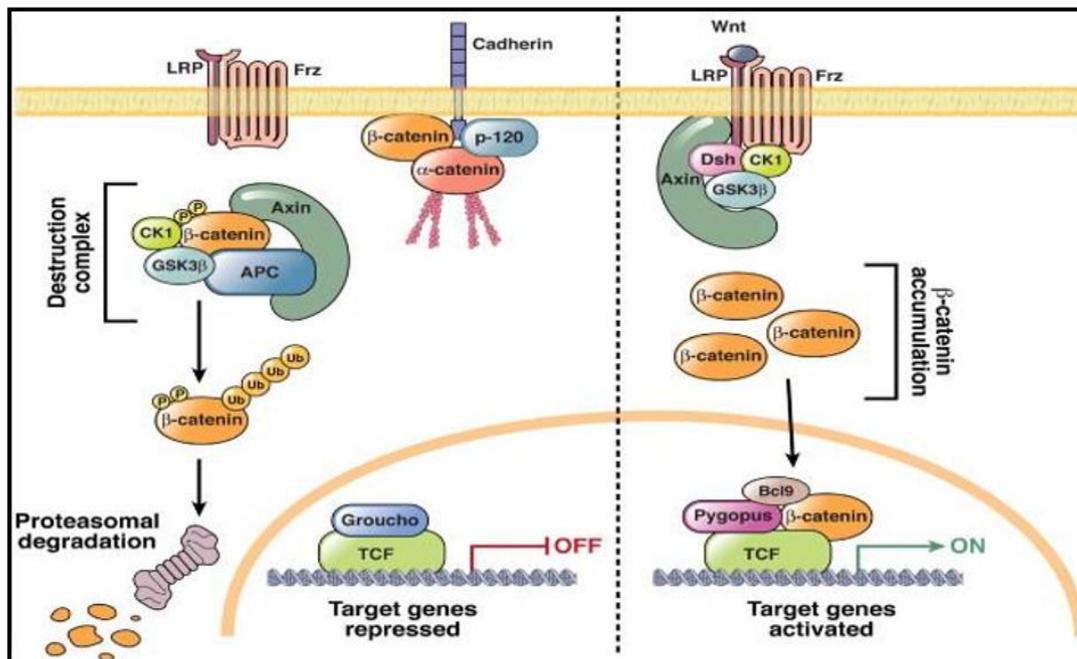


Figure 8: la voie Wnt/APC/ β -caténine impliquée dans la carcinogénèse colorectale [33].

Dans cette voie de signalisation, les niveaux cytoplasmiques de la β -caténine augmentent ce qui active la prolifération cellulaire qui conduit éventuellement à la formation de l'adénome [31].

I.5.2.2. Voie du TGF- β

La voie TGF- β joue un rôle de régulation négative de la croissance de l'épithélium colique pouvant ainsi inhiber ou stimuler la prolifération selon le contexte cellulaire [34]. L'excès de TGF- β favorise la réponse T régulatrice, supprime l'activité anti-tumorale de certaines populations de la réponse immunitaire et par conséquent augmentant le potentiel métastatique des tumeurs [35].

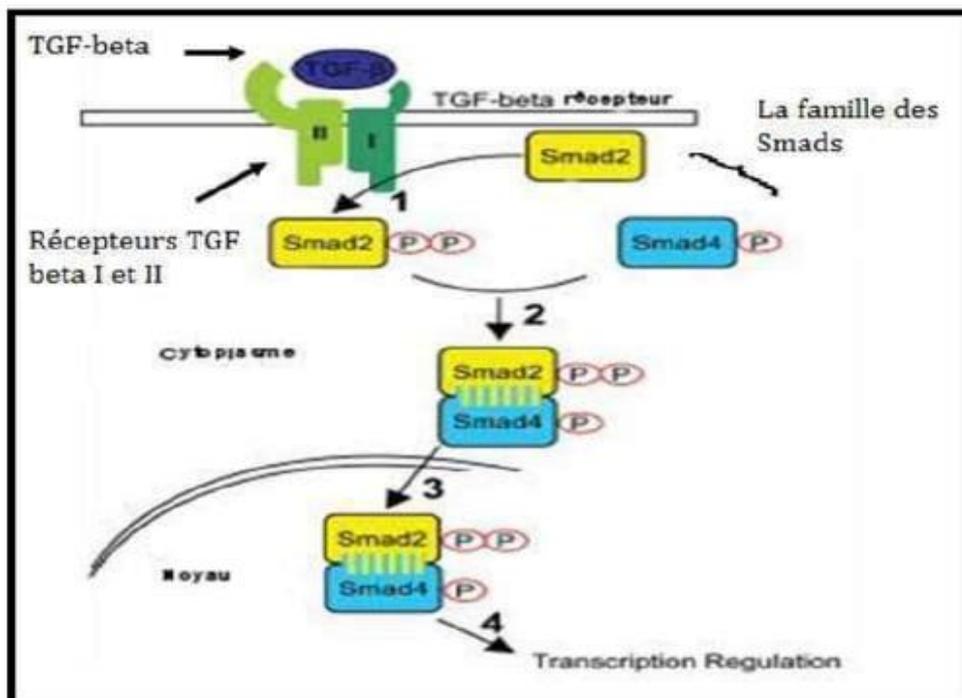


Figure 9: Voie de signalisation de TGF-bêta contribuant au cancer colorectal [36].

Toutefois, les données expérimentales sur le mécanisme détaillé de la signalisation du TGF- β au cours du développement du CCR n'ont pas encore été bien définies. D'une part, le TGF- β aurait un effet direct sur les cellules tumorales, notamment l'inhibition, mais aussi l'activation des voies de prolifération associées, dont la voie PI3K ou la voie WNT [36,37].

I.5.2.3. Voie du RAS/RAF/MAPK

Cette voie est dérégulée dans de nombreux cancers dont le cancer colorectal. Cette dérégulation peut être déclenchée soit par l'activation des récepteurs membranaires comme l'EGFR, ou bien suite à la survenue des mutations somatiques au niveau des gènes codant pour la protéine RAS (**Figure10**) ; [38].

Des mutations de KRAS ont été observées à tous les stades du cancer colorectal, y compris des microadénomes [39], des polypes hyperplasiques [40], dans 40 à 50% des adénomes et 40 à 50% des cancers [39,41]. Elles ont été trouvées dans de grands adénomes, indiquant qu'elles sont liées à la croissance anormale dans la cancérogénèse.

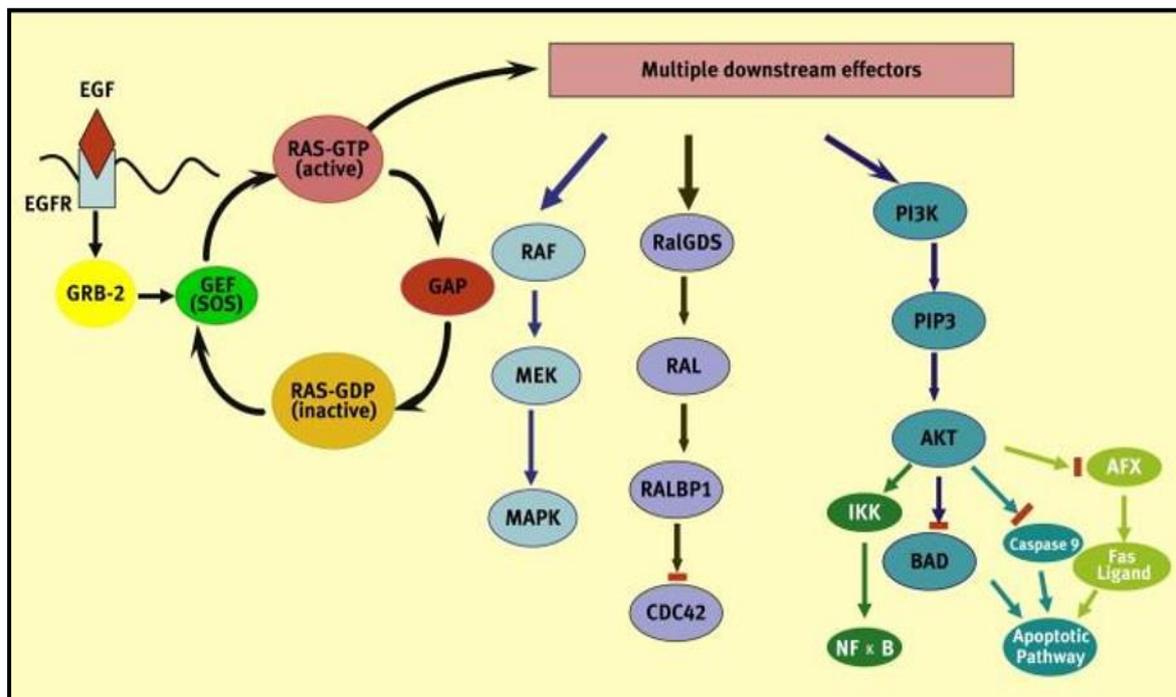


Figure 10: La voie RAS/RAF/MAPK altérée dans le cancer colorectal [42].

I.5.2.4. Voie p53

Les gènes cibles de TP53 jouent un rôle crucial dans la régulation négative du cycle cellulaire, dans l'apoptose et dans la réparation de l'ADN [43]. Le gène TP53 est muté dans environ la moitié des cancers colorectaux LOH+ (Loss of Heterozygosity). La voie p53 est inactivée par perte allélique ou mutation ponctuelle du gène TP53 dans les tumeurs CIN.

D'autre part, le gène BAX est le siège d'altération dans près de 50% des tumeurs MSI+ [44,45].

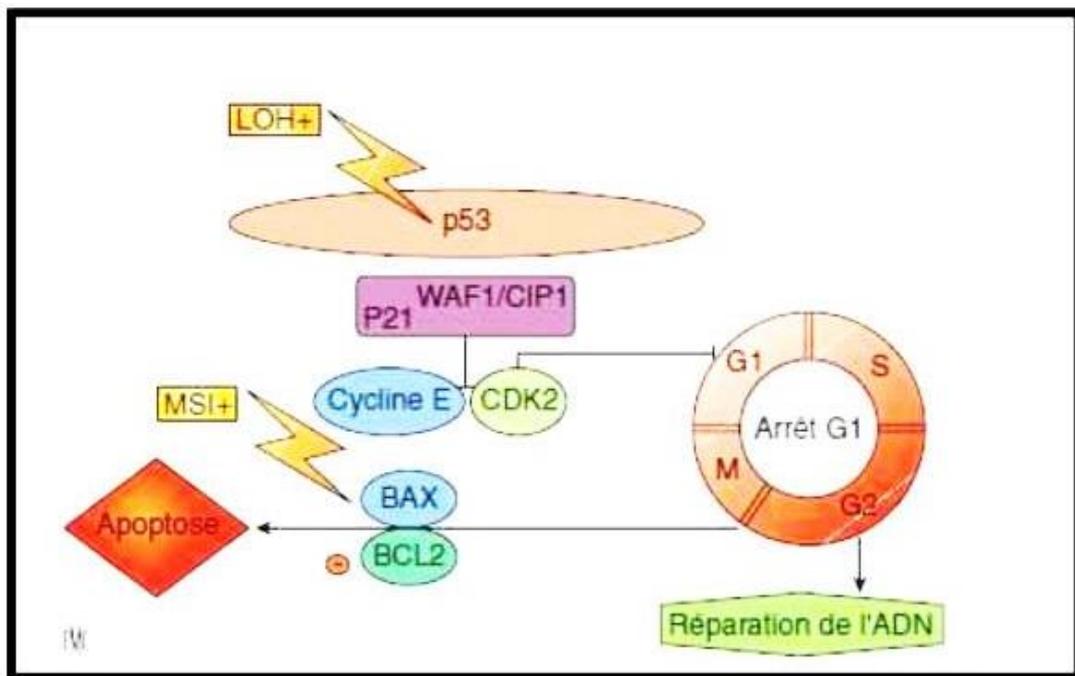


Figure 11: Voie P53 altérée dans le cancer colorectal [45].

Le gène suppresseur de tumeur p53 est muté dans environ **50%** des cancers humains dans le monde [46]. Bien qu'il ait semblé avoir une activité cancérogène après la première identification, il a été prouvé par la suite que P53 est un gène suppresseur de tumeur muté dans le cancer colorectal [47].

I.6. Dépistage du cancer colorectal

Le dépistage du CCR s'appuie sur trois niveaux de risque : moyen, élevé ou très élevé, et à chaque niveau correspondent des recommandations adaptées de dépistage et de suivi. Il se déroule en deux temps: la réalisation d'un test immunologique et d'une coloscopie en cas de positivité du test (**Tableau 4**). L'objectif du dépistage est de détecter une lésion à un stade précoce, cancéreuse ou précancéreuse et potentiellement curable [48].

Tableau 4: Modalités de dépistage de cancer colorectal dépendent du niveau de risque [15].

Niveau de risque	Modalités du dépistage
Personnes à risque moyen Âge > 50 ans	Test immunologique de recherche d'un saignement occulte dans les selles (OC-sensor®) tous les 2 ans entre 50 et 74 ans
Personnes à risque élevé Antécédent personnel d'adénome ou de CCR Antécédent familial d'adénome ou de CCR MICI Acromégalie	Coloscopies tous les 3 à 5 ans en fonction de la pathologie sous-jacente
Personnes à risque très élevé Polypose adénomateuse familiale Syndrome de Lynch	Coloscopies tous les 1 à 2 ans

I.7.Diagnostic

Le diagnostic a pour objectif d'une part, de confirmer la présence ou l'absence d'un cancer, de déterminer son type histologique et d'autre part, il permet l'identification du stade et du siège de cancer afin d'élaborer un plan de traitement adapté [48 ,49].

I.7.1. Interrogatoire et examen clinique

L'interrogatoire permet non seulement de préciser les antécédents carcinologiques personnels et familiaux à la recherche d'une maladie héréditaire mais aussi il a pour but d'évaluer l'état général du patient [50].

I.7.2. Examen complémentaire

I.7.2.1. Coloscopie totale

C'est un examen nécessaire au diagnostic du cancer colorectal. Des examens anatomopathologiques sont réalisés à partir de prélèvements biopsiques afin de confirmer le diagnostic. Dans 30% des cas, la coloscopie détectera les polypes qui peuvent être retirés pour éviter leur transformation maligne [51].

I.7.2.2.Examens biologiques

➤ Bilan standard

Des examens systématiques sont généralement effectués via évaluation de la fonction rénale (clairance à la créatinine) et hépatique. Des mesures plaquettaires, La Numération Formule Sanguine (FNS) et un bilan lipidique (LDH, Lactate déshydrogénase) sont également nécessaires. Toutefois, des examens optionnels peuvent être demandés selon les besoins pour bilan préthérapeutique en fonction de l'âge et de l'état clinique du patient [52].

➤ Marqueurs tumoraux

Lors d'un bilan initial d'un cancer colorectal, il faut faire un dosage de certains marqueurs notamment les GICA (Gastro-Intestinal Carbohydrate Antigen) ou l'ACE (Antigène Carcino-embryonnaire) voire même le CA 19-9 [8,52].

➤ Imagerie

L'imagerie permet de préciser la localisation des métastases à partir d'une échographie hépatique et une radiographie pulmonaire ou un scanner thoraco-abdo-pelevien [53].

I.8. Prise en charge thérapeutique du cancer colorectal

I.8.1. Chirurgie

C'est une composante majeure de la prise en charge thérapeutique consiste à supprimer la portion du côlon ou du rectum atteinte par la tumeur en respectant une marge saine. Le prélèvement et l'analyse des ganglions lymphatiques locaux sont essentielles pour décider le traitement le plus adéquat [54].

I.8.2. Radiothérapie

Une radiothérapie est proposée selon le type de cancer, son stade d'évolution et l'état général du patient. Cette approche thérapeutique vise à détruire la totalité des cellules cancéreuses et donc réduire la taille de la tumeur pour devienne plus facile à enlever [55].

I.8.3. Chimiothérapie

La chimiothérapie est l'administration d'un médicament cytotoxique au patient pour détruire les cellules cancéreuses. En cas de cancers métastatique,

elle peut être associée à une thérapie ciblée [56].

I.8.4. Thérapie ciblée

Pour les cancers colorectaux avancés, une thérapie ciblée peut être associée à une chimiothérapie. En ce qui concerne les thérapies ciblées, plusieurs médicaments sont utilisés à savoir [57,58] :

+ Bévacicumab

Il agit contre le facteur VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) qui est nécessaire à la tumeur cancéreuse pour synthétiser leurs propres vaisseaux sanguins pour se nourrir.

+ Aflibercept

Il possède le même mécanisme d'action que le bévacizumab.

+ Cétuximab et Panitumumab

Certaines cellules cancéreuses utilisent le facteur de croissance EGF (pour Epidermal Growth Factor), qui favorise leur développement par l'accélération de leur division en se fixant à la surface des cellules, grâce à la présence des récepteurs spécifiques EGFR. Ces deux médicaments agissent sur ce mécanisme en se fixant eux-mêmes sur ces récepteurs EGFR, ce qui bloque ce mécanisme. Cependant, il faut réaliser une évaluation de la mutation génétique RAS avant ce type de traitements, car les patients qui sont mutés au niveau du gène RAS ne pourront pas réagir avec le traitement par anti-EGFR.

I.9. Facteurs pronostiques

Les facteurs permettant de prédire le pronostic du cancer colorectal local reposent principalement sur la classification TNM, qui est nécessaire mais pas suffisante. Sur ce, d'autres facteurs morphologiques peuvent être introduire, mais leur utilisation en pratique clinique doit être vérifiée prospectivement. Parmi les paramètres moléculaires, seul le statut

MSI est utilisé pour le cancer de stade II. D'autres paramètres, tels que le statut de mutation BRAF qui définit la population cancéreuse agressive, peuvent être un candidat potentiel [59].

Les caractéristiques moléculaires peuvent décomposer les stades locaux en identifiant plus précisément les patients présentant un risque élevé et faible de récurrence. La réponse immunitaire correspond aux facteurs liés à l'hôte, complète les facteurs pronostiques liés à la tumeur et semble très prometteuse. Ces facteurs candidats nécessitent des études de reproductibilité et moléculaires de validation prospective pour être intégrés dans la pratique clinique [60].

II. Instabilité microsatellitaire et cancer colorectal

II.1. Phénotype d'instabilité microsatellitaire (MSI)

L'instabilité des séquences répétées du génome (appelées microsatellites) est l'une des principales voies carcinogénétiques du cancer colorectal (CRC), qui résulte de la défaillance du système de détection et de réparation de mésappariement des bases azotés de l'ADN à savoir le système MMR (MisMatch Repair). Les cancers MSI sont fréquents chez l'homme et peuvent être héréditaires ou, le plus souvent, de survenue sporadique [25].

II.2. Système MMR (MisMatch Repair)

Le système MMR désigne un système de reconnaissance et de réparation des mésappariements de l'ADN. Il est constitué principalement de quatre gènes clés identifiés à ce jour chez l'homme qui sont : mut L homologue 1 (MLH1), mut S homologue 2 (MSH2), mut S homologue 6 (MSH6) et postmeitotic segregation increased 2 (PMS2) ; [61].

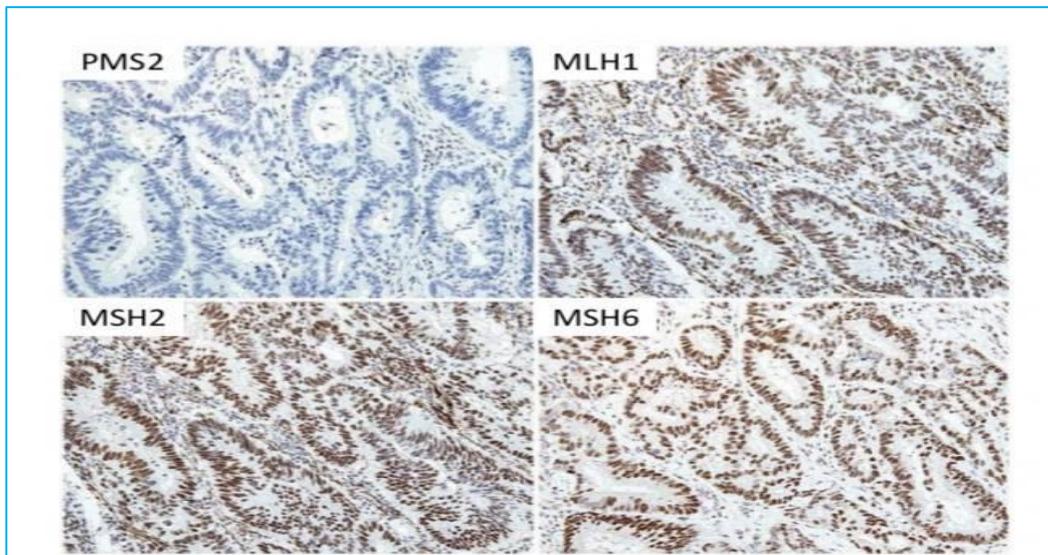


Figure 12 : Immunohistochimie des quatre protéines MMR observées par un microscope optique (G X 200) ; [62].

Cette figure illustre un exemple d'une perte d'expression isolée de PMS2 dans un CCR, avec conservation des protéines MLH1, MSH2 et MSH6.

Les gènes préalablement cités codent pour des protéines qui agissent sous forme d'un hétérodimère à savoir [63] :

- ❖ L' hétérodimère **MSH2 et MSH6 (mutS α)** : va initier le système de réparation en identifiant l'erreur de mésappariement.
- ❖ L'hétérodimère **MLH1 et PMS2 (MutL α)** : qui est recruté après le changement conformationnel ATP-dépendant. Ce recrutement permet d'éliminer plusieurs bases du brin néo-synthétisé à l'aide d'un exonucléase qui assure le bon appariement.

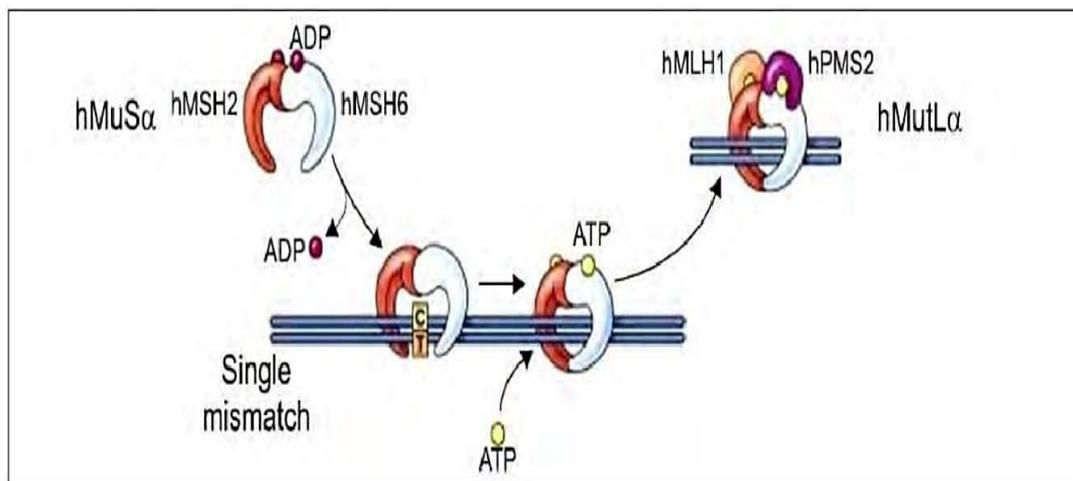


Figure 13 : Représentation du système MMR [64] .

Le recrutement de ces protéines permet de diriger l'exonucléase qui élimine quelques bases du brin néo-synthétisé. Ensuite, la réplication peut être reprise avec l'appariement de bases correctes. Lorsque le système MMR échoue, il provoque un phénotype tumoral spécifique appelé « phénotype RER (Répllicative Error) » ou « phénotype dMMR (déficient Mismatch Repair) ».

La déficience de système MMR (phénotype dMMR) entraîne un phénotype tumoral qui va se traduire par une instabilité de séquences hautement répétées du génome, c'est le phénotype MSI [65].

