

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

UNIVERSITE BLIDA 1



UNIVERSITE DE BLIDA -1-

FACULTE DES SCIENCE DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE CELLULAIRE

Projet de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Option : Génétique Et Physiologie

Thème

Réalisé par :

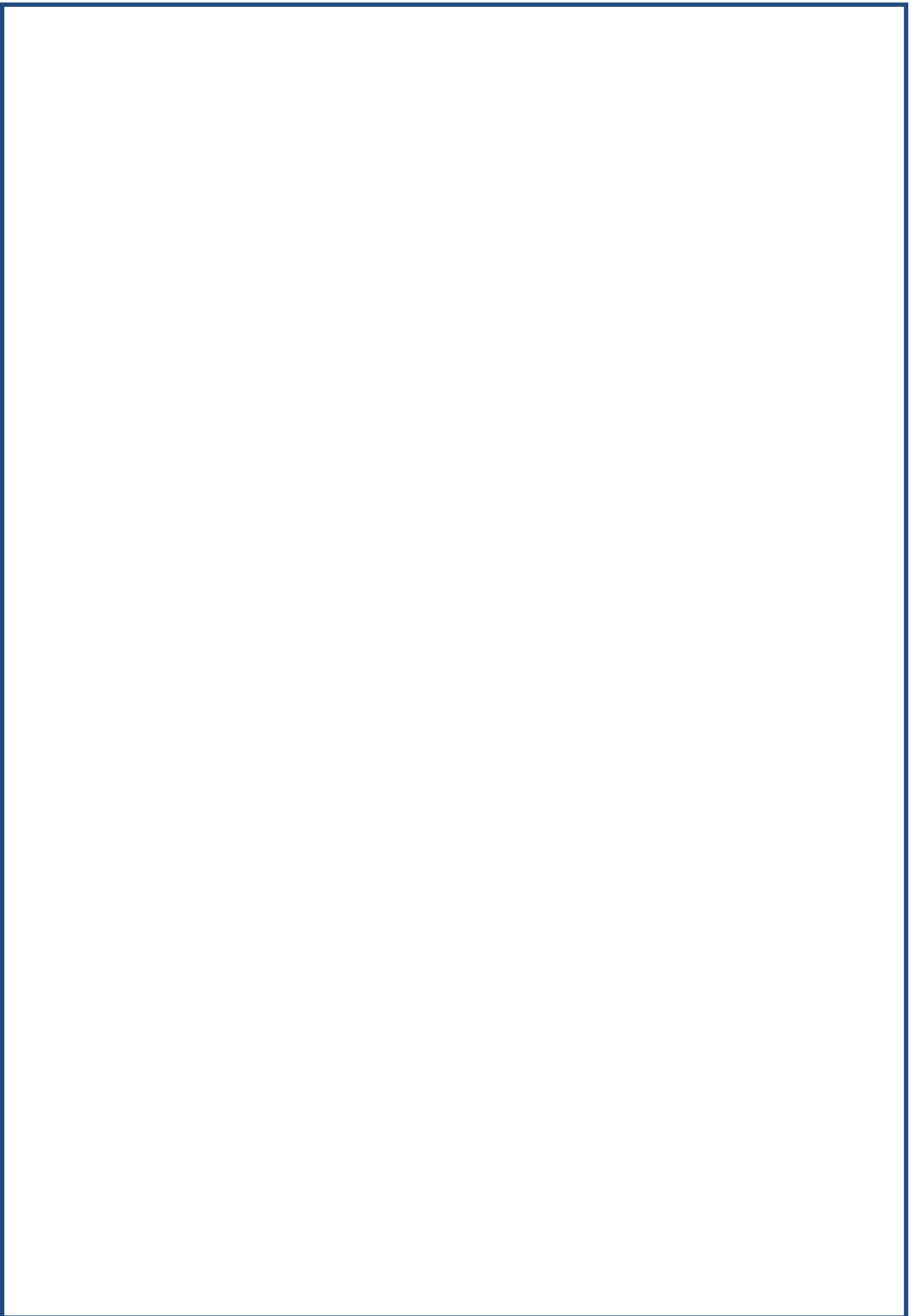
M^{elle} KARA Hanane

M^{elle} MEDASS Abir

Date de soutenance : Septembre 2016

Devant le jury composé de :

- | | | |
|----------------------------------|-----|---------------|
| • M ^{me} KESKES S. | MAA | Présidente |
| • M ^{me} BENAZOUZ F. | MAA | Examinatrice |
| • M ^{me} HADJ HAMMOU F. | MA | Promotrice |
| • M ^{me} HERKAT S. | MAA | Co promotrice |



Nous tenons tout d'abord et avant tout à remercier notre **DIEU** tout puissant de nous avoir aidé et éclairci le chemin.
Merci pour avoir guider nos pas pendant toutes ces années.

A Madame Hadj Hammou F

Tout d'abord, j'adresse mes remerciements à mon maitre de stage, Mme Hadj Hammou F, maitre assistant, au niveaux du CHU Franz fanon, pour son accueil, pour sa patience et nos diriger et le partage de son expérience professionnelle et pour accepter de suivre notre travail.

A Madame HERKAT S

Nous terrons à remercier notre Co-promotrice, M^{me} HERKAT S, de l'Université qui nous a beaucoup aidé dans la recherche de stage et d'avoir accepté de nous encadrer.

Nous exprimons notre profonde gratitude à M^{me} **KESKES** de nous avoir fait l'honneur de présider le jury.

Nous remercions vivement M^{me} **BEN AZOUZ** de bien vouloir accepter d'examiner ce modeste travail.

Enfin, nous terrons à remercier toutes les personnes qui nous ont conseillé et relu lors de la rédaction de ce rapport de stage : nos familles, nos amis (Chahrazed, Lynda et Houda)

HANANE

Je dédie ce mémoire à

A MES PARENTS BIEN-AIMÉS

Je voue dédie cette thèse 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 sagesse.

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 CHERS FRÈRES

Mon frère SIDALI, sa femme et ses enfants

Mon frère HICHAM, sa femme et son fils

Mes frères BILAL et YUCEF

Je prie Dieu le tout puissant de vous accorder santé, et beaucoup de bonheur.

A MES SOEURS

Ma sœur MIMOUNA, son mari et ses enfants.

Mes sœurs AMIRA et LILA. Avec mes souhaits de bonheur et de succès dans ces études.

Mes chères copines LYNDA et HOUDA