II.3. Phénotype MSI et survenue du cancer colorectal

II.3. 1. MSI et cancers colorectaux sporadiques

Les CCR de phénotype MSI peuvent se développer dans un contexte sporadique (dans 2/3 environ), sans agrégation familiale. C'est en effet, le cas de 10 à 15% où l'anomalie principale est une inactivation somatique du gène MLH1 de système MMR, par hyperméthylation des

îlots CpG dans le promoteur [66] ou bien par mutation bi-allélique de gène lui-même [66, 67]. Les CCR MSI souvent observés chez les femmes et chez les fumeurs et sont caractérisés par un âge plus tardif au diagnostic. Ils sont localisés le plus souvent au niveau du colon droit, de tumeurs de haut grade (peu ou indifférenciées) et de type mucineux [68-70].

II.3. 2. MSI et cancers colorectaux héréditaires

Plus rarement, dans environ 2 à 5% des CCR, l'instabilité microsatellitaire est la conséquence d'une altération germinale ou constitutionnelle de l'un des gènes MMR qui va se développer dans le cadre de deux syndromes : syndrome CMMRD (pour constitutive MMR-deficiency syndrome) et syndrome de Lynch [71].

✚ Syndrome CMMRD

Il concerne les patients ayant des mutations germinales bi-alléliques de l'un des gènes du système MMR (par ordre de fréquence : PMS2, MSH6, puis MLH1, MSH2), (**Figure14**) ; [72].

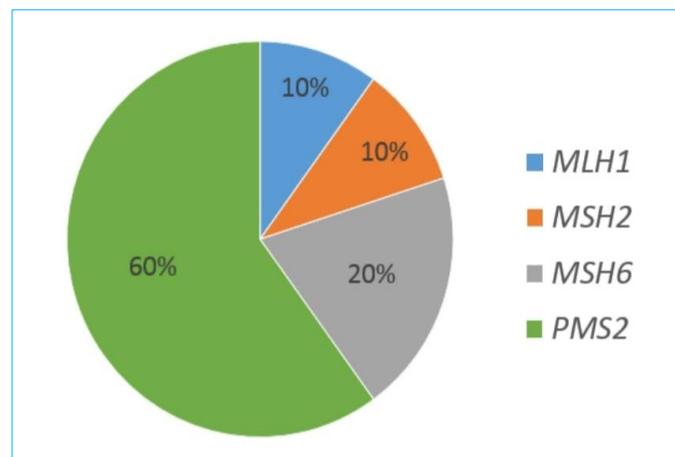


Figure 14 : les gènes impliqués dans le syndrome CMMRD [72].

✚ Syndrome de Lynch

Il concerne les patients ayant des mutations mono-alléliques pathogènes de l'un des gènes de système de mésappariement MMR. Les gènes affectés englobent le MLH1 (dans 50% des cas), le MSH2 (40%), le MSH6 (7%) ainsi que le PMS2 (2%) ; [73].

Les altérations de MMR peuvent être de grands réarrangements génomiques (grandes insertions ou délétions, duplications ou inversions) ou des altérations plus locales (petites insertions/délétions en phase ou substitutions). Les altérations les plus fréquentes sont des substitutions, donc elles représentent 63% des variations détectées sur le gène MLH1, 55% sur MSH2, 58% sur MSH6 et 70% sur PMS2 [74] .

L'inactivation du gène MSH2 est le résultat des délétions germinales du dernier exon du gène TACSTD1 (tumor-associated calcium signal transducer1) codant pour la protéine EpCAM (Epithelial Cell Adhesion Molecule) (**Figure 15**);[62, 75].

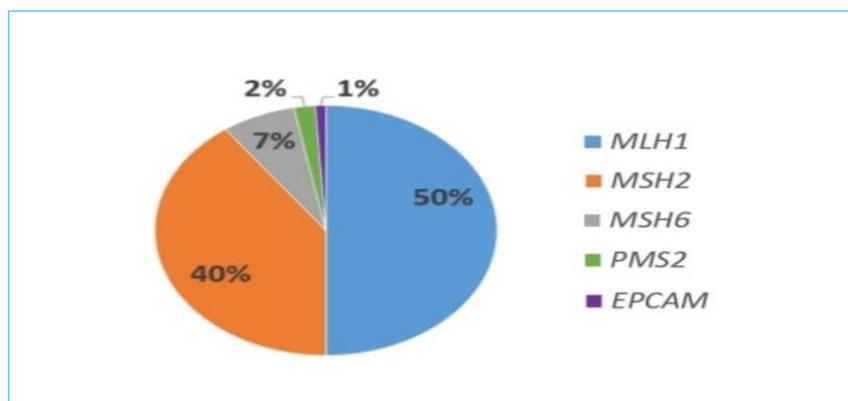


Figure 15: les gènes impliqués dans le syndrome de Lynch [76].

La mutation du gène BRAF est observée dans 5 à 10% des cas et il s'agit dans plus de 95% des cas de la mutation BRAF V600E (mutation de type transversion T>A, entraînant un changement d'acide aminé en position 600 où une valine (V) devient un acide glutamique (E) [77]. Cette dernière est présente dans 60% des CCR MSI sporadiques et elle est mutuellement exclusive des mutations de RAS. Cette mutation est plus souvent retrouvée dans les cancers MSI associés au syndrome de Lynch [78].

II.4. Détermination du statut MSI

A l'heure actuelle, le statut MSI d'une tumeur est très fréquemment recherché chez les patients atteints d'un cancer colorectal [79]. Cet examen présente un double intérêt dans la mise en évidence d'un CCR. Il permet d'une part, d'identifier, ou de contribuer à identifier, les patients à risque pour le syndrome de Lynch et le CMMRD (tumeurs MSI héréditaires) et d'autre part, il représente à un stade métastatique, un critère d'orientation thérapeutique car

les patients présentant un cancer MSI métastatique sont désormais candidats pour être traités par de nouvelles thérapies telles que l'immunothérapie [80].

La détermination du phénotype MSI peut s'effectuer par deux méthodes fortement corrélées : l'immunohistochimie(IHC) et la biologie moléculaire par la technique PCR.

II.4. 1. Technique d'immunohistochimie

Elle représente une bonne alternative au génotypage. Les mutations génétiques ou épigénétiques au niveau des gènes MMR, conduisent le plus souvent à une perte de fonction et d'expression des protéines MMR. Cette technique s'appuie principalement sur des anticorps monoclonaux dirigés spécifiquement contre les protéines hMLH1, hMSH2, hPMS2 et hMSH6 [62].

La perte d'expression de l'un des deux protéines hMLH1 et hMSH2 est exclusive. En revanche, en cas de perte d'expression de hMLH1, une perte de hPMS2 est accompagnée. En cas de perte de hMSH2, une perte conjointe de hMSH6 sera toujours observée. Il existe toutefois de rares cas de perte isolée de hPMS2 ou de hMSH6 [81].

La répression des protéines hMSH2, hMSH6 et hPMS2 est un bon argument pour une origine constitutionnelle ainsi que la perte d'expression de hMLH1 peut être liée soit à une hyperméthylation de son promoteur (CCR sporadique), soit à une mutation constitutionnelle (CCR héréditaire), (**Figure 16**). A fin de discriminer une origine sporadique ou une origine héréditaire, l'IHC devra donc être complétée par une recherche d'hyperméthylation du promoteur du gène MLH1 (**Figure 17**) ; [82].

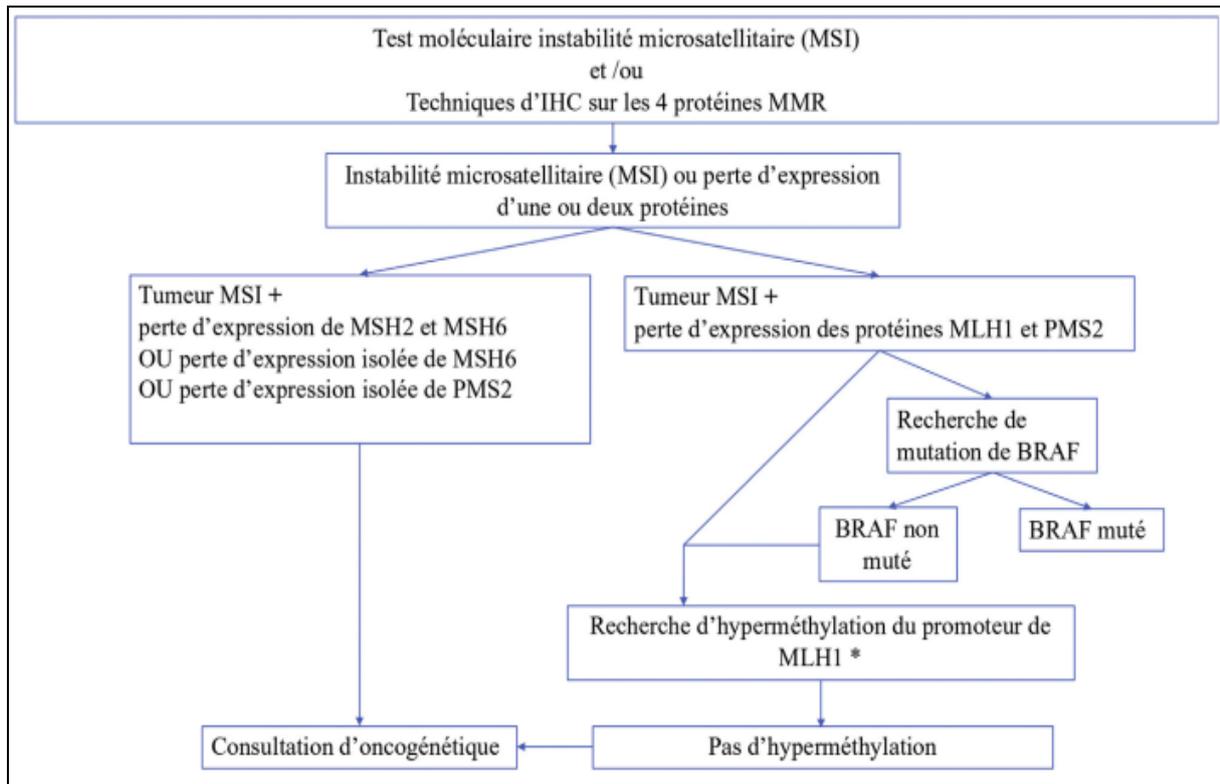


Figure16 : Algorithme du diagnostic moléculaire du syndrome de Lynch [83].

L'analyse de la composition des gènes MMR est longue et coûteuse. Par conséquent, cela ne s'applique qu'aux personnes atteintes de CCR avec statut MSI et sans mutation somatique dans le gène BRAF et sans hyperméthylation du promoteur du gène MLH1 [83].

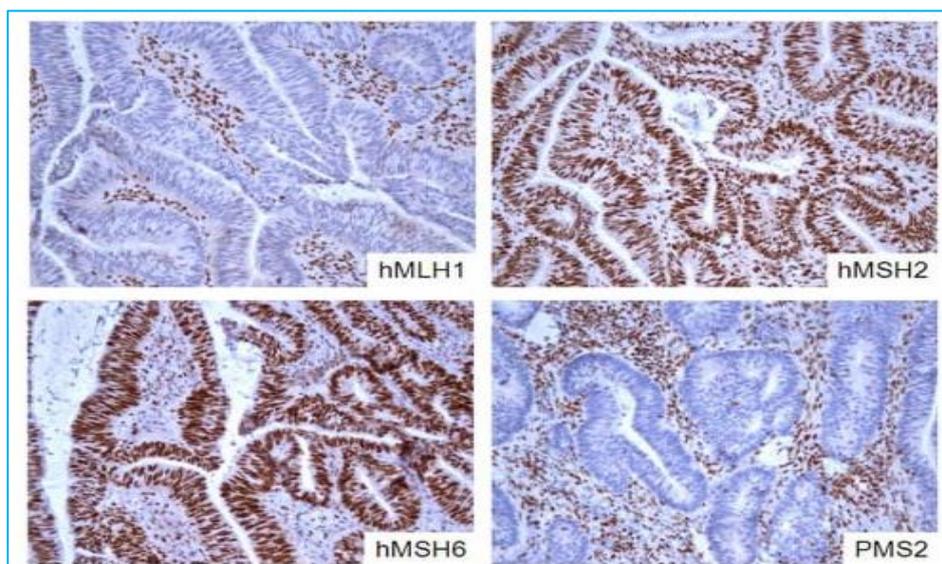


Figure 17 : Observation microscopique de l'expression immunohistochimique des protéines MMR illustrant une perte d'expression conjointe de hMLH1 et hPMS2 (G X 200) ; [74].

L'IHC est une technique peu onéreuse et particulièrement sensible, (plus de 90% sensibilité) pour détecter la déficience du système MMR et la protéine défectueuse, cela peut guider les généticiens pour séquencer les gènes MMR. Cependant, cette technique peut ne pas être fiable notamment dans le cas de mutations faux-sens qui est responsable de la perte de fonction et donc, aucune expression protéique ne peut être détectée [74].

II.4. 2. Technique PCR (polymerase chain reaction)

La technique PCR utilise un panel (teste Pentaplex) qui repose sur la co-amplification de 5 marqueurs microsatellites dans l'ADN tumoral et permet d'identifier de manière spécifique, sensible et simple le phénotype MSI d'une tumeur. Cette méthode nécessitant la comparaison de l'ADN tumoral à un ADN sain, permet de tester 5 microsatellites dont la longueur est conservée avec un haut niveau de fidélité. Dans la population mondiale, l'analyse de BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-22, NR-24 ou de NR27 a été recommandée (**figure18**) ; [84]. Elle consiste à détecter le statut MSI directement à partir du sang des patients (détection d'ADN tumoral circulant sans nécessité d'un accès direct à la tumeur), sans nécessité de recourir à une analyse comparative de l'ADN constitutionnel. Pour retenir le phénotype MSI dans la tumeur, il faut tester au moins 3 des 5 marqueurs microsatellites [25].

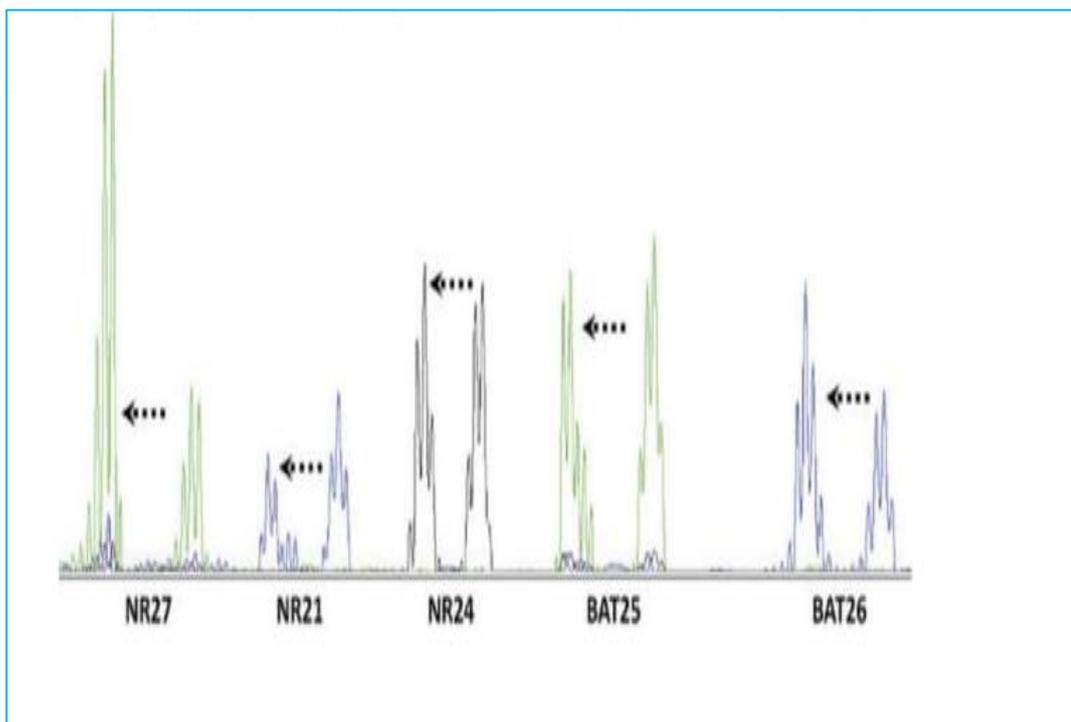


Figure 18 : Amplification des 5 microsatellites de la Pentaplex par PCR [85].

Comme clairement illustrée, les 5 microsatellites du Pentaplex ont été amplifiés par PCR, puis ont migré sur le capillaire et détectés grâce à la fluorescence des amorces. Dans la plupart des cas, l'instabilité des microsatellites entraîne le raccourcissement des séquences répétitives de l'ADN tumoral (indiquée par des flèches) par rapport à l'ADN normal [86].

II.5. Traitement

II.5.1. Chimiothérapie

L'étude du statut MSI est nécessaire pour les patients atteints de cancer colorectal [87,88]. Les données de la littérature sont unanimes vis-à-vis du bon pronostic des cancers du colon de stade II de phénotype moléculaire MSI [88-90]. Ces informations sont généralement utilisées afin de discuter l'indication d'une chimiothérapie adjuvante pour un patient opéré de cancer colorectal de stade II qui présente des facteurs de mauvais pronostic. Quel que soit le statut MSI, une chimiothérapie est associée avec l'oxaliplatine et une fluoropyrimidine est recommandée dans les CCR de stade 3 avec indication à une chimiothérapie adjuvante [90,91].

II.5.2. Immunothérapie

Les CCR de phénotype MSI, que ce soit héréditaires (lynch) ou sporadiques, représentent une forte prévalence mutationnelle et une forte infiltration lymphocytaire (lymphocytes T). Plusieurs traitements peuvent être indiqués afin de stimuler l'immunité des patients atteints de cancer colorectal avec phénotype MSI à savoir [89-95] :

➤ **Pembrelizumab**

C'est un anticorps monoclonal (AC) Anti PD-1 qui est administré chez des patients qui donnaient un temps de réponse de 52% dont 21% de réponse complet.

➤ **Nivolumab**

C'est un autre AC Anti PD-1 qui est utilisé pour le traitement pour 69% de contrôle de la maladie avec 31% de réponse.

➤ **Ipilimumab**

C'est un autre AC Anti CTLA-4 utilise en collaboration avec nivolumab permettait 80% de tout de contrôle tumoral.

Les inhibiteurs de checkpoints immunitaires diffèrent selon leurs efficacités, ce qui ils s'agissent d'un cancer colorectal sporadique, syndrome de lynch ou métastatique de statut MSI (**Figure 19**) ; [96].

➤ **Immunité anti-tumorale, check point immunitaire (ICK) et thérapie anti-ICK**

Comme clairement démontré sur la **figure 19**, deux phases peuvent être distinguées suivant l'administration de thérapie Anti-ICK aux patients atteints de cancer colorectal.

✚ **Phase d'initiation**

Au cours de cette phase, le lymphocyte T initie la réponse immunitaire par la reconnaissance par le TCR (T Cell Receptor) de peptides antigéniques présentés à la surface des cellules présentatrices d'antigènes via le Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH). Cette reconnaissance n'est pas suffisante à l'activation du lymphocyte et des signaux de co-stimulation, médiés par l'interaction entre le récepteur CD28 du lymphocyte et le ligand B7 de la cellule dendritique qui sont nécessaires pour sa maturation. Le ligand B7 peut également interagir avec le récepteur CTLA-4 présent à la surface du lymphocyte, ce qui conduit à son inhibition. En contexte immunologique, ce mécanisme permet de moduler la réponse immunitaire afin que sa durée et son intensité ne soient pas dommageables pour l'organisme.

✚ **Phase d'activation**

Durant cette phase, le couple récepteur PD-1 (lymphocyte) / ligand PD-L1 (cellule tumorale) suit le même mécanisme, pendant la phase d'activation dans les tissus périphériques. Les anticorps anti-CTLA-4 et anti-PD-1/PDL1 bloquent l'interaction entre les récepteurs et les ligands, empêchant donc la signalisation d'inhibition de la réponse immunitaire. Les lymphocytes activés reconnaissent à nouveau les cellules tumorales et engagent la fonction de défense contre ces dernières.

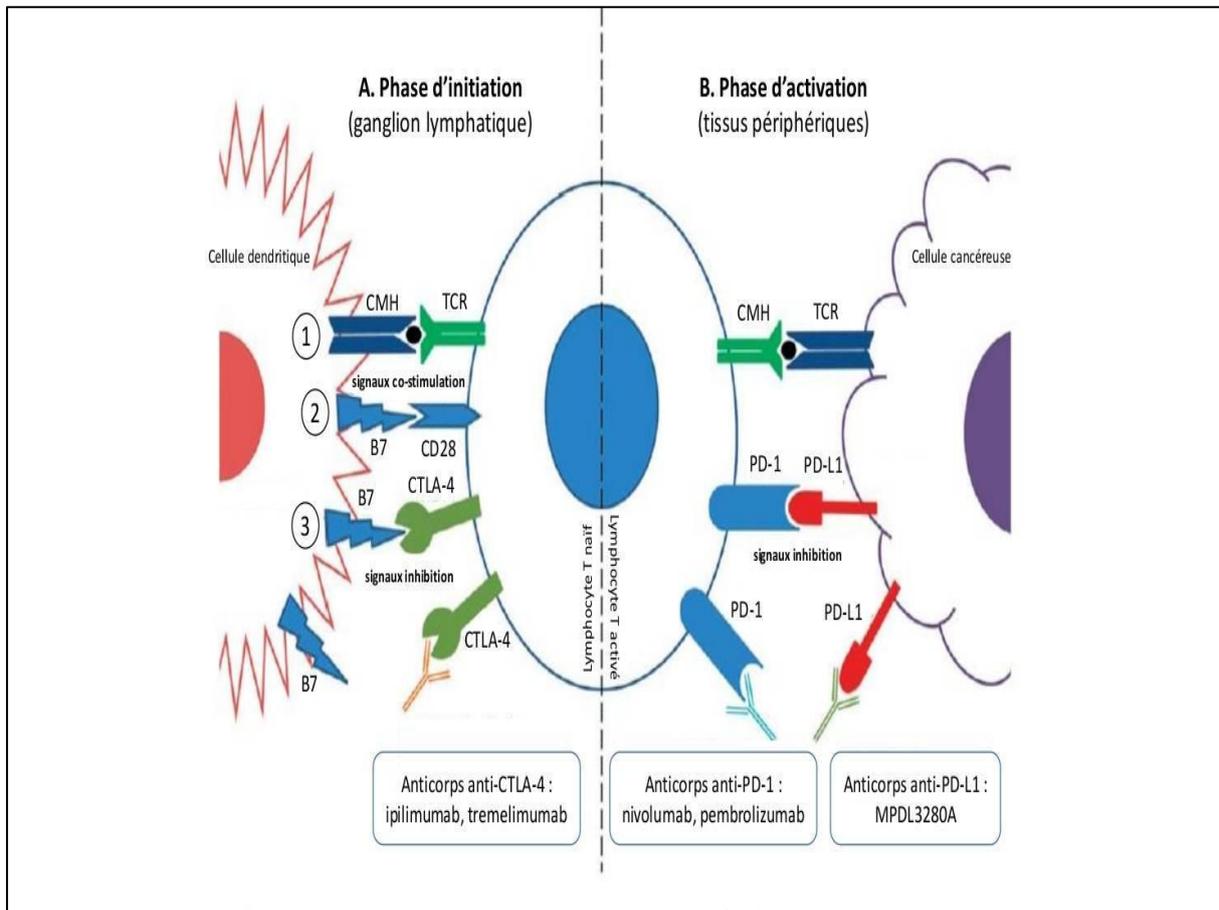


Figure 19:Immunité anti-tumorale, check point immunitaire (ICK) et thérapie anti-ICK [96].



PARTIE II
Partie pratique



Objectifs

La visée fondamentale de notre étude est de:

- ✚ Estimer la fréquence du cancer colorectal au sein du service d'anatomie pathologique du CHU Isaad Hassani de Beni Messous.
- ✚ Faire ressortir certaines particularités épidémiologiques, cliniques et anatomopathologiques de ce type de cancers.
- ✚ Déterminer le statut MSI des cancers colorectaux.
- ✚ Démontrer le rôle du phénotype MSI dans l'orientation de la démarche thérapeutique.

III. 1. Matériel

III. 1.1. Matériel biologique

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

Mis à part l'examen histologique et afin de confirmer le diagnostic du cancer colorectal, les cas inclus dans la présente étude ont bénéficié d'une analyse immunohistochimique au moyen des anticorps MLH1, PMS2, MSH2 et MSH6.

III. 1. 2. Matériel non biologique

Une variété d'appareillages et de réactifs étaient indispensables à la réalisation de notre étude. L'ensemble du matériel est clairement démontré dans **l'annexe 1**.

III. 2. Méthodes

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

III. 2. 1. Enquête rétrospective

Il s'agit d'une étude rétrospective ciblant les patients atteints de cancer colorectal, recensés dans le laboratoire d'anatomie pathologique du Centre Hospitalo-universitaire Isaad Hassani de Beni Messous, durant la période comprise entre le 1^{er} Janvier 2018 et le 31 Mars 2021. L'étude menée a porté sur 151 cas atteints de cancer colorectal, dont l'âge varie de 20 à 79 ans.

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

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

III. 2. 2. Etude anatomopathologique

L'étude anatomopathologique a été menée au sein du laboratoire d'anatomopathologique du CHU de Beni Messous, durant la période allant du 13 Mars au 10 Mai 2021. L'étude prospective a été faite sur 28 cas via une analyse histologique et immunohistochimique par plusieurs anticorps à savoir, MLH1, PMS2, MSH2 et MSH6, en vue de confirmer le diagnostic du cancer colorectal.

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

III.2.2.1. Prélèvements tissulaires

Il s'agit principalement de prélèvements d'hémi-colectomie réalisé par le médecin spécialiste.

III.2.2.2. Analyse anatomo-pathologique

Le diagnostic anatomo-pathologique découle d'une cascade d'étapes interdépendantes.

III.2.2.2.1. Examen histologique

L'examen histologique représente l'étape cruciale de l'analyse anatomopathologique. Dans notre étude, cette analyse déterminante comportait plusieurs étapes permettant l'affirmation ou non du diagnostic de malignité.

A) Fixation

La fixation représentait une étape importante et essentielle dans la détermination de la qualité de tout le processus du diagnostic et la rapidité du résultat. Elle a permis de garder les structures tissulaires à étudier dans un état aussi proche que possible de l'état vivant. La durée de fixation de 24h à 72h a dépendu principalement de la taille du prélèvement. Au cours de cette phase, il a fallu utiliser une quantité suffisante de fixateur afin qu'il soit 10 fois plus volumineux que la pièce. Les pièces reçues ont été fixées dans un fixateur, le formaldéhyde (HCHO à 10 %, pH = 4), en raison de ses bonnes qualités de fixation et de conservation.

B) Analyse macroscopique

L'étude macroscopique se base sur l'observation à l'œil nu de toute altération tissulaire. Ce type d'analyse a été pratiqué par un médecin pathologiste. L'examen macroscopique s'est effectué en se basant sur plusieurs étapes :

- ✚ Orientation de la pièce d'hémi-colectomie qui dépend des repères mis sur le prélèvement par le chirurgien.
- ✚ Mesure de la pièce reçue (largeur, longueur, diamètre).
- ✚ Palpation, description et analyse visuelle de la pièce opératoire.
- ✚ Encrage des limites chirurgicales de la pièce à l'aide d'une encre de chine.
- ✚ Découpage des prélèvements en tranches fines pour les mettre dans des cassettes en plastique immatriculées selon le numéro du patient puis les plonger dans un bac à formol à 10%.

C) Déshydratation

Cette étape a été effectuée à l'aide d'un automate Leica comportant 12 bacs en cercle:6 bacs d'éthanol à différentes concentrations (50°, 60°, 70°, 80°, 90°, et 100°),

Passant ensuite par du xylène, un mélange de xylène et paraffine et enfin par 2 bacs de paraffine fondue. Le cycle dure d'environ 12h et tout cela pour remplacer l'eau des prélèvements par l'alcool pour permettre leur intégration dans la paraffine.

D) Enrobage

Etait l'étape d'inclusion et de mise en bloc des différents prélèvements au sein des moules et les remplir de paraffine. Ensuite, les prélèvements ont été refroidis et démoulés, afin de les mettre dans un congélateur et l'obtention de blocs de paraffine.

E) Préparation des coupes et séchage

Des coupes fines de 1 μm ont été réalisées grâce à un microtome pour obtenir des rubans tissulaires. Ces derniers ont été étalés sur des lames codées remplies d'eau distillée et placées sur une plaque chauffante à 50 °C. Les lames ont été organisées dans un portoir et mises dans une étuve pour le séchage à 90°C pendant 30 minutes.

F) coloration

La coloration était cruciale dans l'analyse histopathologique. Elle a été entamée par la mise en place des lames dans trois bains de xylène pendant 5 min. Par la suite, les coupes ont été réhydratées dans trois bains d'alcool avec des concentrations décroissantes (100°, 90-80° et 70°). Ensuite, la coloration de routine à l'hématoxyline éosine (HE) qui a été effectuée par un passage dans un bain d'hématoxyline pendant 5 min pour la coloration des noyaux en bleu/violet suivis par un lavage à l'eau courante. Puis, les lames ont été mises dans un bain d'éosine pendant 5 min pour colorer le cytoplasme en rose puis rinçage à l'eau. Les lames ont été soumises ensuite à deux bains d'alcool croissants puis mises dans 3 bains de xylènes pour éclaircissement.

G) Montage et observation microscopique

Cette étape consiste à recouvrir les lames par les lamelles en utilisant une résine synthétique « Eukitt » (colle biologique). Les lames séchées à l'air ont été ensuite examinées au microscope optique à différents grossissements (X4, X10, X40 et 100) puis interprétées par le médecin pathologiste.

III.2.2.2.2. Etude immunohistochimique

L'immunohistochimie (IHC) est très largement utilisée avec de multiples indications diagnostiques, pronostiques et thérapeutiques à savoir la classification précise de nombreuses tumeurs. Cette technique d'histologie permet la localisation des protéines données dans un tissu par la détection d'antigènes grâce à un anticorps primaire spécifique à l'épitope, puis la révélation par un deuxième anticorps couplé à une enzyme. La réaction colorée est révélée par la suite et visualisée par le microscope.

La méthode immunoenzymatique appliquée dans cette étude était de type indirect. La technique d'IHC s'est déroulée en plusieurs phases décrites ci-dessous :

A) Préparation des coupes

Les blocs de paraffine déjà préparés et archivés dans le laboratoire, ont été par la suite récupérés afin de réaliser des coupes de 1 à 2 μm . Par la suite, une fixation a été effectuée sur des lames silanisées pour garantir la résistance à la chaleur. Ces dernières ont été séchées, déparaffinées et réhydratées par l'alcool [100-90-80] puis rincées à l'eau distillée.

B) Démasquage thermique

Cette étape visait à démasquer le site antigénique (épitope) à l'aide d'un tampon de démasquage TRS (Target Retrieval Solution) concentré à 50 fois. Les échantillons émergés dans cette solution ont été exposés à la chaleur à 96 -98°C générée par un bain-marie, pendant une durée de 40 minutes.

C) Refroidissement et lavage

Les lames ont été récupérées et refroidies à température ambiante pendant 20 minutes, ensuite lavées par un tampon de lavage TBS-T (tris-buffer saline solution containing tween) concentré à 20 fois.

Un stylo « Dako Pen » a été utilisé pour encercler l'échantillon et fournir une barrière aux liquides (ex: solution d'AC) pour limiter la diffusion des réactifs. Ensuite, les lames ont été placées sur une gaze mouillée.

D) Blocage des peroxydases endogènes

Cette étape a été entamée par l'ajout de l' H_2O_2 (peroxyde d'hydrogène) sur la zone délimitée et l'incubation pendant une période de 5 minutes. Ensuite, un lavage a été effectué via passage par trois bains de TBS-T. Cette étape avait pour but de bloquer l'effet du peroxyde d'hydrogène sur la réaction immunohistochimique.

A) Incubation avec l'anticorps primaire

Une incubation avec l'anticorps primaire a été faite (Anti MSH2, Anti MSH6, Anti MLH1 et Anti PMS2) pendant 40 minutes suivie d'un lavage dans 3 bains de TBS-T.

E) Incubation avec l'anticorps secondaire

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

F) Révélation

La révélation a été effectuée grâce à l'ajout de quelques gouttes de chromogène DAB (3,3diaminobenzidine) avec 1ml de substrat et l'incubation pendant 30 minutes à température ambiante, pour la mise en évidence d'une réaction Ac-Ag qui se manifeste par l'apparition d'une couleur marron. Enfin, un rinçage des lames a été fait à l'eau distillée.

G) Contre coloration

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

H) Montage et observation

Après avoir recouvert les différents étalements histologiques par des lamelles grâce à l'Eukitt, un séchage à l'air libre, a été fait.

I) Lecture et interprétation microscopique

La dernière étape de l'immunohistochimie était la lecture qui a été faite à l'aide d'un microscope optique à différents grossissements, par le médecin pathologiste. Celui-ci a rédigé par la suite, un compte rendu basé sur l'interprétation des résultats.



Résultats et discussion



IV. Résultats et discussion

Dans cette partie, les résultats atteints sont présentés, sous forme de graphes et de tableaux, interprétés et discutés selon la bibliographie.

IV. 1. Enquête rétrospective

Au total 151 cas de cancer colorectal (CCR) ont été recensés au sein du service d'anatomie pathologique du CHU de Beni Messous, durant la période du 1^{er} janvier 2018 au 4 avril 2021.

IV.1.1. Caractéristiques épidémiologiques, cliniques et anatomopathologiques des patients atteints de cancer colorectal

A) Répartition des cas selon l'année de recrutement

Durant notre période d'étude, 151 cas incidents de cancer colorectal ont été diagnostiqués avec un nombre important de 66 cas (43.7 %) au cours de l'année 2019 suivis de 44 cas (29.1 %) pendant l'année 2020 et 27 cas (17.8 %) en 2018. Enfin, on dénombre 14 cas seulement (9.2 %) en 2021. La moyenne d'incidence du cancer colorectal a été estimée à 37 cas (**Figure 20**).

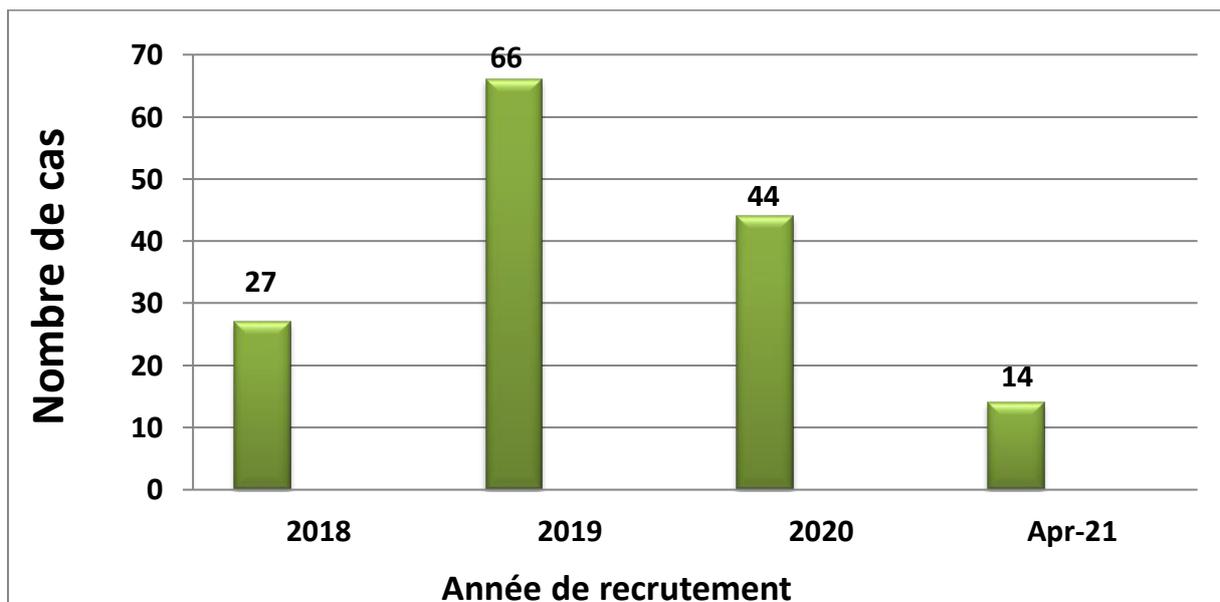


Figure 20 : Répartition de cas selon l'année de recrutement.

La moyenne obtenue est due probablement à la sensibilisation de la population vis à vis du cancer colorectal rendant le diagnostic très fréquent et plus accessible.

B) Répartition des cas par sexe

La répartition des cas par sexe a révélé une prédominance masculine avec 88 cas (58.2 %) par rapport à 63 cas (41.7 %) notés chez les femmes. Le sex-ratio homme/femme était de 1,35 (Figure21).

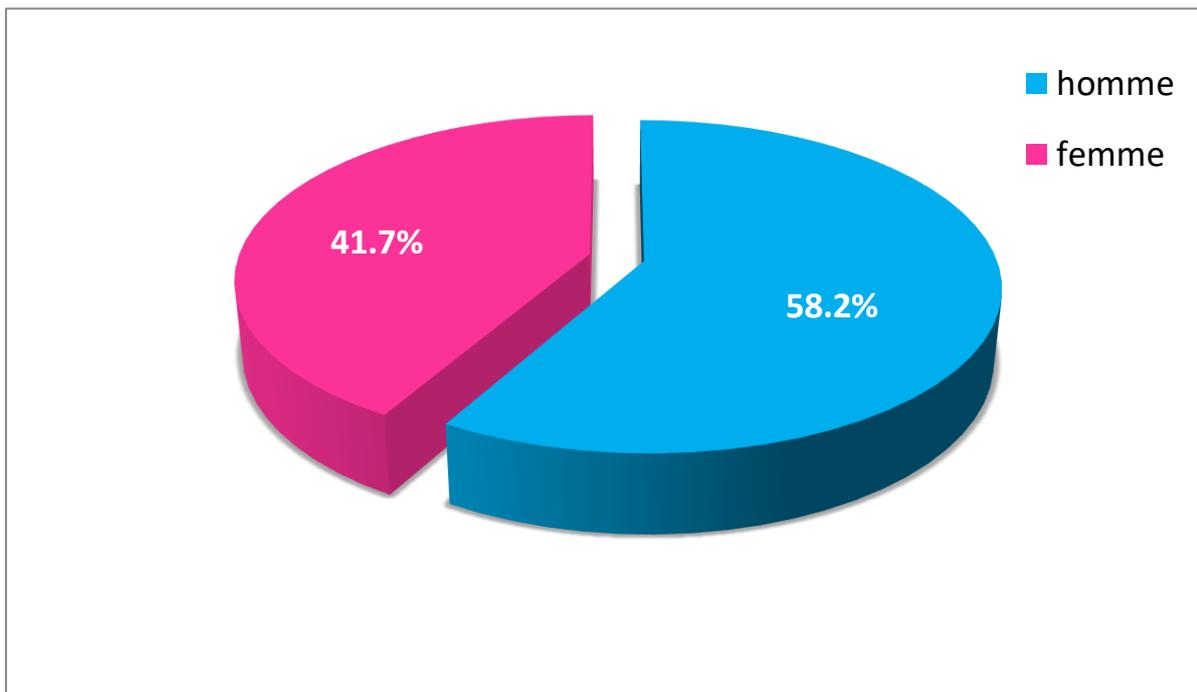


Figure 21 : Répartition des cas par sexe.

Nos résultats concordent avec ceux obtenus par **McCabe et al [97]** et par **Nayek et al [98]** qui ont trouvé une prédominance masculine de 56% et de 60.6% avec respectivement un sex-ratio de 1.28 et de 1.53. D'autre part, nos résultats étaient supérieurs à ceux notés par **Kassem et al [99]** qui ont révélé un sex-ratio de 0.58.

Ceci s'explique probablement par la consommation excessive d'alcool et de tabac, des facteurs de risque importants du CCR, chez les hommes par rapport aux femmes qui sont moins sujettes à cette pratique **Steinmetz et al [100]**, **El Housse et al [101]**.

C) Répartition des cas par tranche d'âge

Dans notre étude, l'incidence du CCR était élevée après l'âge de 50 ans et devient encore plus importante chez les sujets âgés entre 60 et 69 ans, avec 48 cas (31.7%). La moyenne d'âge était de 57.58 ± 15.42 ans (**Figure22**).

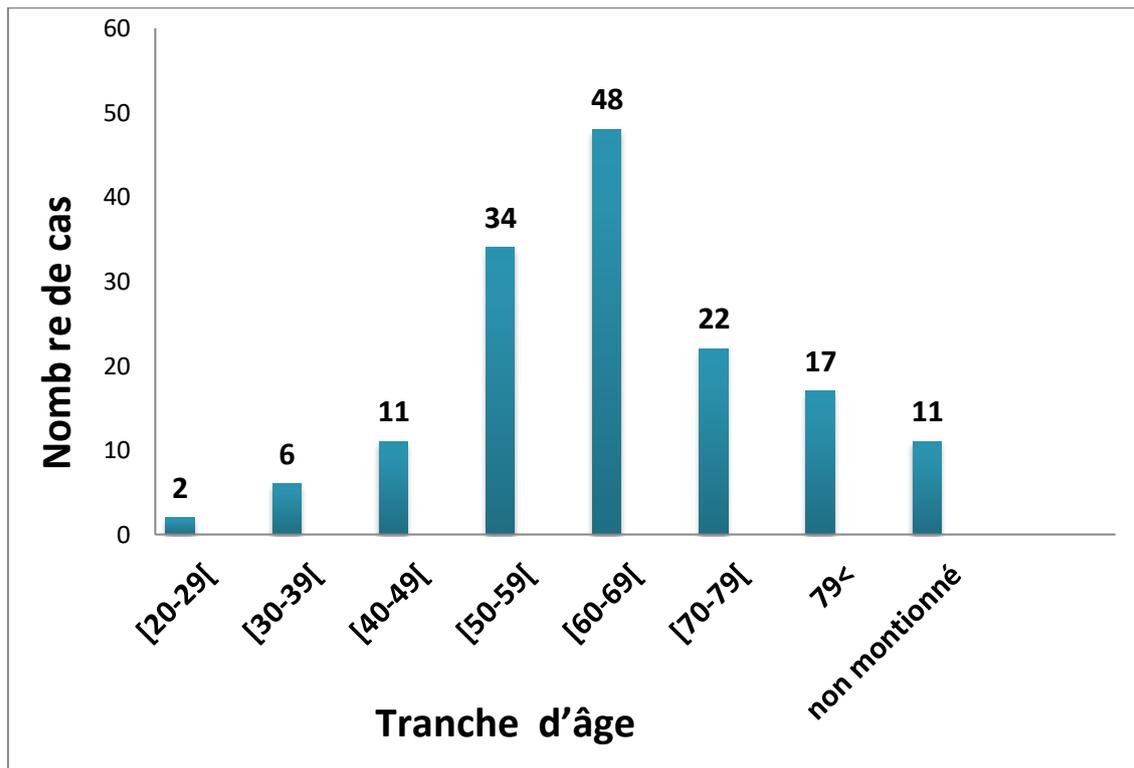


Figure 22: Répartition de cas par tranche d'âge.

Nos résultats concordent avec ceux obtenus par **Diarra [102]**, qui a trouvé que la tranche d'âge la plus touchée varie entre 51 et 60 ans caractérisant ainsi 20.4% des cas dont la moyenne d'âge était de 53.11 ans. Par ailleurs, nos résultats diffèrent de ceux enregistrés par l'étude de **Pan et al [103]** qui a révélé que la majorité des cas soit 74% avait un âge de 50 ans tandis que, seulement 36% des cas étaient âgés de moins de 50 ans. En outre, les résultats obtenus par notre investigation diffèrent de ceux enregistrés par l'étude de **Ben Youness [104]** qui a trouvé que 37% des cas étaient âgés de moins de 50 ans.

D) Répartition de cas selon l'âge par sexe

Selon nos résultats, l'âge moyen des hommes était élevé par rapport à celui des femmes soit 63.08 ± 8.46 ans contre 62.40 ± 7.38 ans. De plus, nos données ont montré que le CCR survient souvent chez le sujet âgé de plus de 60 ans pour les deux sexes. Toutefois, la minorité des cas était enregistrée chez les patients âgés moins de 39 ans, pour les deux sexes (**Figure 23**).

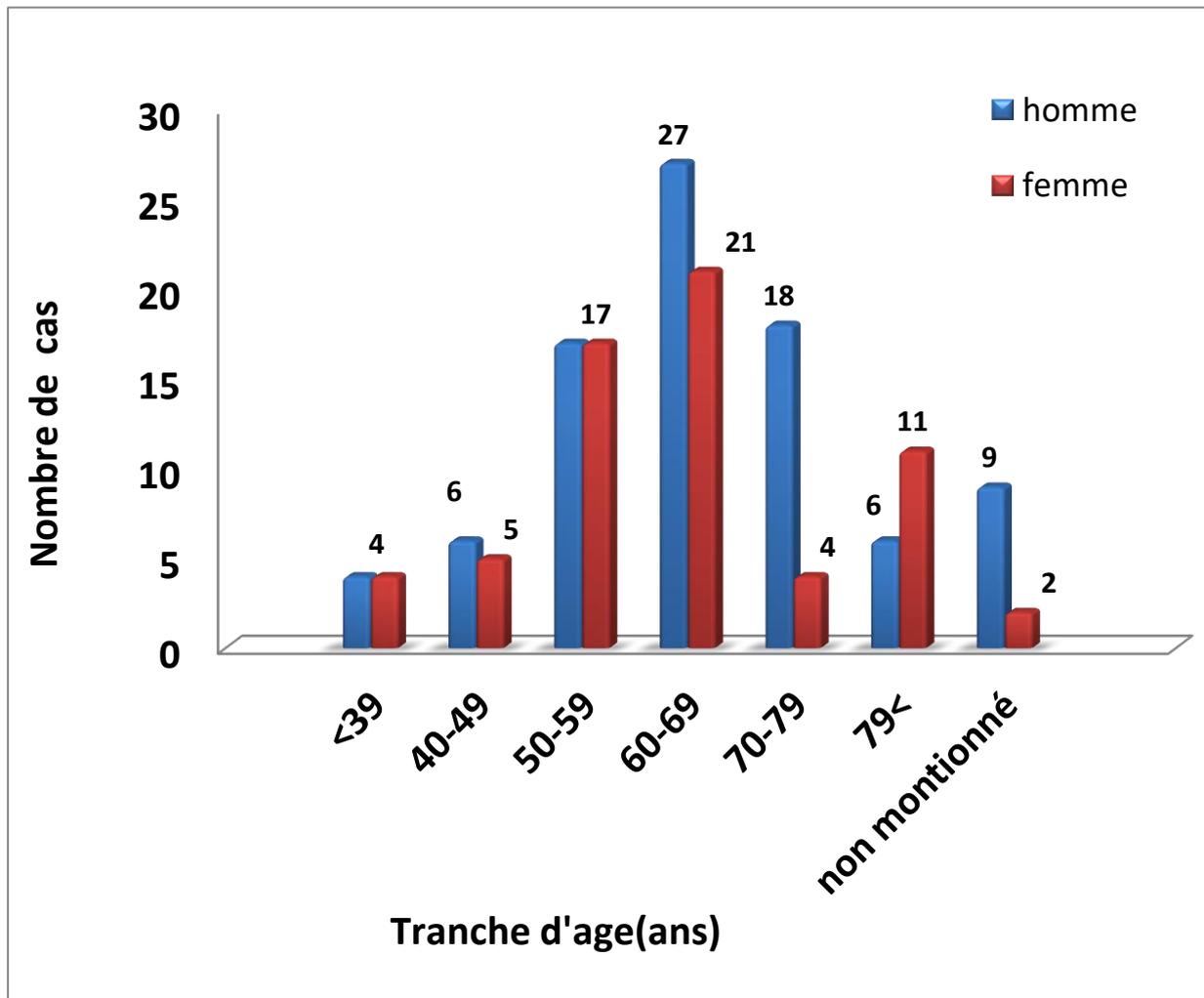


Figure 23: Répartition des patients selon l'âge par sexe.

Nos résultats sont contradictoires à ceux enregistrés par l'étude **Diarra [102]** qui a noté un pic dans la tranche d'âge comprise entre 51 et 60 ans quelque soit le sexe. D'autre part, l'étude réalisée par **Pennison [105]** a révélé une moyenne d'âge de 59.5 ans avec une prédominance féminine soit 55% des cas. Néanmoins, ces résultats doivent être confirmés par des études épidémiologiques plus poussées justifiant ainsi ces constatations.

E) Répartition des cas selon le siège de la tumeur

Dans notre étude portant sur 151 cas de CCR, le siège de la tumeur le plus fréquemment touché était le colon droit caractérisant ainsi 29 % des cas (**Figure 24**).

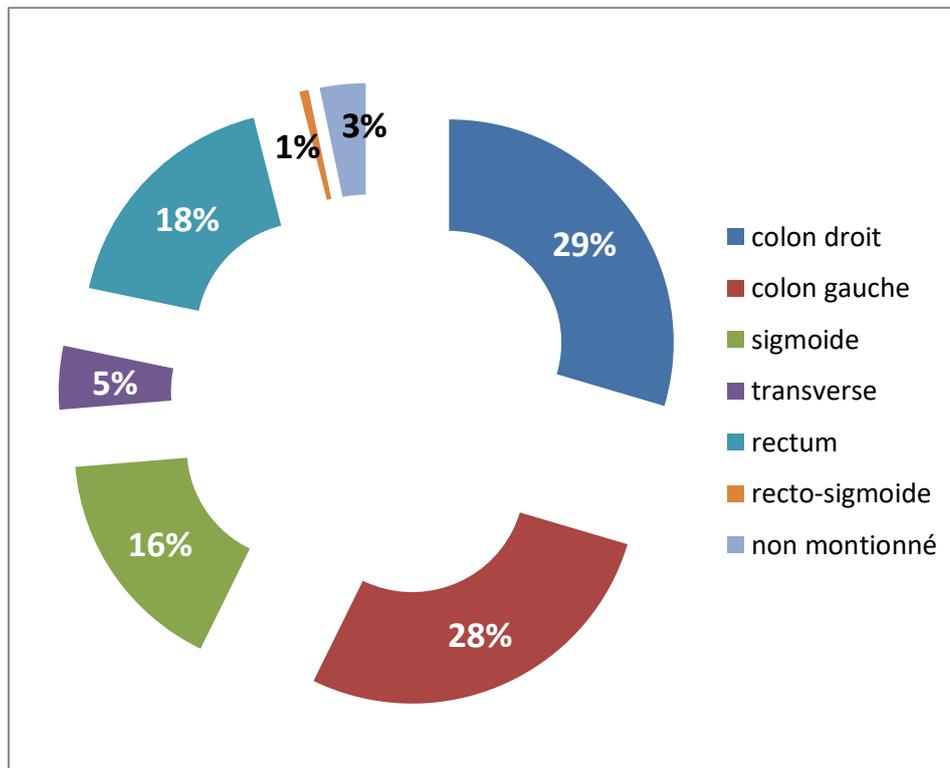


Figure 24 : Répartition des cas selon le siège du CCR.

Nos résultats sont comparables à ceux rapportés par **Kassem et al [99]**, qui ont trouvé que 52.6% des cas présentaient un cancer du côlon droit. En revanche, nos résultats sont contradictoires à ceux obtenus par **Nayak et al [98]** et **Atef et al [106]** qui ont trouvé des pourcentages respectifs de 77% et 53.7% relatifs aux cancers siégeant au colon gauche.

F) Répartition des cas selon le degré de différenciation

Les résultats obtenus par notre étude ont révélé une prédominance de l'adénocarcinome bien différencié chez 84 % des cas par rapport à l'adénocarcinome moyennement différencié noté chez 10 % des cas. Alors que, les CCR moyennement à bien différenciés et peu

différenciés, ont caractérisé 3% et 2% des cas. Enfin, les adénocarcinomes peu différenciés à moyennement différenciés ont été noté chez uniquement 1% des cas (**Figure 25**).

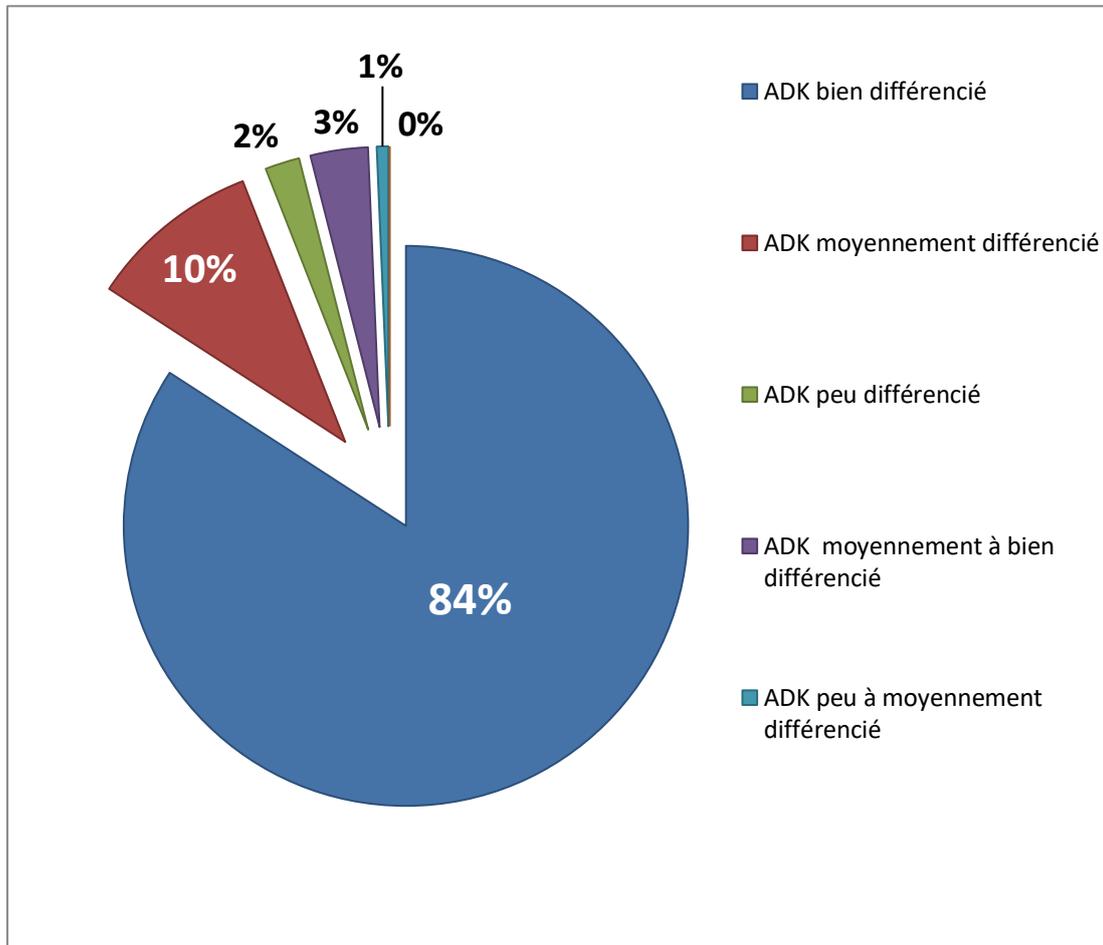


Figure 25 : Répartition des cas selon le degré de différenciation.

Nos résultats sont similaires à ceux rapportés par plusieurs travaux démontrant que l'ADK bien différencié est la variante la plus courante en termes de degré de différenciation. En effet, nos résultats se rapprochent de ceux obtenus par **Bedeuhene et al [107]**, **Belhamidi et al [108]** et **Lalosevic et al [109]** qui ont trouvé que l'ADK bien différencié caractérise respectivement 53.33%, 58.7% et 76% des cas.

G) Répartition des cas selon les stades de différenciation

Nos résultats révèlent que 39% des cas présentaient des tumeurs de stade II (39%) tandis que, 25% des patients avaient des tumeurs de stade III (**figure 26**).

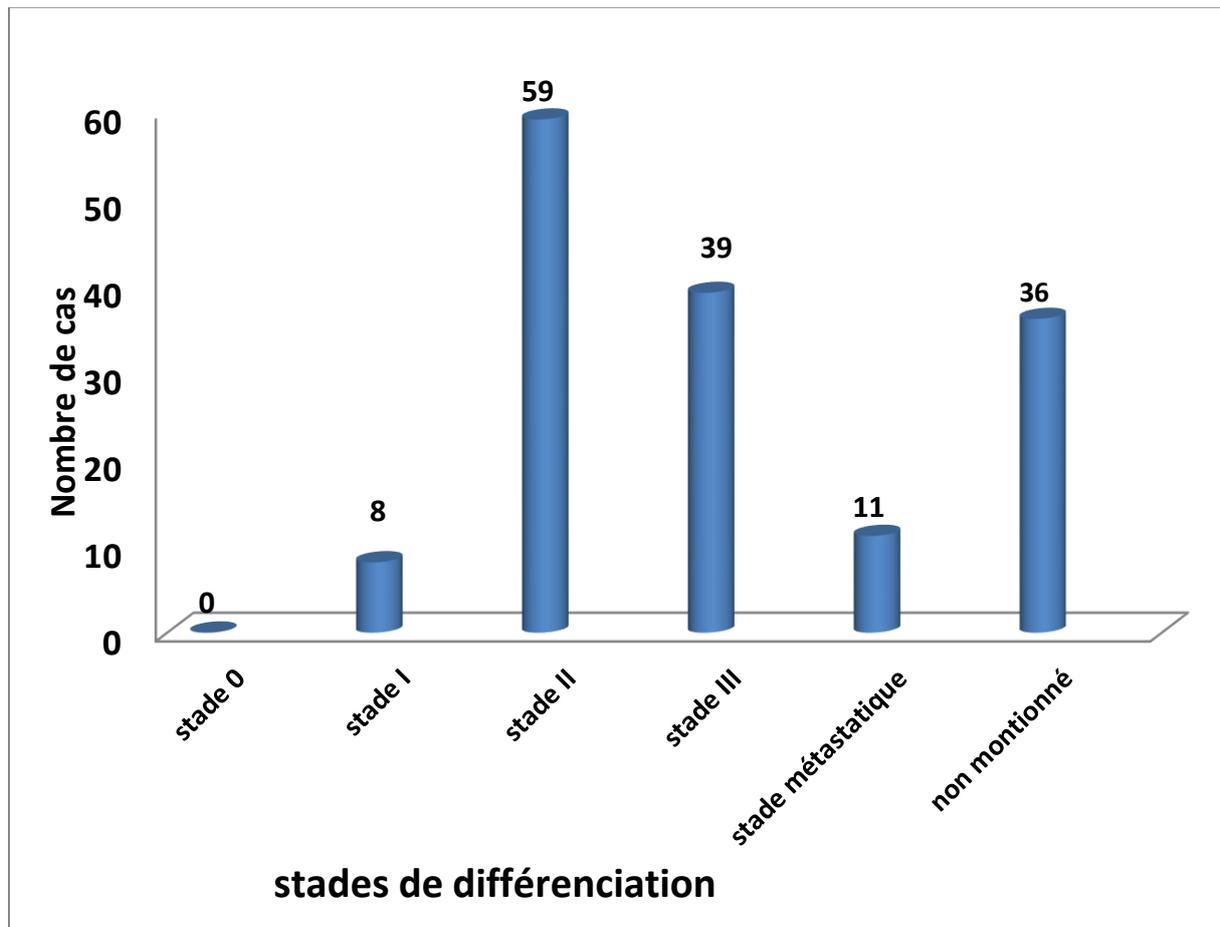


Figure 26: Répartition des cas selon les stades de différenciation.

Nos résultats sont similaires à ceux trouvés par **Atef et al [106]** qui ont noté une prédominance des cas au stade II (48%). En revanche, nos résultats sont contradictoires avec ceux trouvés par **Kassem et al [99]** et **Faury et al [110]** qui ont enregistré respectivement 52.6% et 42.6% de cas au stade III.

H) Répartition des cas selon la classification PTNM

✚ Selon le T-tumeur primitive

Nos résultats montrent que la majorité de nos patients soit 59% présentaient le T3 tandis que, le T2, T4a et le T4b ont caractérisé respectivement 8%, 4% et 24% de l'ensemble des cas (**Figure 27**).

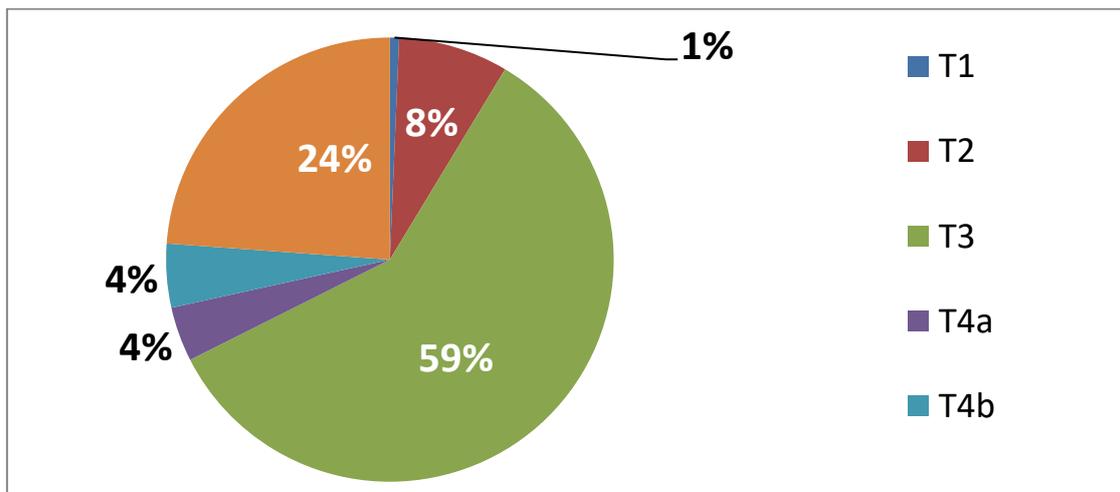


Figure 27: répartition des cas selon le T-tumeur primitive.

Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par **Kikuchi et al [111]** qui ont constaté que la majorité des patients soit 43.3% **des cas** présentait le T3. De plus, nos résultats se rapprochent de ceux de **Nayak et al [98]** qui ont noté que le T3 était trouvé chez 50.9% des cas. En revanche, **Belhamidi et al [108]** ont enregistré une prédominance du T2 chez 61.8% des cas.

✚ Selon le N-ganglions lymphatiques régionaux

Nos données révèlent une prédominance du N0 soit 47% des cas (**Figure 28**).

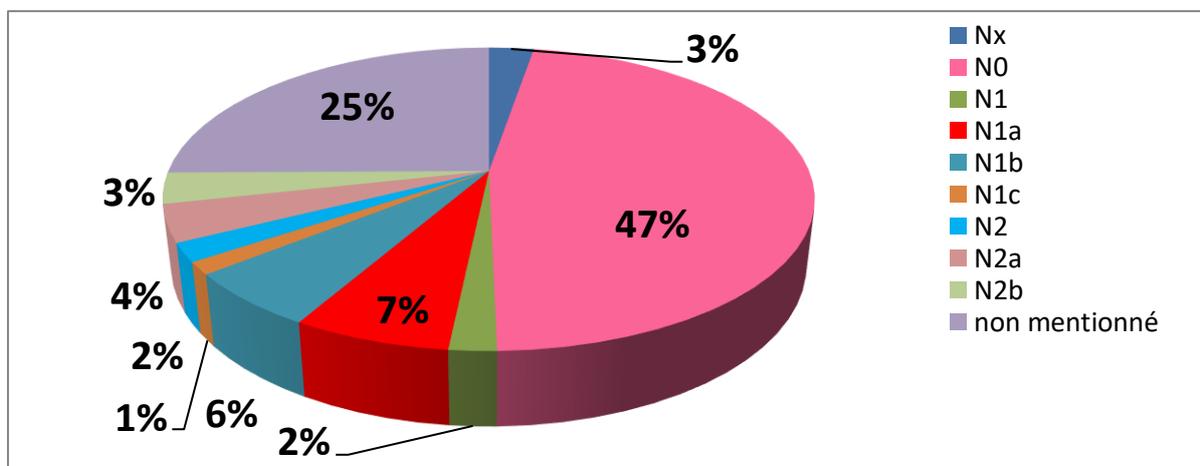


Figure 28: Répartition des cas selon le N-ganglions lymphatiques régionaux.

Nos résultats sont similaires à ceux rapportés par **Kikuchi et al** [111], **Lalosevic et al** [109] et **Nayak et al** [98] qui ont décelé le NO chez respectivement, 52%, 57.5% et 49.8% des cas.

I) Répartition des cas selon le traitement administré

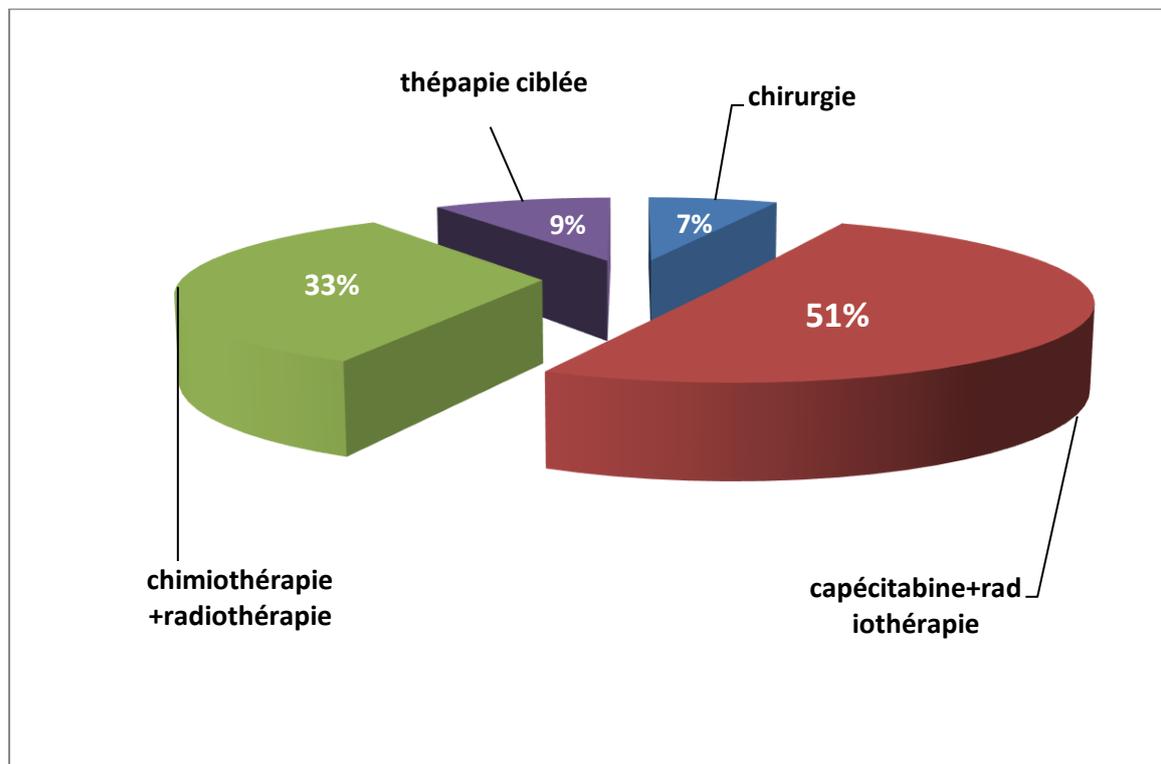


Figure 29 : répartition des cas selon le traitement administré.

Nos résultats ont démontré que la majorité des patients en stade III soit 33% des cas ont reçu à la fois la chimiothérapie et la radiothérapie. De plus, 51% des patients en stade II ont pris le Capécitabine comme agent chimiothérapeutique en association à la radiothérapie. Toutefois, la minorité des cas soit 7% des patients (stade I) ont fait l'objet de chirurgie et 9% des cas présentant un cancer colorectal métastatique ont pu bénéficier d'une thérapie ciblée.

Pour ce qui est des thérapies ciblées et en s'appuyant sur plusieurs travaux à travers le monde, **Cétuximab**, **Panitumumab**, **Encorafénib** et **Binifméтинib** ciblant respectivement le KRAS, le BRAF et le gène MEK sont couramment indiqués pour les cas de cancer colorectal métastatique [112].

J) Fréquence du phénotype MSI

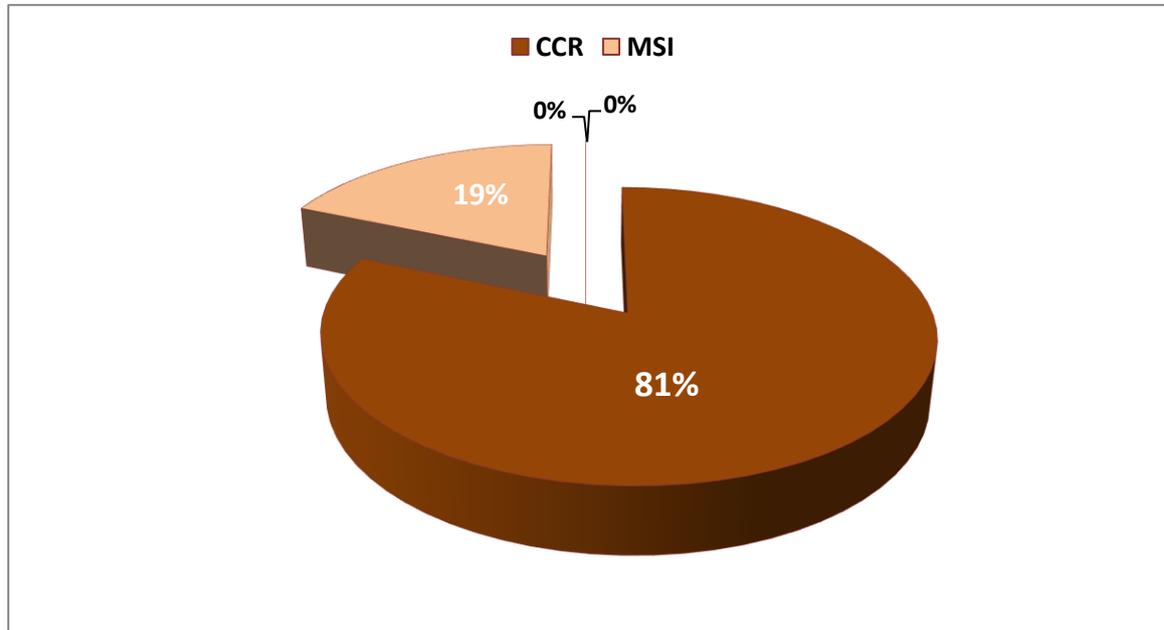


Figure 30: Fréquence du phénotype MSI.

L'analyse anatomopathologique des 151 patients, a permis de déceler la présence de 19% de cas de CCR présentant un phénotype MSI.

Nos résultats diffèrent de ceux enregistrés par l'étude de **Bécouam et al** [113] faite sur 197 patients atteints de CCR qui a noté 34% de cas de CCR avec phénotype MSI.

IV.1.2. Caractéristiques épidémiologiques, cliniques et anatomopathologiques des cas présentant le phénotype MSI

A) Répartition des cas MSI selon l'année de diagnostic

Sur une période de quatre ans, 28 cas MSI ont été diagnostiqués avec un nombre important de 14 cas (50%) au cours de l'année 2020 suivis de 9 cas (32%) pendant l'année 2019 et 3 cas (10.7%) en 2021. Enfin, on dénombre seulement 2 cas (7 %) en 2018. La moyenne d'incidence de cas avec phénotype MSI a été égale à 7 cas (**Tableau 5**).

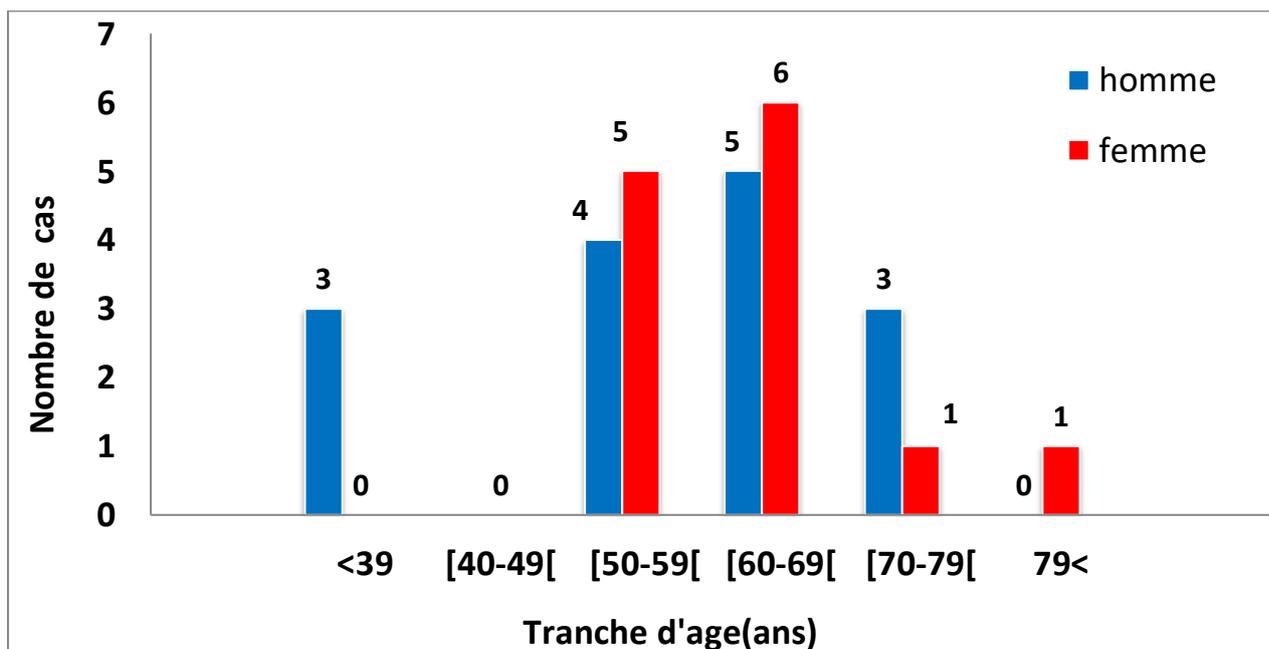
Tableau 5: Répartition des cas MSI selon l'année de diagnostic.

Année	2018	2019	2020	Avril 2021
Nombre de Cas MSI	2	9	14	3

Nos résultats sont contradictoires à ceux obtenus par l'étude **McCabe et al [97]** menée sur 61 cas de CCR avec phénotype MSI durant la période entre 2011 et 2015, qui a révélé que le moyenne d'incidence était de 24.98 cas.

B) Répartition des cas MSI selon l'âge par sexe

Toutefois, la minorité des cas MSI était enregistrée chez les patients âgés entre 70 et 79 ans, pour les deux sexes. Pour la tranche d'âge de moins de 39 ans, seuls les hommes ont été enregistrés contrairement aux femmes qui ont été enregistrées uniquement dans la tranche d'âge moins de 79 ans (**Figure 31**).

**Figure 31:** Répartition des cas MSI selon l'âge par sexe.

Selon nos résultats, l'âge moyen des femmes était plus élevé par rapport à celui des hommes soit 62.96 ± 2.62 ans contre 56.52 ± 0.95 ans. De plus, nos données ont montré que le phénotype MSI caractérise souvent le sujet âgé de plus de 50 ans pour les deux sexes.

Nos résultats se rapprochent de ceux trouvés par **Micelli Lupinacci [114]** qui ont enregistré une moyenne d'âge de 69.94 ans. Par contre, l'étude réalisée par **McCabe et al [97]** a révélée une moyenne d'âge différente de celle obtenue par notre étude soit 51 ans.

C) Répartition des cas MSI selon la localisation de la tumeur

Notre étude portant sur 28 cas de cancer colorectal avec phénotype MSI nous révèle que la majorité des patients soit 64.2% des cas avait un cancer touchant principalement le colon droit et gauche (**Figure 32**).

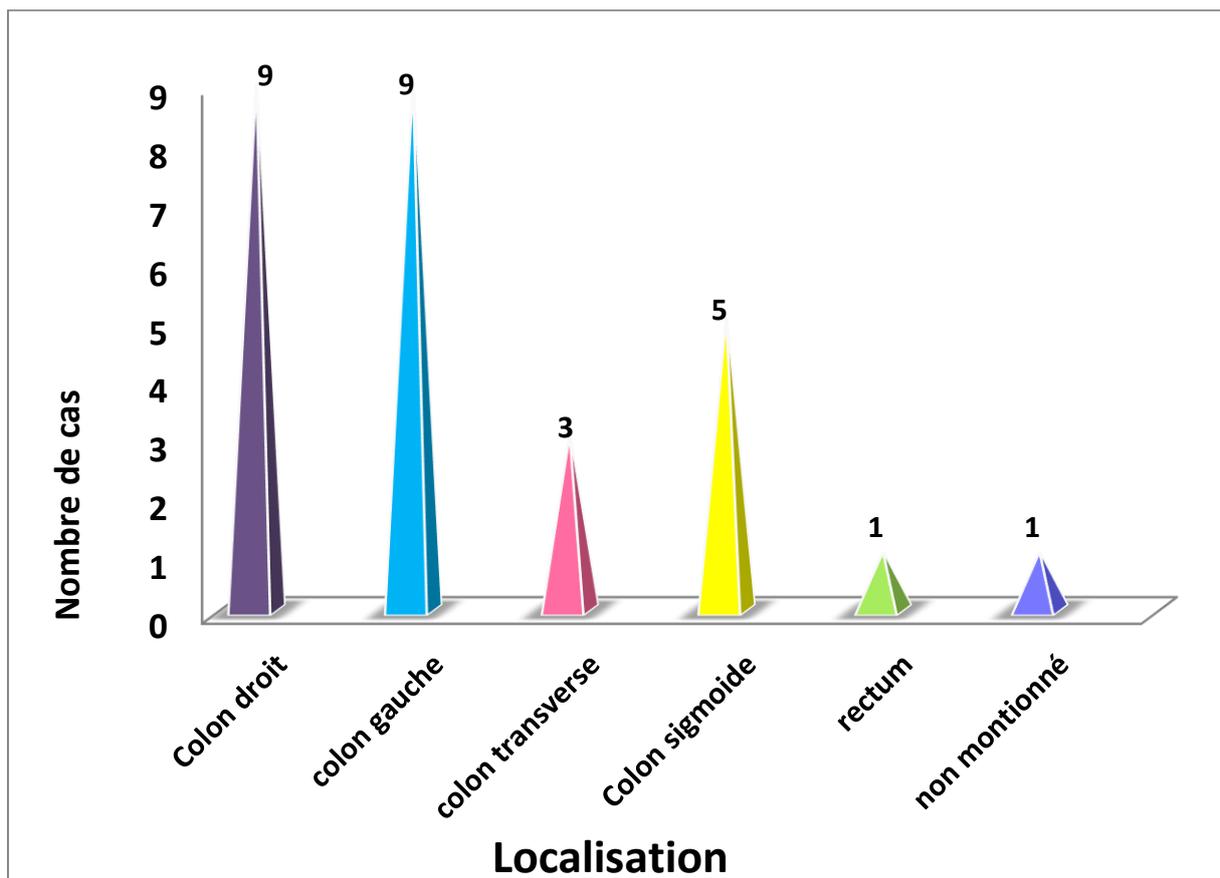


Figure 32: Répartition des cas MSI selon la localisation de la tumeur.

Nos résultats diffèrent de ceux trouvés par **Cohen et al [125]** et **Atef et al. [106]**, qui ont noté une prédominance du colon droit respectivement chez 50% et 73% des cas.

D) Répartition des cas MSI selon le degré de différenciation

Nos résultats ont montré une prédominance de l'adénocarcinome bien différencié chez 75.86 % des cas MSI par rapport à l'adénocarcinome moyennement différencié noté chez 17.85 % des cas. Alors que, seulement 3.44% des cas MSI avaient des adénocarcinomes moyennement à bien différenciés. (**Figure 33**).

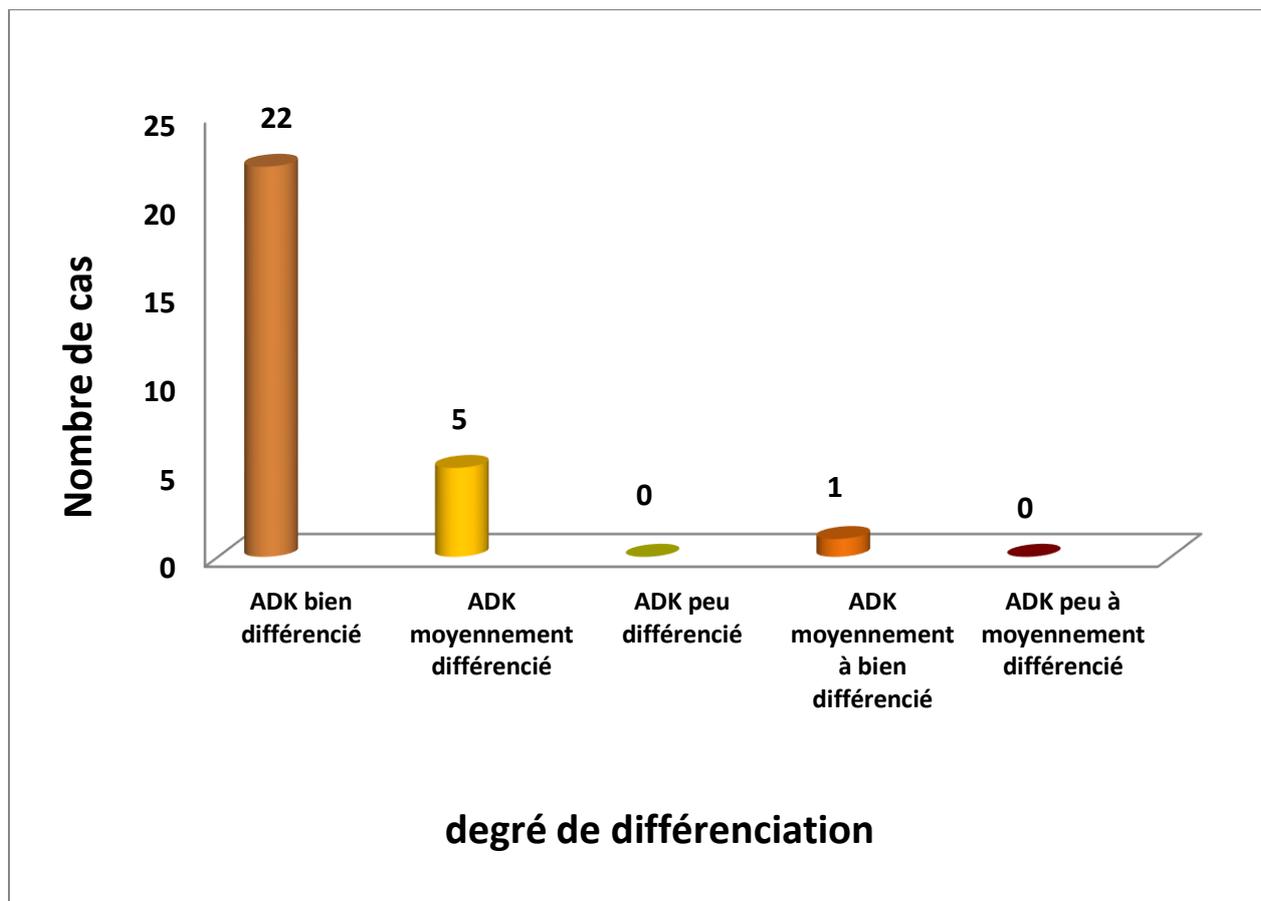


Figure 33: Répartition des cas MSI selon le degré de différenciation.

E) Répartition des cas MSI selon le stade de différenciation

Nos résultats révèlent que le stade II était le plus fréquemment noté caractérisant ainsi 57.1% des cas tandis que, les stades III et I ont été enregistrés respectivement chez 21.4% et 7.1% des cas (**Figure 34**).

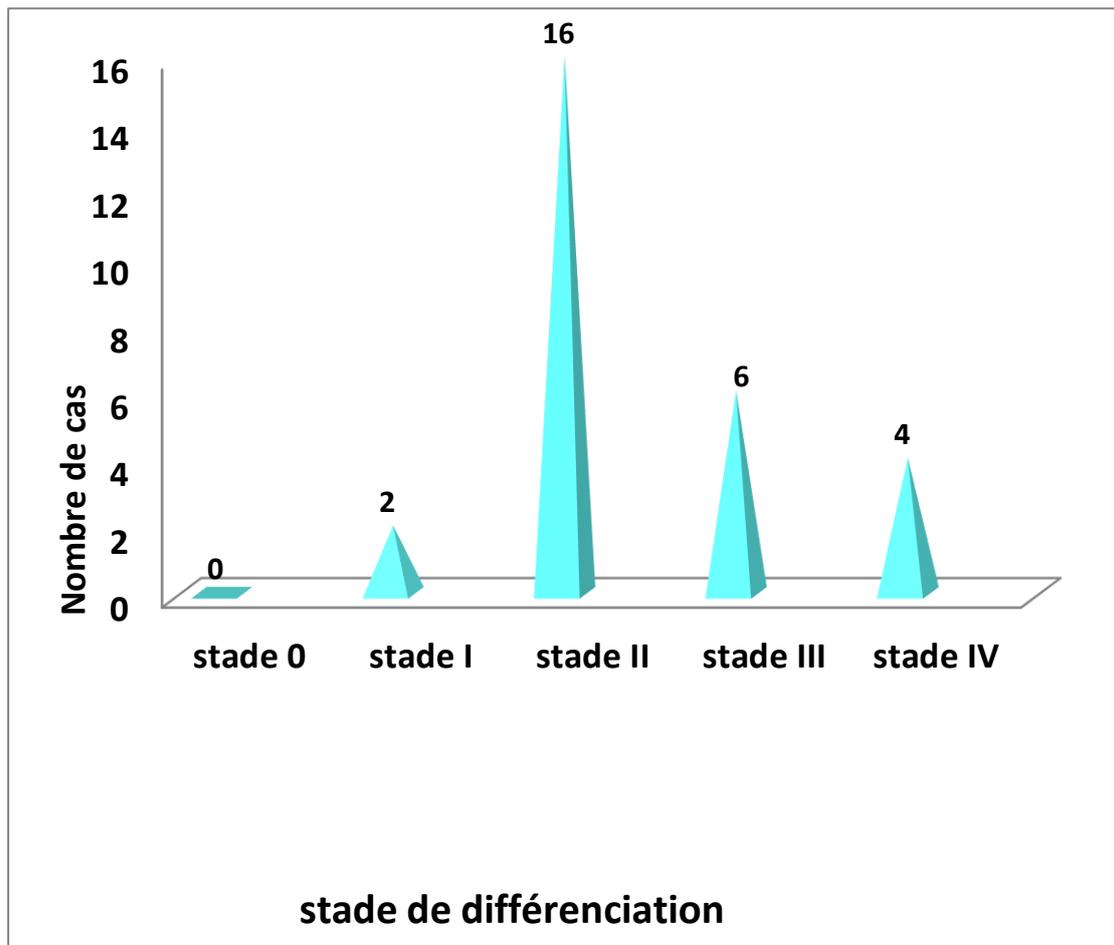


Figure 34: Répartition des cas MSI selon le stade de différenciation.

Nos résultats sont contradictoires à ceux trouvés par **Cohen et al [116]** qui ont trouvé que la majorité des patients soit 47% des cas présentaient des cancers de stade IV tandis que, les stades III et II ont été noté respectivement chez 36% et 18% des cas. Par ailleurs, nos résultats se rapprochent de ceux obtenus par **Cohen et al [115]** qui ont noté une prédominance du stade II qui a caractérisé 51.4% des cas.

F) Répartition des cas MSI selon la classification PTNM

🚦 Selon le T-tumeur primitive

Selon nos résultats, la majorité des patients soit 75% des cas avaient le pT3 tandis que,

Seulement 11% des cas avaient le pT4 (**Figure 35**).

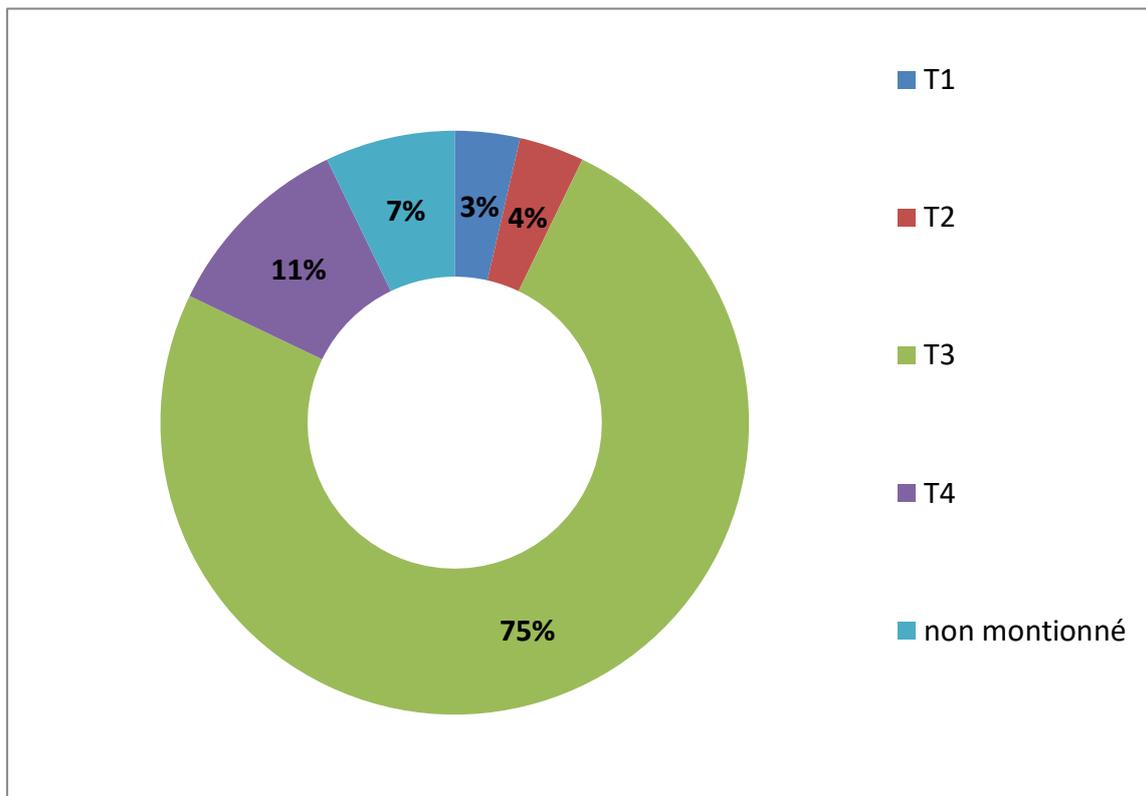


Figure 35: Répartition des cas MSI selon le T-tumeur primitive.

Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par **Kassem et al [99]** qui ont noté une prédominance de T3 chez 90.90% des cas tandis que, seulement 9.09% des cas avaient le T4.

✚ Selon le N-ganglions lymphatiques régionaux

Selon les résultats de notre étude, le N0 a été principalement noté chez 75% des cas. Alors que, N2 et le N1 ont caractérisé respectivement 14% et 4% des cas (**Figure 36**).

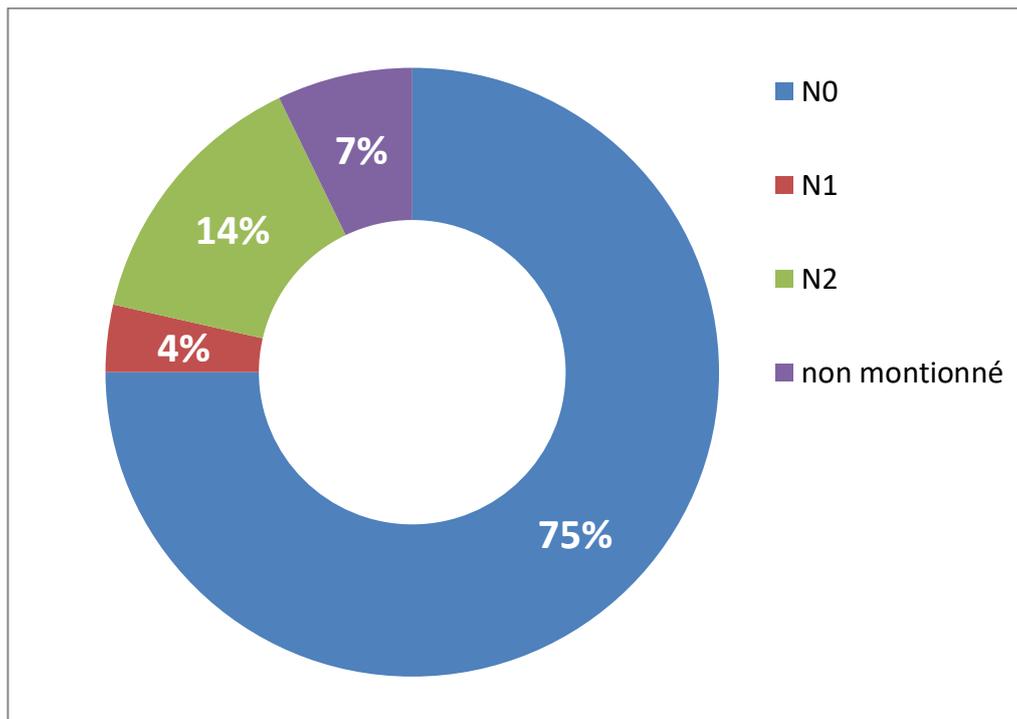


Figure 36: Répartition des cas MSI selon le N-ganglions lymphatiques régionaux.

Nos résultats se rapprochent de ceux obtenus par **Kassem et al [99]** qui ont trouvé une prédominance des patients présentant le N0 soit 54% cas par rapport à 36.36% et 9% des cas présentant respectivement le N1 et le N2.

G) Répartition des cas MSI selon l'expression et la répression des biomarqueurs

Les résultats de notre étude révèlent que les protéines MSH6, MSH2, PMS2 et MSH2/MSH6 étaient surexprimés chez respectivement 89.28% ,82.14% et 75% des cas. Alors que, MLH1 et MLH1/PMS2 étaient faiblement exprimées respectivement chez 57.14% et 60.71% des cas. Enfin, 28.57% des cas avaient une MLH1 la plus réprimée, tandis que, la MSH6 était la moins réprimée chez seulement 7.14% des cas (**Figure 37**).

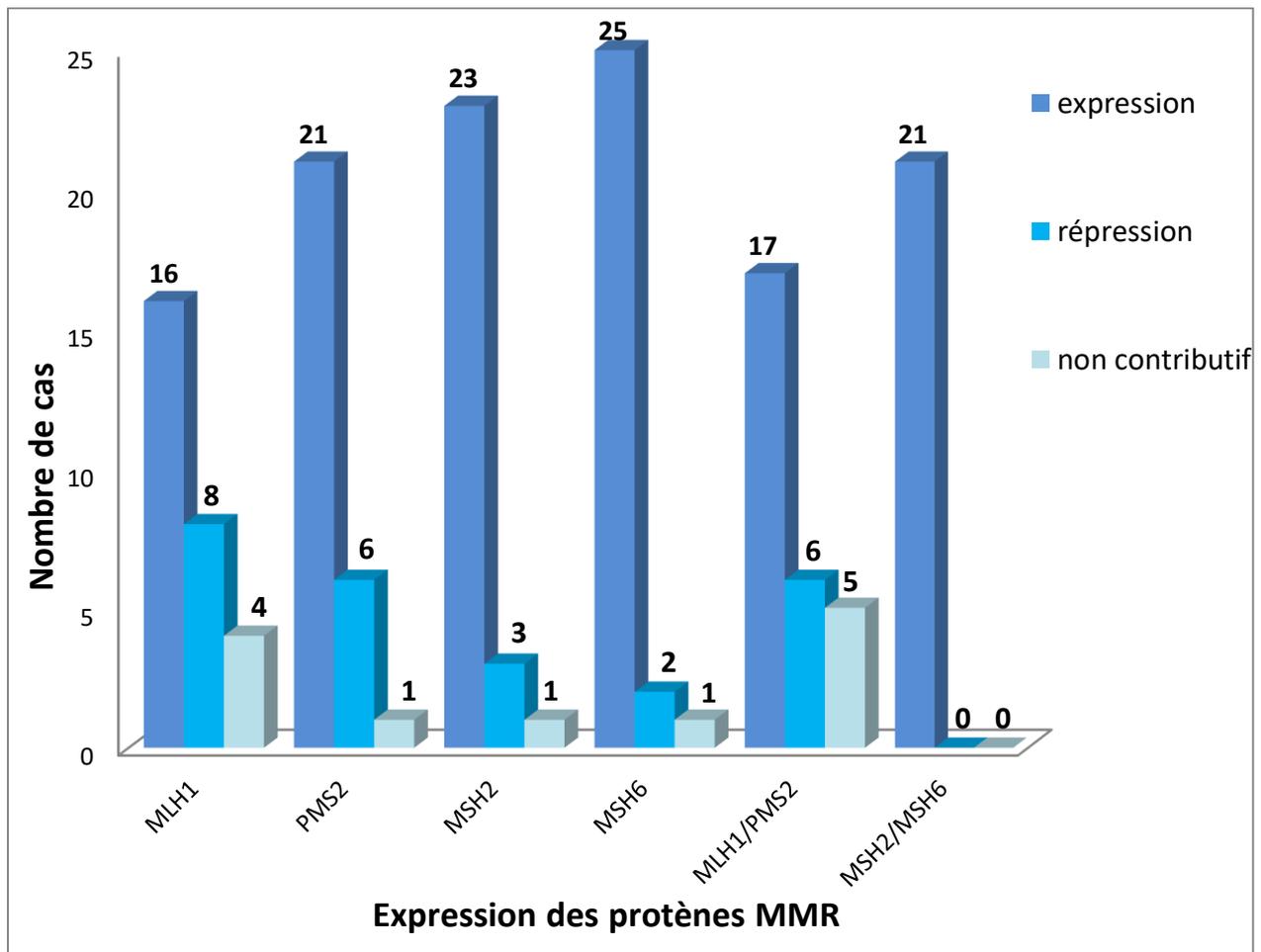


Figure 37: répartition des cas MSI selon l'expression des protéines MMR.

Nos résultats sont contradictoires à ceux obtenus par **Nayak et al [98]** qui ont noté que la majorité des cas soit 92.2 % expriment la protéine MSH2. Toutefois, une répression de la protéine PMS2 a été uniquement enregistrée chez 15.6% des cas. Enfin, similairement à nos résultats, une répression de MLH1/PMS2 et MSH2/MSH6 a été notée par cette même étude respectivement, chez 13.9% et 7.4% des cas.

H) Traitement de CCR phénotype MSI

Pour ce qui est du traitement, 57.14% des cas avec phénotype MSI ont reçu le FOLFOX ou bien FOLFIRI comme agent chimiothérapeutique (**figure 38**).

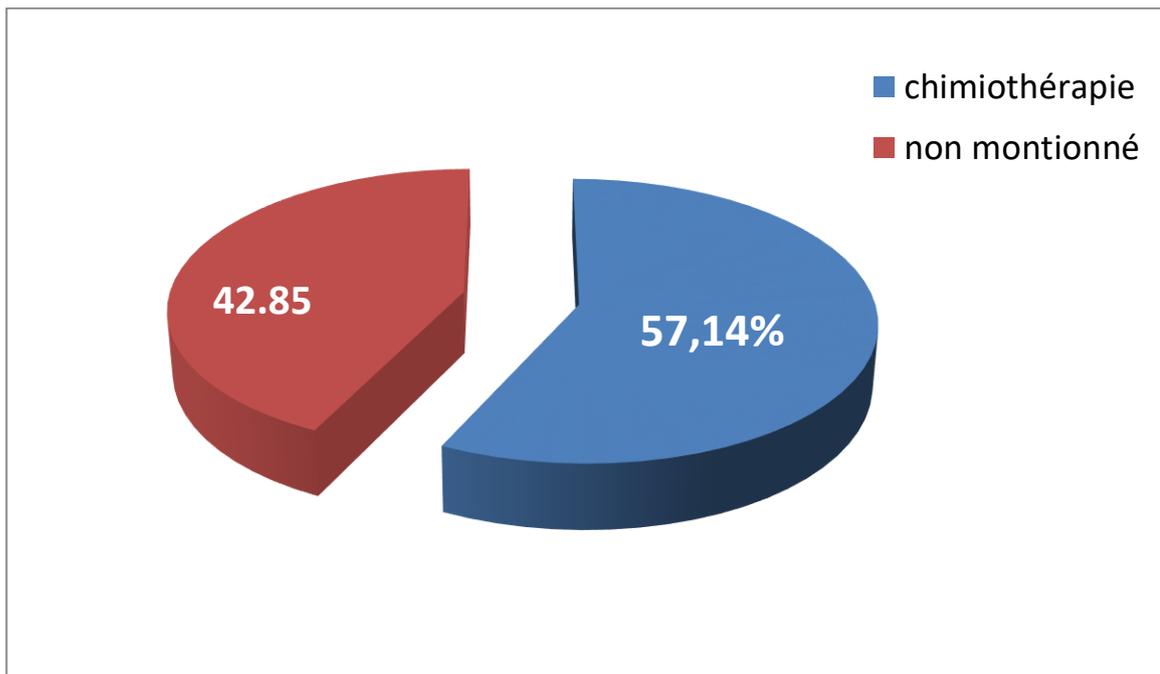


Figure 38 : Répartition des cas selon le traitement administré.

IV.2.Résultats anatomopathologiques

Les résultats d'observation des coupes histologiques et du marquage immunohistochimique réalisés sur les 28 cas de MSI sont présentés sous forme de micrographies et de tableaux.

IV.2.1.Résultats histologiques

Les fragments biopsiques montrent à l'examen microscopique une architecture glandulaire (plus de 85% de la surface tumorale). Les glandes sont tapissées par un épithélium pseudo à pluri stratifiée. Les cellules tumorales sont faite de noyau augmenter de taille fortement nucléole atypique par fois hyper chromatique avec la préséance de mitose atypique.

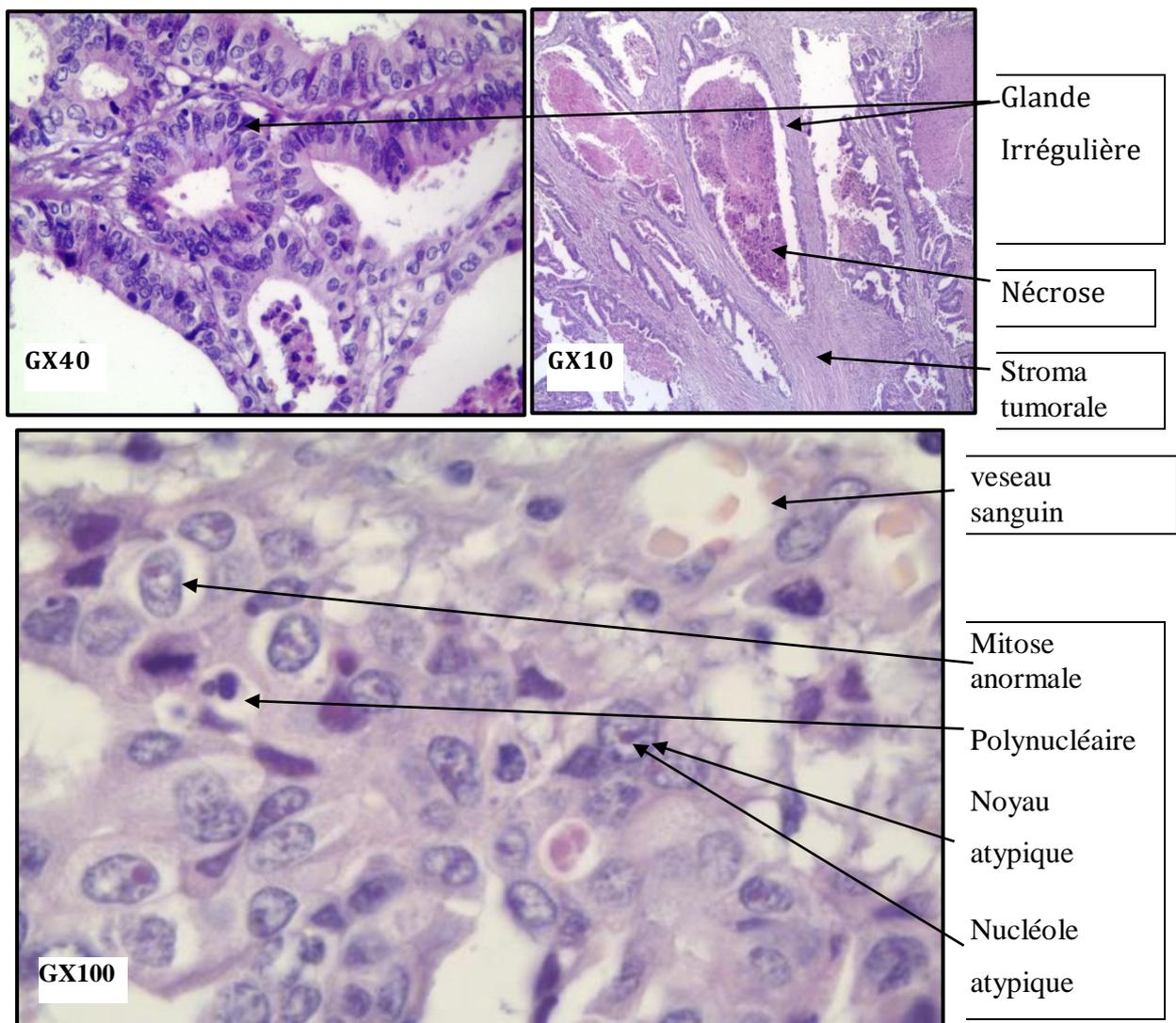


Figure 39 : photomicrographie d'un adénocarcinome colique bien différencié.

IV.2.2. Résultats immunohistochimiques

Cette étude a été réalisée prospectivement sur 28 cas atteints de CCR avec statut MSI en utilisant quatre marqueurs tumoraux, MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2 pour améliorer la précision diagnostic des tumeurs colorectales et voire la différence de l'intensité de marquage entre le témoin et la tumeur.

La muqueuse colique normale est utilisée comme témoin : présence d'un marquage nucléaire intense et diffus nucléaire des anticorps anti MLH1, PMS2, MSH2 et MSH6 au niveau de la muqueuse colique.

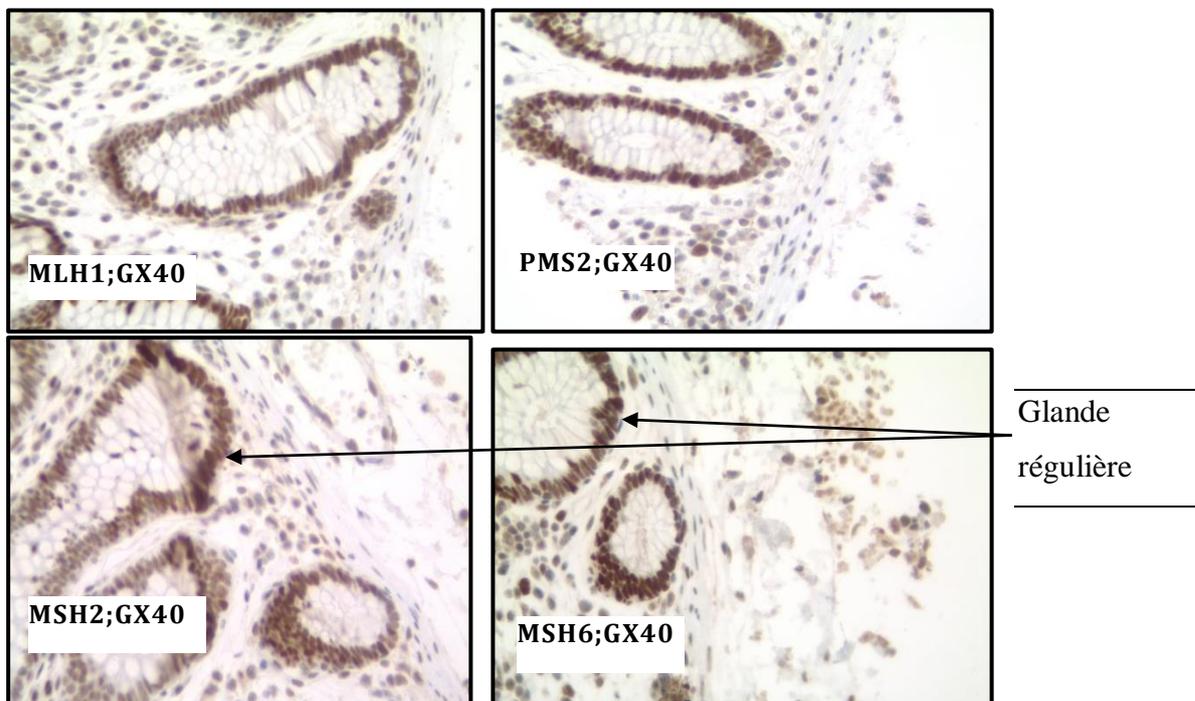


Figure 40 : photomicrographie d'un marquage immunohistochimique par anti MLH1, anti Msh6, anti PMS2 et anti MSH2 de la muqueuse colique normale (témoin).

- Les résultats sont illustrés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 6 : Résultats de marquage immunohistochimique avec MLH1, PMS2, MSH2 et MSH6.

Résultat de marquage Nombre de cas	MLH1	PMS2	MSH2	MSH6
1	Négatif	Positif	Négatif	Positif
2	Non contributif	Positif	Négatif	Négatif
3	Positif	Positif	Positif	Positif
4	Positif	Positif	Positif	Positif
5	Non contributif	Non contributif	Non contributif	Non contributif
6	Positif	Positif	Positif	Positif
7	Positif	Positif	Positif	Positif
8	Positif	Positif	Positif	Positif
9	Positif	Positif	Positif	Positif
10	Négatif	Négatif	Positif	Positif
11	Négatif	Négatif	Positif	Positif
12	Positif	Positif	Positif	Positif
13	Positif	Positif	Positif	Positif
14	Positif	Positif	Positif	Positif
15	Positif	Positif	Positif	Positif
16	Positif	Positif	Positif	Positif
17	Positif	Positif	Positif	Positif
18	Non contributif	Positif	Positif	Positif
19	Positif	Positif	Positif	Positif
20	Négatif	Négatif	Positif	Positif
21	Négatif	Négatif	Négatif	Positif

22	Positif	Positif	Positif	Positif
23	Négatif	Négatif	Positif	Positif
24	Positif	Positif	Positif	Positif
25	Négatif	Positif	Positif	Positif
26	Non contributif	Positif	Positif	Positif
27	Positif	Positif	Positif	Positif
28	Négatif	Négatif	Positif	Positif

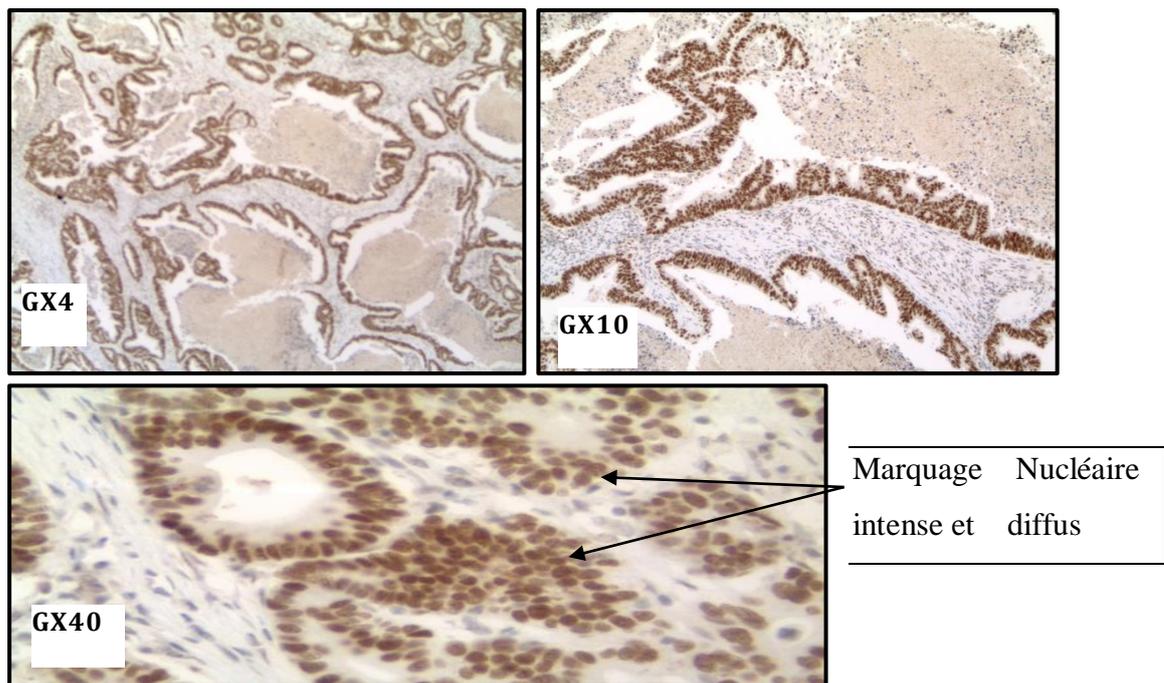


Figure 41 : immunomarquage positif de MSH2 dans un cas de CCR de phénotype MSI, marquage nucléaire intense diffus de toutes les cellules tumorales

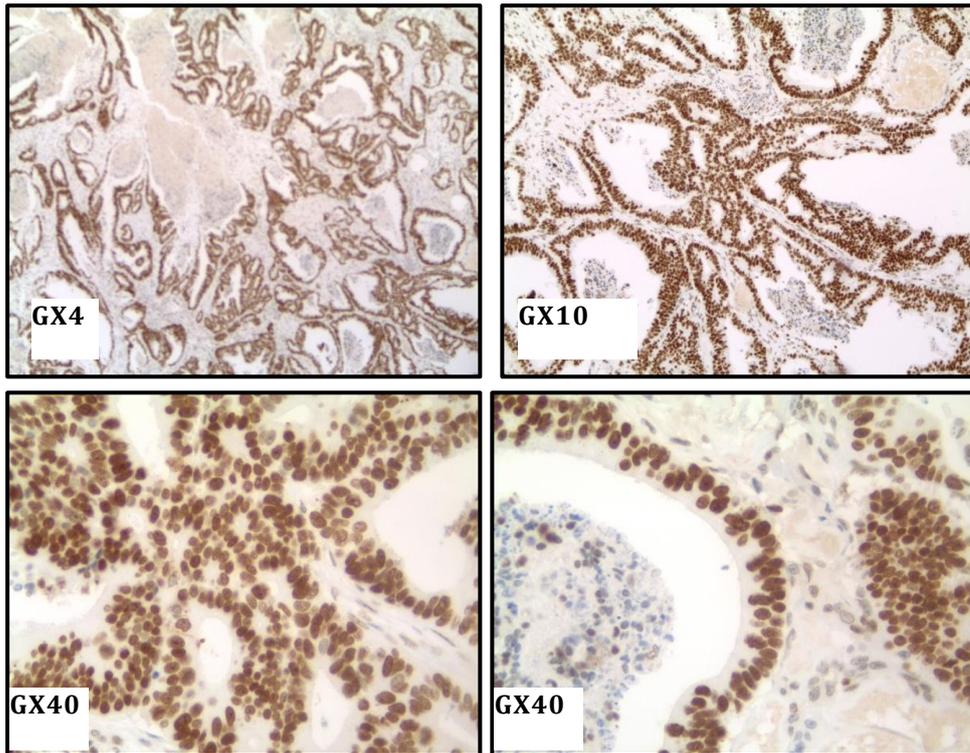


Figure 42 : immunomarquage positif de MSH6 dans un cas CCR de statut MSI, marquage nucléaire intense et diffus de toutes les cellules tumorales

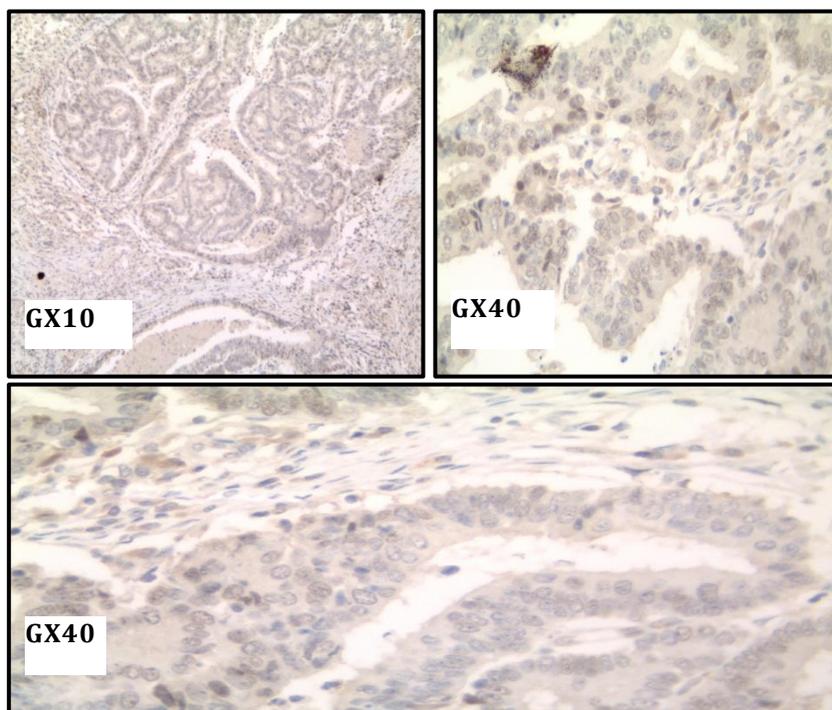


Figure 43 : immunomarquage négatif de MLH1 dans un cas MSI de CCR, absence d'expression des cellules tumorales.

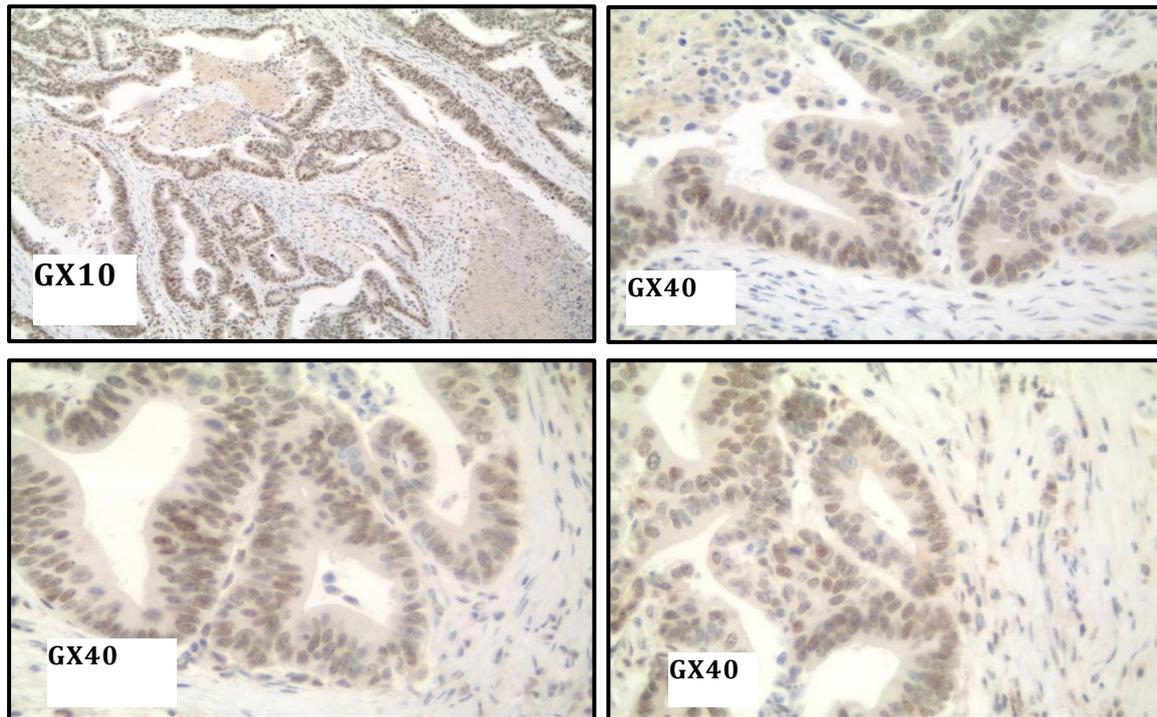


Figure 44: immunomarquage négatif de PMS2 dans un cas MSI de CCR, absence d'expression des cellules tumorales.

Présence d'instabilité des microsatellites (L'absence d'expression de MLH1 et PMS2)



Conclusion



Conclusion

Au terme de notre étude, il en ressort que les cancers colorectaux sont fréquemment diagnostiqués au sein du service d'anatomie pathologique du CHU de Beni Messous. Notre étude a permis de recenser 151 cas de cancers colorectaux diagnostiqués à la fois histologiquement et immunohistochimiquement. De plus, ce travail nous a permis de maîtriser les différentes techniques histologiques et immunohistochimiques, et de répertorier microscopiquement les différents types histologiques des cancers colorectaux.

A travers ce travail, on a pu également mettre en évidence certaines particularités épidémiologiques, cliniques et anatomopathologiques du cancer colorectal.

Notre investigation a révélé que ce type de cancers est prédominant chez les hommes soit 58% des cas. En outre, notre étude a montré que la tranche d'âge la plus touchée était comprise entre 50 et 70 ans. Par ailleurs, on a pu constater que le cancer colorectal touche principalement le colon droit caractérisant ainsi 29% de nos cas.

Du point de vue histologique, l'adénocarcinome colique bien différencié était le plus fréquemment enregistré chez 84% des cas.

L'analyse immunohistochimique qui est largement utilisée pour la détermination du statut MSI du cancer colorectal, nous a permis de déceler la présence de **19%** de cas de CCR présentant un phénotype MSI.

La détermination de ce dernier, s'avère donc une étape très utile dans la prise en charge personnalisée des patients atteints de cancer colorectal. Le phénotype MSI des tumeurs coliques est considéré comme étant un marqueur moléculaire pronostique et semble prédire l'absence d'efficacité de la chimiothérapie adjuvante par 5-FU seul permettant ainsi d'adopter des thérapies plus efficaces et moins toxiques adaptées à chaque patient.

L'une des limites de notre travail était la courte durée de l'étude, ainsi que l'insuffisance des données cliniques, épidémiologiques et thérapeutiques sur les patients. Sur ce, s'il y aurait une continuité à ce travail, il serait très intéressant d'élargir notre étude aux autres CHU et de travailler sur un échantillon plus important, pour une bonne estimation de la fréquence du phénotype MSI chez les patients atteints de cancer colorectal. De plus, il serait souhaitable, d'investiguer l'expression de marqueurs plus récents et de comparer leur spécificité et fiabilité par rapport aux biomarqueurs actuels. Enfin, il serait très remarquable, d'utiliser d'autres

Conclusion

techniques de biologie moléculaire en l'occurrence, la PCR et les techniques de séquençage, en vue d'identifier de nouveaux marqueurs d'instabilité microsatellitaire chez les patients atteints de cancer colorectal.

Références bibliographiques

- [1] Fawzi, M., Taifi, A., & Lawi, Z. K. K. Somatostatin (Sst) Promoter Hypermethylation In Association With Colorectal Cancer. *Periódico Tchê Química*, 17(36), 1075-1082.
- [2] Mourad, A., Amine, M. M., Yousri, B., Mourad, B., Zakia, K., & Abdelhalim, H. (2017). Intérêt de la radiothérapie hypo-fractionnée dans la prise en charge des adénocarcinomes du rectum localement avancés. *Batna Journal of Medica Sciences*, 4(2), 159-162.
- [3] Imad, F. ., EDrissi, H., Tawfiq, N., Bendahhou, K., Jouti, N. T., Benider, A., & Radallah, D. (2019). Aspects épidémiologiques, nutritionnels et anatomopathologiques des cancers colorectaux dans la région du grand Casablanca. *The Pan African Medical Journal*, 32(5),10.
- [4] Colle, R., & Cohen, R. (2019). Épidémiologie des tumeurs MSI: fréquence des tumeurs MSI en fonction de la localisation du cancer et de son stade. *Bulletin Du Cancer*, 106(2), 114-118.
- [5] Laurenty, A. P., Selves, J., & Guimbaud, R. (2015). Biomarqueurs des cancers colorectaux utiles en pratique clinique. *Hépatogastro & Oncologie Digestive*, 22(3), 217-227.
- [6] Zaanan, A., & Taïeb, J. (2011). Phénotype MSI et cancer colorectal opérable: clarifions les choses. *Lett Cancerol*, 198-202.
- [7] Abes, F., Adjaouti, Z., & Belaidi, M. (2015). *Etude rétrospective et prospective du cancer colorectal en général et de la thérapie ciblée impliquée dans son traitement en particulier* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- [8] Aichouna, W., Boussebaine, S., & Rechreche, H. E. (2019). *Etude clinico-biologique et évaluation de marqueurs tumoraux des cancers colorectaux dans la Wilaya de Jijel* (Doctoral dissertation, Université de Jijel).
- [9] Chimbo, S., & Medjkouh, H. (2017). *Etude Epedemiologique Du Cancer Colorectal Dans La Wilaya De Bouira Et Recherche De Quelques Facteurs De Risques* (Doctoral Dissertation, Université De Bouira).
- [10] Sedkaoui, C. (2015). *Chimiothérapie Et Thérapie Ciblée Dans Le Canser Colorectal Métastatique* (Doctoral Dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- [11] Ferlay, J., Soerjomataram, I., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M., ... & Bray, F. (2015). Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International journal of cancer*, 136(5), E359-E386.
- [12] Wild, C. (2014).). C. P. Wild, & B. W. Stewart (Eds.). Geneva, Switzerland: World Health Organization. *World cancer report 2014* (pp. 482-494).
- [13] Mazri, C., Chimbo, S., & Medjkouh, H. (2020). Etude epidemiologique du cancer colorectal, dans la wilaya de bouira en algerie et l'influence de l'alimentation. *Algerian Journal of Environmental Science and Technology*, 6(4), 1551-1557.
- [14] Ribarov, R. S. (2020). Obesity And Malnutrition–Risk Factors In Pr Edagnostic And Later Phases Of Colorectal Cancer. *Archives of the Balkan Medical Union*, 55 (4), pp. 661-666.
- [15] Ibrahim, A., & El Abkari, M.(2017) . Cancer Colorectal: Dépistage Et Prévention. *Revue de Médecine Générale et de Famille* (4), 240-243.

Références bibliographiques

- [16] Heike, F., Juergen, M., von Landenberg Philipp, V. E. A., Brigitte, W., Tiziano, B., Daniela, B., ... & Andreas, H. (2012). *Detail-Forum Médical Suiss*, 17(44), 943-952.
- [17] Rim, C. H., Kim, C. Y., Yang, D. S., & Yoon, W. S. (2019). Clinical significance of gender and body mass index in asian patients with colorectal cancer. *Journal of Cancer*, 10(3), 682.
- [18] Lugli, A., & Cathomas, G. Tumor Budding dans le carcinome colorectal: une vedette sur le banc des remplaçants?. *HIGHLIGHTS 2011 :PATHOLOGIE*, 12(3), 54-55.
- [19] Chermette, M. (2019). *Évaluation oncogériatrique: optimisation de la prise en charge du cancer colorectal du patient âgé.* (Doctoral Dissertation, Université d'Aix-Marseille).
- [20] Ran, Z., Chen, W., Shang, J., Li, X., Nie, Z., Yang, J., & Li, N. (2019). Clinicopathological And Prognostic Implications Of Polo-Like Kinase 1 Expression In Colorectal Cancer: A Systematic Review And Meta-Analysis. *Gene*, 721, 144097.
- [21] Yi, L., Zhong, X., Chen, Z., Wang, Q., Yan, Y., Wang, J., & Deng, X. (2019). MicroRNA-147b promotes proliferation and invasion of human colorectal cancer by targeting RAS oncogene family (RAP2B). *Pathobiology*, 86(4), 173-181.
- [22] Nguyen, H. T., & Duong, H. Q. (2018). The molecular characteristics of colorectal cancer: Implications for diagnosis and therapy. *Oncology letters*, 16(1), 9-18.
- [23] Vilar, E., & Gruber, S. B. (2010). Microsatellite instability in colorectal cancer—the stable evidence. *Nature reviews Clinical oncology*, 7(3), 153.
- [24] Renaud-Monsarrat, F. (2015). *Vers une meilleure compréhension des tumeurs colorectales de la voie festonnée: intérêt des gènes de mucines* (Doctoral dissertation, Université du Droit et de la Santé-Lille II).
- [25] Collura, A., Lefevre, J. H., Svrcek, M., Tougeron, D., Zaanani, A., & Duval, A. (2019). des microsatellites et cancer. *médecine/sciences*, 35, 535-43.
- [26] Toyota, M., Ahuja, N., Ohe-Toyota, M., Herman, J. G., Baylin, S. B., & Issa, J. P. J. (1999). CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(15), 8681-8686.
- [27] Thiele, J. A. (2018). *Morphological And Genomic Profiling Of Circulating Tumor Cells In Metastatic Colorectal Cancer* (Doctoral Dissertation, Université Karlova).
- [28] Sjöblom, T., Jones, S., Wood, L. D., Parsons, D. W., Lin, J., Barber, T. D., ... & Velculescu, V. E. (2006). The consensus coding sequences of human breast and colorectal cancers. *science*, 314(5797), 268-274.
- [29] Wood, L. D., Parsons, D. W., Jones, S., Lin, J., Sjöblom, T., Leary, R. J., ... & Vogelstein, B. (2007). The genomic landscapes of human breast and colorectal cancers. *Science*, 318(5853), 1108-1113.

Références bibliographiques

- [30] Fodde, R., Smits, R., & Clevers, H. (2001). APC, signal transduction and genetic instability in colorectal cancer. *Nature reviews cancer*, 1(1), 55-67.
- [31] Zoratto, F., Rossi, L., Verrico, M., Papa, A., Basso, E., Zullo, A., ... & Tomao, S. (2014). Focus on genetic and epigenetic events of colorectal cancer pathogenesis: implications for molecular diagnosis. *Tumor Biology*, 35(7), 6195-6206.
- [32] Matly, A., Quinn, J. A., McMillan, D. C., Park, J. H., & Edwards, J. (2021). The relationship between β -catenin and patient survival in colorectal cancer: systematic review and meta-analysis. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 163, 103337.
- [33] Pino, M. S., & Chung, D. C. (2010). The chromosomal instability pathway in colon cancer. *Gastroenterology*, 138(6), 2059-2072.
- [34] Yang, L. I., & Moses, H. L. (2008). Transforming growth factor β : tumor suppressor or promoter? Are host immune cells the answer?. *Cancer research*, 68(22), 9107-9111.
- [35] Chaput, N., Louafi, S., Bardier, A., Charlotte, F., Vaillant, J. C., Ménégau, F., ... & Taieb, J. (2009). Identification of CD8+ CD25+ Foxp3+ suppressive T cells in colorectal cancer tissue. *Gut*, 58(4), 520-529.
- [36] Chow, J. Y., Cabral, J. A., Chang, J., & Carethers, J. M. (2008). TGF β modulates PTEN expression independently of SMAD signaling for growth proliferation in colon cancer cells. *Cancer biology & therapy*, 7(10), 1694-1699.
- [37] Waldner, M. J., & Neurath, M. F. (2010). The molecular therapy of colorectal cancer. *Molecular aspects of medicine*, 31(2), 171-178.
- [38] Svrcek, M., Cervera, P., Hamelin, R., Lascols, O., Duval, A., & Fléjou, J. F. (2011). Cancer colorectal: les nouveaux rôles du pathologiste à l'ère de la biologie moléculaire et des thérapies «ciblées». *Revue Francophone des laboratoires*, 2011(428), 29-41.
- [39] Shivapurkar, N., Huang, L., Ruggeri, B., Swalsky, P. A., Bakker, A., Finkelstein, S., ... & Silverberg, S. (1997). K-ras and p53 mutations in aberrant crypt foci and colonic tumors from colon cancer patients. *Cancer letters*, 115(1), 39-46.
- [40] Otori, K., Oda, Y., Sugiyama, K., Hasebe, T., Mukai, K., Fujii, T., ... & Esumi, H. (1997). High frequency of K-ras mutations in human colorectal hyperplastic polyps. *Gut*, 40(5), 660-663.
- [41] Andreyev, H. J. N., Norman, A. R., Cunningham, D., Oates, J., Dix, B. R., Iacopetta, B. J., ... & Urosevic, N. (2001). Kirsten ras mutations in patients with colorectal cancer: the 'RASCAL II' study. *British journal of cancer*, 85(5), 692-696.
- [42] Ibrahim, A. E., & Arends, M. J. (2012). Molecular typing of colorectal cancer: applications in diagnosis and treatment. *Diagnostic Histopathology*, 18(2), 70-80.
- [43] Lane, D. P. (1992). p53, guardian of the genome. *Nature*, 358(6381), 15-16.

Références bibliographiques

- [44] Westra, J. L., Schaapveld, M., Hollema, H., de Boer, J. P., Kraak, M. M., de Jong, D., ... & Plukker, J. T. (2005). 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. *Journal of clinical oncology*, 23(24), 5635-5643.
- [45] Blanco-Aparicio, C., Renner, O., Leal, J. F., & Carnero, A. (2007). PTEN, more than the AKT pathway. *Carcinogenesis*, 28(7), 1379-1386.
- [46] Hollstein, M., Sidransky, D., Vogelstein, B., & Harris, C. C. (1991). p53 mutations in human cancers. *Science*, 253(5015), 49-53.
- [47] Baker, S. J., Fearon, E. R., Nigro, J. M., Preisinger, A. C., Jessup, J. M., Ledbetter, D. H., ... & Vogelstein, B. (1989). Chromosome 17 deletions and p53 gene mutations in colorectal carcinomas. *Science*, 244(4901), 217-221.
- [48] Soubeyran, P., Fonck, M., Blanc-Bisson, C., Blanc, J. F., Ceccaldi, J., Mertens, C., ... & Rainfray, M. (2012). Predictors of early death risk in older patients treated with first-line chemotherapy for cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 30(15), 1829-1834.
- [49] Aparicio, T., Gargot, D., Teillet, L., Maillard, E., Genet, D., Cretin, J., ... & Jouve, J. L. (2017). Geriatric factors analyses from FFCD 2001-02 phase III study of first-line chemotherapy for elderly metastatic colorectal cancer patients. *European Journal of Cancer*, 74, 98-108.
- [50] Houcke, P. (1992). La surveillance des familles des sujets porteurs d'un cancer colo-rectal. *Acta endoscopica*, 22(1), 109-110.
- [51] Faivre, J., Lepage, C., & Viguier, J. (2009). Cancer colorectal: Du diagnostic au dépistage. *Gastroentérologie clinique et biologique*, 33(8-9), 660-671.
- [52] Drouillard, A., & Lepage, C. (2014). Cancer du côlon: bilan et surveillance. *Oncologie*, 16(11-12), 517-524.
- [53] Hristova, L. I. (2010). *Imagerie Scanographique Et Par Résonance Magnétique Des Cancers Colo Rectaux Sur MICI, Corrélation Avec Les Données Histologiques, Cliniques Et Le Suivi, Etude Rétrospective Sur 10 Ans* (Doctoral Dissertation, UHP-Université Henri Poincaré).
- [54] Khouchoua, S. (2020). *Audit De La Qualité De Prise En Charge Chirurgicale Du Cancer Du Colon Au Service De Chirurgie Oncologique Digestive A L'institut National D'oncologie De Rabat 2018-2019*. (Doctoral Dissertation, Université Mohamed V De Rabat).
- [55] DIENG, M. M., GAYE, P., DIOUF, D., KA, S., FALL, M., BA, B., ... & DEM, A. (2019). La radiothérapie des cancers du rectum: Etude monocentrique dans un Institut Africain de Lutte contre le Cancer, Institut Joliot Curie de Dakar au Sénégal. *Revue Africaine de Médecine Interne*, 6(2), 33-42.
- [56] Bouché, O., Scaglia, E., & Lagarde, S. (2010). Prérequis Avant L'administration Et Prévention Des Effets Secondaires D'une Chimiothérapie Pour Cancer Colorectal. *Bulletin Du Cancer*, 97(2), 265-280.
- [57] Ottaiano, A., Scala, S., Santorsola, M., Trotta, A. M., D'Alterio, C., Portella, L., ... & Nasti, G. (2021). Aflibercept or bevacizumab in combination with FOLFIRI as second-line treatment of mRAS

Références bibliographiques

metastatic colorectal cancer patients: the ARBITRATION study protocol. *Therapeutic Advances in Medical Oncology*, 13, 1758835921989223.

[58] Lacouture, M. E., Wainberg, Z. A., Patel, A. B., Anadkat, M. J., Stemmer, S. M., Shacham-Shmueli, E., ... & Ribas, A. (2021). Reducing skin toxicities from EGFR inhibitors with topical BRAF inhibitor therapy. *Cancer Discovery*, 1-27.

[59] Lièvre, A. (2010). Vers un traitement personnalisé du cancer colorectal: facteurs pronostiques et prédictifs. *Oncologie*, 12(10), 584-592.

[60] Bibeau, F., Hazebroucq, J., Pierson, R., & Khellaf, L. (2013). Facteurs pronostiques des cancers colorectaux localisés. *Côlon & rectum*, 7(3), 134-142.

[61] Duval, A., & Hamelin, R. (2003). Réparation des erreurs de réplication, microsatellites et cancer. *médecine/sciences*, 19(1), 55-62.

[62] Mojtahed, A., Schrijver, I., Ford, J. M., Longacre, T. A., & Pai, R. K. (2011). A two-antibody mismatch repair protein immunohistochemistry screening approach for colorectal carcinomas, skin baseoid tumors, and gynecologic tract carcinomas. *Modern Pathology*, 24(7), 1004-1014.

[63] Mnif, L., Chtourou, L., Abid, F., Gdoura, H., Amouri, A., Boudabbous, M., & Tahri, E. (2018). Le Cancer Colorectal Héritaire Non Polyposique (Syndrome De Lynch) Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer (Lynch Syndrome). *Journal De L'information Médicale De Sfax*, 144(30), 2552-60.

[64] Jang, E., & Chung, D. C. (2010). Hereditary colon cancer: lynch syndrome. *Gut and liver*, 4(2), 151.

[65] Bouvet, D. (2018). *Syndrome de Lynch: mise au point d'un test diagnostique basé sur la caractérisation fonctionnelle de tolérance à la méthylation des variants des gènes du système de réparation des mésappariements* (Doctoral dissertation, Sorbonne université).

[66] Richman, S. (2015). Deficient mismatch repair: read all about it. *International journal of oncology*, 47(4), 1189-1202.

[67] Haraldsdottir, S., Hampel, H., Tomsic, J., Frankel, W. L., Pearlman, R., de la Chapelle, A., & Pritchard, C. C. (2014). Colon and endometrial cancers with mismatch repair deficiency can arise from somatic, rather than germline, mutations. *Gastroenterology*, 147(6), 1308-1316.

[68] Faivre, J., Dancourt, V., Lejeune, C., Tazi, M. A., Lamour, J., Gerard, D., ... & Bonithon-Kopp, C. (2004). Reduction in colorectal cancer mortality by fecal occult blood screening in a French controlled study. *Gastroenterology*, 126(7), 1674-1680.

[69] Cottet, V., Bonithon-Kopp, C., & Faivre, J. (2004). Prévention primaire des cancers du tube digestif. *EMC-Chirurgie*, 1(1), 32-46.

[70] Samadder, N. J., Vierkant, R. A., Tillmans, L. S., Wang, A. H., Weisenberger, D. J., Laird, P. W., ... & Limburg, P. J. (2013). Associations between colorectal cancer molecular markers and pathways with clinicopathologic features in older women. *Gastroenterology*, 145(2), 348-356.

[71] Giardiello, F. M., Allen, J. I., Axilbund, J. E., Boland, C. R., Burke, C. A., Burt, R. W., ... & Rex, D. K. (2014). Guidelines on genetic evaluation and management of Lynch syndrome: a consensus

Références bibliographiques

statement by the US Multi-society Task Force on colorectal cancer. *Gastroenterology*, 147(2), 502-526.

[72] Boland, C. R., & Goel, A. (2010). Microsatellite instability in colorectal cancer. *Gastroenterology*, 138(6), 2073-2087.

[73] Wimmer, K., Kratz, C. P., Vasen, H. F., Caron, O., Colas, C., Entz-Werle, N., ... & Brugieres, L. (2014). Diagnostic criteria for constitutional mismatch repair deficiency syndrome: suggestions of the European consortium 'care for CMMRD'(C4CMMRD). *Journal of medical genetics*, 51(6), 355-365.

[74] Meilleroux, J. (2016). *Evaluation de la qualité des critères anatomopathologiques et de la réalisation des tests moléculaires chez les patients atteints de cancers colorectaux: étude observationnelle portant sur 2067 patients pris en charge en Midi-Pyrénées et Aquitaine en 2010* (Doctoral dissertation, Université Toulouse III-Paul Sabatier).

[75] Kovacs, M. E., Papp, J., Szentirmay, Z., Otto, S., & Olah, E. (2009). Deletions removing the last exon of TACSTD1 constitute a distinct class of mutations predisposing to Lynch syndrome. *Human mutation*, 30(2), 197-203.

[76] Guimbaud, R., Laurenty, A. P., Bonnet, D., & Selves, J. (2015). Oncogénétique des cancers digestifs: pourquoi et comment faire mieux?. *Hépto-Gastro & Oncologie Digestive*, 22(3), 199-205.

[77] Lièvre, A., de la Fouchardière, C., Samalin, E., Benoist, S., Phelip, J. M., André, T., & Lledo, G. (2020). Cancers colorectaux avec mutation V600E de BRAF: où en sommes-nous?. *Bulletin du Cancer*.107(9), 881-895.

[78] Long, G. V., Wilmott, J. S., Capper, D., Preusser, M., Zhang, Y. E., Thompson, J. F., ... & Scolyer, R. A. (2013). Immunohistochemistry is highly sensitive and specific for the detection of V600E BRAF mutation in melanoma. *The American journal of surgical pathology*, 37(1), 61-65.

[79] Peltomäki, P., & Vasen, H. (2004). Mutations associated with HNPCC predisposition—update of ICG-HNPCC/INSiGHT mutation database. *Disease markers*, 20(4-5), 269-276.

[80] Le, D. T., Uram, J. N., Wang, H., Bartlett, B. R., Kemberling, H., Eyring, A. D., ... & Diaz Jr, L. A. (2015). PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency. *New England Journal of Medicine*, 372(26), 2509-2520.

[81] Vissers, W. H., Muys, L., Van Erp, P. E., De Jong, E. M., & Van de Kerkhof, P. C. (2004). Immunohistochemical differentiation between inflammatory linear verrucous epidermal nevus (ILVEN) and psoriasis. *European Journal of Dermatology*, 14(4), 216-220.

[82] Shia, J. (2008). Immunohistochemistry versus microsatellite instability testing for screening colorectal cancer patients at risk for hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome: part I. The utility of immunohistochemistry. *The Journal of molecular diagnostics*, 10(4), 293-300.

[83] Pellat, A., Netter, J., Perkins, G., Cohen, R., Coulet, F., Parc, Y., ... & André, T. (2019). Syndrome de Lynch: quoi de neuf?. *Bulletin du Cancer*, 106(7-8), 647-655.

[84] Umar, A., Boland, C. R., Terdiman, J. P., Syngal, S., Chapelle, A. D. L., Rüschoff, J., ... & Srivastava, S. (2004). Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *Journal of the National Cancer Institute*, 96(4), 261-268.

Références bibliographiques

- [85] Buhard, O., Cattaneo, F., Wong, Y. F., Yim, S. F., Friedman, E., Flejou, J. F., ... & Hamelin, R. (2006). Multipopulation analysis of polymorphisms in five mononucleotide repeats used to determine the microsatellite instability status of human tumors. *Journal of clinical oncology*, 24(2), 241-251.
- [86] Boland, C. R., & Goel, A. (2010). Microsatellite instability in colorectal cancer. *Gastroenterology*, 138(6), 2073-2087.
- [87] Hampel, H., Frankel, W. L., Martin, E., Arnold, M., Khanduja, K., Kuebler, P., ... & de la Chapelle, A. (2005). Screening for the Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer). *New England Journal of Medicine*, 352(18), 1851-1860.
- [88] Vasen, H. F., Blanco, I., Aktan-Collan, K., Gopie, J. P., Alonso, A., Aretz, S., ... & Möslein, G. (2013). Revised guidelines for the clinical management of Lynch syndrome (HNPCC): recommendations by a group of European experts. *Gut*, 62(6), 812-823.
- [89] Ahadova, A., Gallon, R., Gebert, J., Ballhausen, A., Endris, V., Kirchner, M., ... & Kloor, M. (2018). Three molecular pathways model colorectal carcinogenesis in Lynch syndrome. *International journal of cancer*, 143(1), 139-150.
- [90] Cohen, R., Pudlarz, T., Garcia-Larnicol, M. L., Vernerey, D., Dray, X., Clavel, L., ... & André, T. (2020). Patients atteints d'un cancer gastrique localisé MSI/dMMR, pas de chimiothérapie mais une immunothérapie périopératoire: l'essai de phase II GERCOR NEONIPIGA vient d'être ouvert au recrutement. *Bulletin du Cancer*, 107(4), 438-446.
- [91] Shah, M. A., Bang, Y. J., Lordick, F., Alsina, M., Chen, M., Hack, S. P., ... & Cunningham, D. (2017). Effect of fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin with or without onartuzumab in HER2-negative, MET-positive gastroesophageal adenocarcinoma: the METGastric randomized clinical trial. *JAMA oncology*, 3(5), 620-627.
- [92] Luu, L. J., & Price, J. T. (2019). BRAF mutation and its importance in colorectal cancer. *Adv. Mol. Underst. Color. Cancer*, 1-18.
- [93] Yarchoan, M., Hopkins, A., & Jaffee, E. M. (2017). Tumor mutational burden and response rate to PD-1 inhibition. *The New England journal of medicine*, 377(25), 2500.
- [94] Overman, M. J., McDermott, R., Leach, J. L., Lonardi, S., Lenz, H. J., Morse, M. A., ... & André, T. (2017). Nivolumab in patients with metastatic DNA mismatch repair-deficient or microsatellite instability-high colorectal cancer (CheckMate 142): an open-label, multicentre, phase 2 study. *The lancet oncology*, 18(9), 1182-1191.
- [95] Lenz, H. J., Van Cutsem, E., Limon, M. L., Wong, K. Y., Hendlisz, A., Aglietta, M., ... & Lonardi, S. (2018). Durable clinical benefit with nivolumab (NIVO) plus low-dose ipilimumab (IPI) as first-line therapy in microsatellite instability-high/mismatch repair deficient (MSI-H/dMMR) metastatic colorectal cancer (mCRC). *Annals of Oncology*, 29, viii714.
- [96] Kouidhi, S., Ben Ayed, F., & Benammar Elgaaied, A. (2018). Targeting tumor metabolism: a new challenge to improve immunotherapy. *Frontiers in immunology*, 9, 353.

Références bibliographiques

- [97] McCabe, M., Perner, Y., Magobo, R., Magangane, P., Mirza, S., & Penny, C. (2019). Microsatellite Instability assessment in Black South African Colorectal Cancer patients reveal an increased incidence of suspected Lynch syndrome. *Scientific reports*, 9(1), 1-10.
- [98] Nayak, S. S., Roy, P., Arora, N., Arun, I., Roy, M. K., Banerjee, S., ... & Mallath, M. K. (2018). Prevalence estimation of microsatellite instability in colorectal cancers using tissue microarray based methods—A tertiary care center experience. *Indian Journal of Pathology and Microbiology*, 61(4), 520.
- [99] Kassem, N. M., Emera, G., Kassem, H. A., Medhat, N., Nagdy, B., Tareq, M., ... & El Metenawy, W. H. (2019). Clinicopathological features of Egyptian colorectal cancer patients regarding somatic genetic mutations especially in KRAS gene and microsatellite instability status: a pilot study. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*, 20(1), 1-9.
- [100] Steinmetz, J., Spycykerelle, Y., Guéguen, R., & Dupré, C. (2007). Le tabac et l'alcool augmentent le risque d'adénomes et de cancers colorectaux: Étude comparant 3 292 cas avec 5 456 témoins dans une population à risque moyen ayant eu un test de dépistage de sang dans les selles positif. *La Presse Médicale*, 36(9), 1174-1182.
- [101] El Housse, H., Ajbara, W., Amsaguine, S., El Amrani, N., Drissi, H., Ahallat, M., & Radallah, D. (2015). Profils épidémiologique et anatomoclinique d'une population marocaine atteinte de cancer colorectal. *Journal Africain du Cancer/African Journal of Cancer*, 7(2), 95-99.
- [102] Diarra, M. (2021). *Les Cancers Colorectaux Dans Le District De Bamako De 2015 A 2019*. (Doctoral Dissertation, Université De Bamako).
- [103] Pan, B., Qin, J., Liu, X., He, B., Wang, X., Pan, Y., ... & Wang, S. (2019). Identification of serum exosomal hsa-circ-0004771 as a novel diagnostic biomarker of colorectal cancer. *Frontiers in genetics*, 10, 1096.
- [104] Youness, M. L. B(2016). *Les Aspects Anatomopathologiques Et Moléculaires Des Cancers Colorectaux Et Leurs Facteurs Histo-Pronostiques*.(Doctoral Dissertation, Université De Cadi Ayyad).
- [105] Pennison, M. J. (2015). *Constitutively Decreased Transforming Growth Factor Beta Receptor 1 (TGFBRI) Signaling Modifies Colorectal Cancer Predisposition* (Doctoral dissertation, Northwestern University).
- [106] Atef, N., Alieldin, N., Sherif, G., Loay, I., Mahmoud, A. M., & Mohamed, G. (2020). Microsatellite instability and life style factors in sporadic colorectal cancer. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP*, 21(5), 1471.
- [107] Bedouhene, A., Chouikh, F. Z., Rechreche, H. E., & Bencharif, S. (2017). *Profil épidémiologique et anatomopathologique du cancer colorectal dans la wilaya de Jijel* (Doctoral dissertation, Université de jijel).
- [108] Belhamidi, M. S., Sinaa, M., Kaoukabi, A., Krimou, H., Menfaa, M., Sakit, F., & Choho, A. (2018). Profil épidémiologique et anatomopathologique du cancer colorectal: à propos de 36 caswe. *The Pan African Medical Journal*, 30.
- [109] Stojkovic Lalosevic, M., Pavlovic Markovic, A., Stankovic, S., Stojkovic, M., Dimitrijevic, I., Radoman Vujacic, I., ... & Krivokapic, Z. (2019). Combined Diagnostic Efficacy Of Neutrophil-To-

Références bibliographiques

Lymphocyte Ratio (NLR), Platelet-To-Lymphocyte Ratio (PLR), And Mean Platelet Volume (MPV) As Biomarkers Of Systemic Inflammation In The Diagnosis Of Colorectal Cancer. *Disease Markers*, 2019, 7.

[110] Faury, S., Zenad, D., Laguette, V., Rullier, E., Denost, Q., & Quintard, B. (2019). Perspective temporelle et qualité de vie des patients atteints d'un cancer du rectum: une étude exploratoire. *Bulletin du Cancer*, 106(5), 447-460.

[111] Kikuchi, T., Mimura, K., Okayama, H., Nakayama, Y., Saito, K., Yamada, L., ... & Kono, K. (2019). A subset of patients with MSS/MSI-low-colorectal cancer showed increased CD8 (+) TILs together with up-regulated IFN- γ . *Oncology letters*, 18(6), 5977-5985.

[112] MAHFOUF, H., BELHADEF, S., BELMADI, M., & ARAB, A.(2020). Stratégie thérapeutique personnalisée. *EL HAKIM* ,5(28), 64-71.

[113] Bécouarn, Y., Rullier, A., Gorry, P., Smith, D., Richard-Molard, B., Echinard, E., ... & Longy, M. (2005). Value of microsatellite instability typing in detecting hereditary non-polyposis colorectal cancer: a prospective multicentric study by the Association Aquitaine Gastro. *Gastroentérologie clinique et biologique*, 29(6-7), 667-675.

[114] Micelli Lupinacci, R. (2017). *Caractérisation anatomo-clinique et phénotypique des adénocarcinomes canaux du pancréas avec instabilité des microsatellites* (Doctoral dissertation, Paris 6).

[115] Cohen, R. (2018). *Caractérisation phénotypique et clinique des cancers colorectaux métastatiques avec instabilité des microsatellites* (Doctoral dissertation, Sorbonne université).

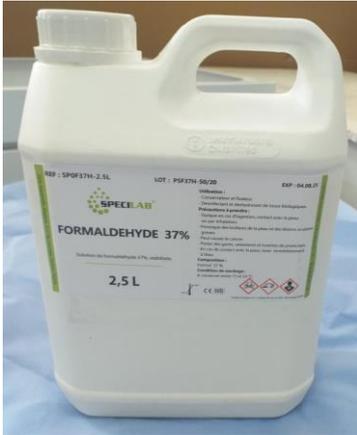
[116] Cohen, R., Buhard, O., Cervera, P., Hain, E., Dumont, S., Bardier, A., ... & André, T. (2017). Clinical and molecular characterisation of hereditary and sporadic metastatic colorectal cancers harbouring microsatellite instability/DNA mismatch repair deficiency. *European Journal of Cancer*, 86, 266-274.

Annexes

Annexe I . REACTIFS, MATERIEL ET APPAREILLAGES

REACTIFS

Formol 10%



Paraffine



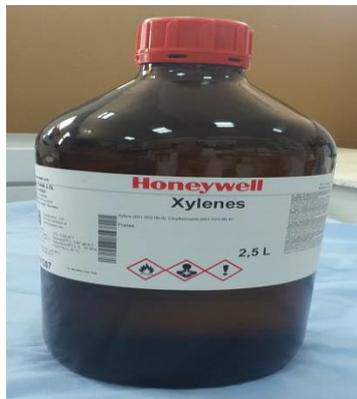
Alcool



Hématoxyline



Xylène



Eosine



Eukitt



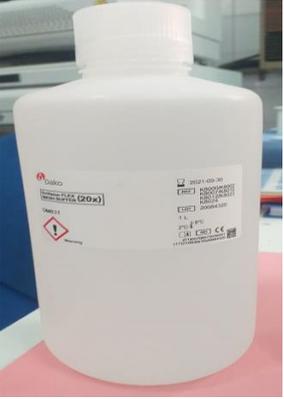
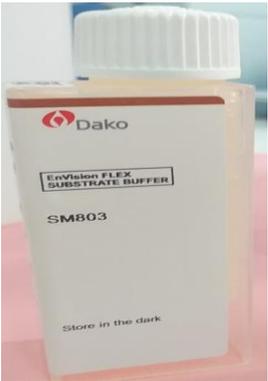
HRP



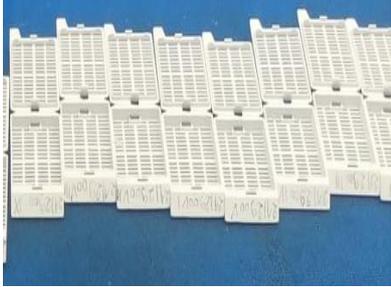
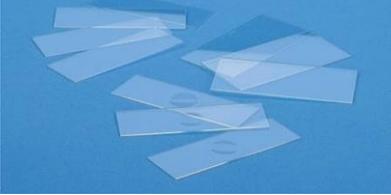
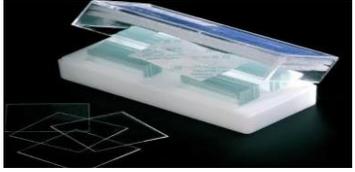
Peroxyde d'hydrogène H2O2



Annexes

<p>tris-buffer saline solution containing tween (TBS-T)</p>	<p>Target Retrieval Solution (TRS)</p>	<p>Anticorps anti MLH1</p>
		
<p>Anticorps Anti PMS2</p>	<p>Anticorps Anti MSH2</p>	<p>Anticorps Anti MSH6</p>
		
<p>Solution de buffer</p>	<p>Diaminobenzidine (DAB)</p>	<p>Hématoxyline de Meyer</p>
		

Annexes

MATERIEL		
Cassettes en plastique	Lames	Lamelles
	 	 
Lames silanisés	Moules	Dako Pen (stylo hydrophobe)
 		

Annexes

APPAREILLAGES		
Etuve	Appareil de déshydratation (Leica)	Appareil d'enrobage (Leica)
		
Microtome(Leica)	Lames rasoir jetables	Bain marie
		
Hotte	Microscope	Plaque chauffante
		

Annexes

Annexe II. PROTOCOLE DE MANIPULATION

II.1. Coloration par l'hématoxyline- éosine HE

A. Fixation



Figure 1 : colon dans le formol 10%.

B. Etude macroscopique

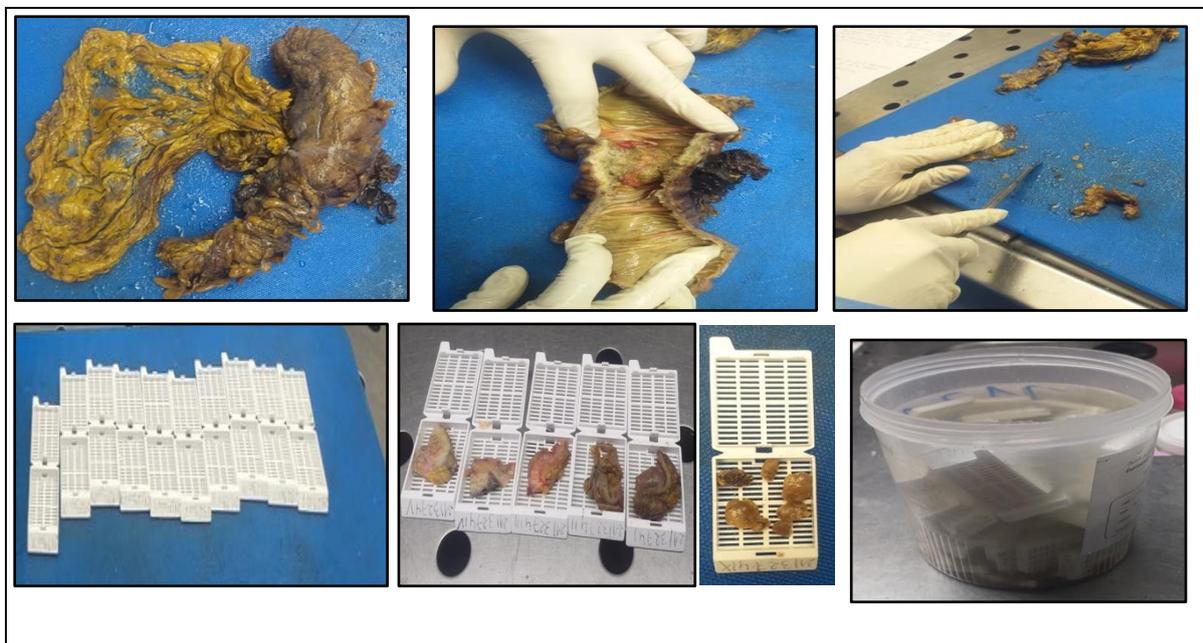


Figure 2 : examen macroscopique d'un colon

C. Déshydratation

Annexes



Figure 3: Déshydratation des prélèvements.

D.Enrobage

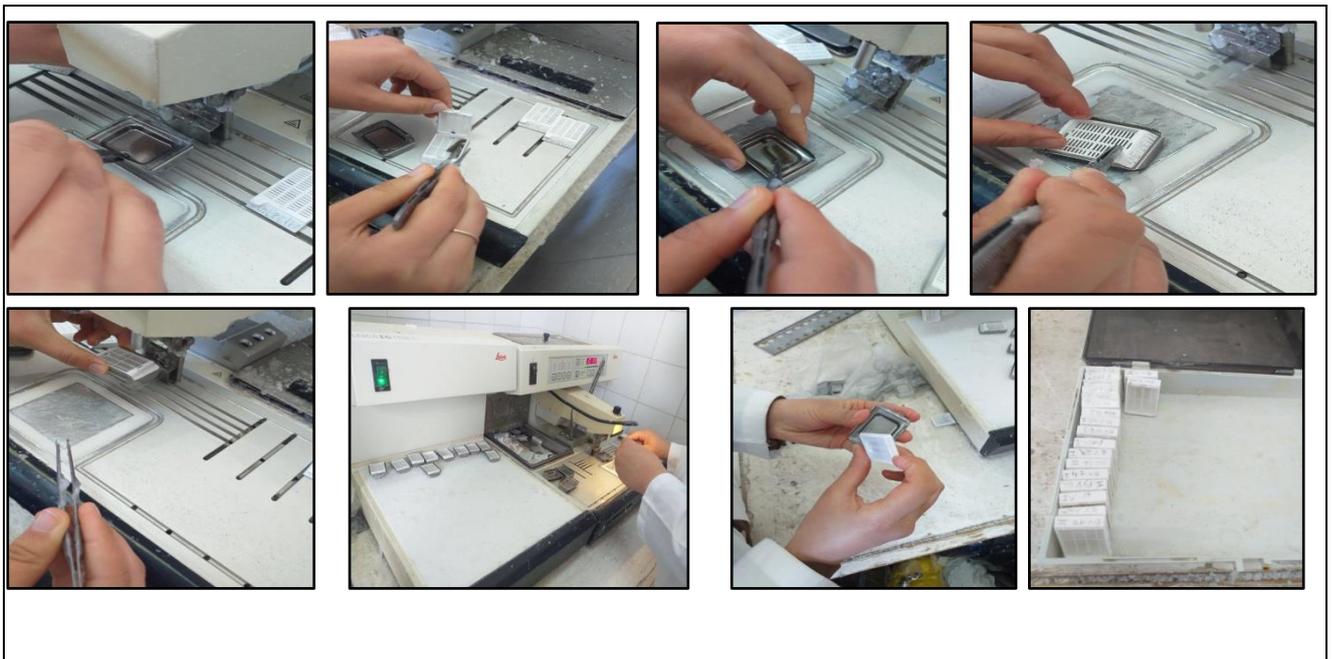


Figure 4: illustration des étapes d'enrobage.

Annexes

E. Coupes par microtome et étalement



Figure 5 : coupes par microtome et étalement.

F. Etapes de coloration

Tableau 1 : les différentes étapes de coloration HE.

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

G. Montage

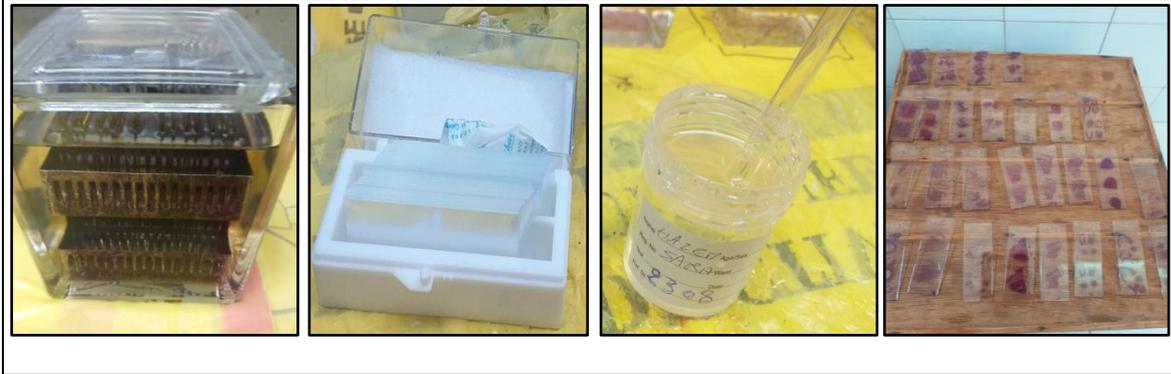


Figure 6 : illustration de l'étape de montage.

II.2.Immunohistochimie

A. Déparaffinage



Figure 7 : étape de déparaffinage.

B. Démasquage thermique

Annexes



Figure 8 : illustration des étapes de démasquage thermique.

C. Blocage de peroxydase endogène

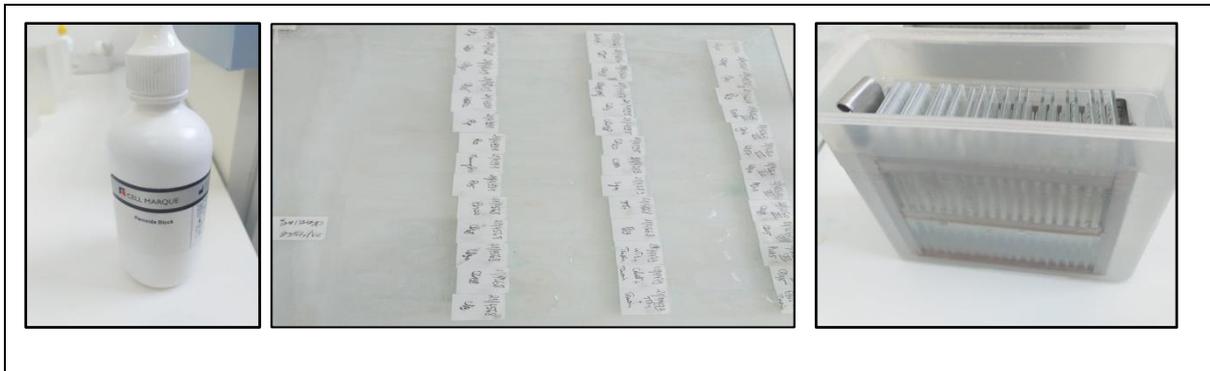


Figure 9 : addition de quelques gouttes de peroxyde d'hydrogène

D. Marquage par l'Anticorps primaire

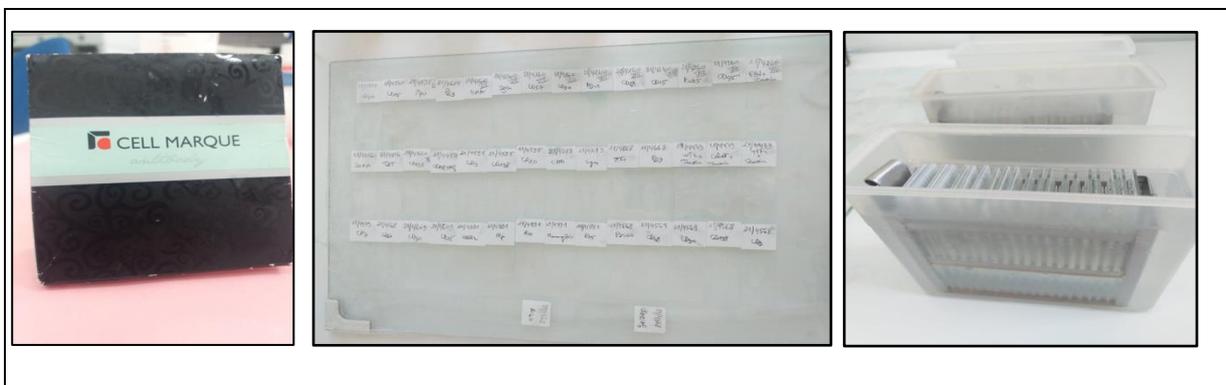


Figure 10 : addition de quelques gouttes d'AC primaire Anti MLH1 ou Anti PMS2 ou Anti MSH2 ou Anti MSH6.

Annexes

E. Révélation par le système (HRP)



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

F. Application du chromogène DAB :

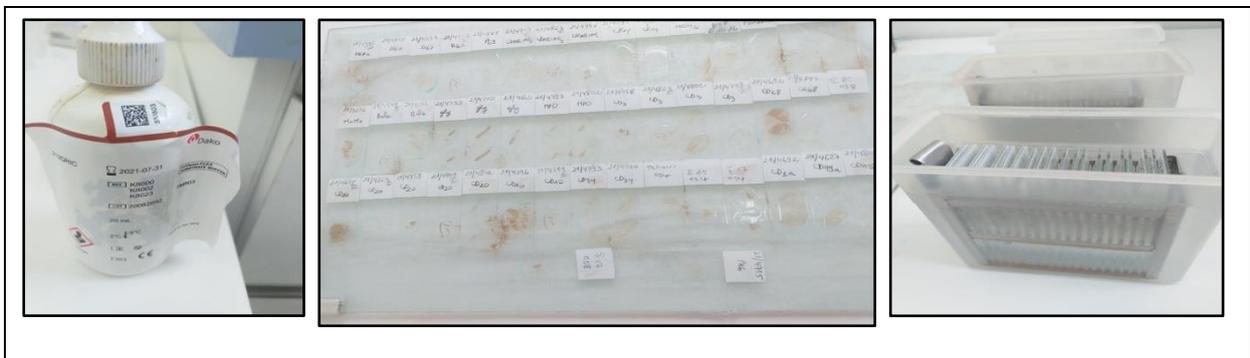


Figure 12 : Addition de quelques gouttes du chromogène Diaminobenzidine.

G. contre coloration



Annexes

Figure 13 : plongement des lames dans un bac de l'Hématoxyline de Mayer .

H. Montage



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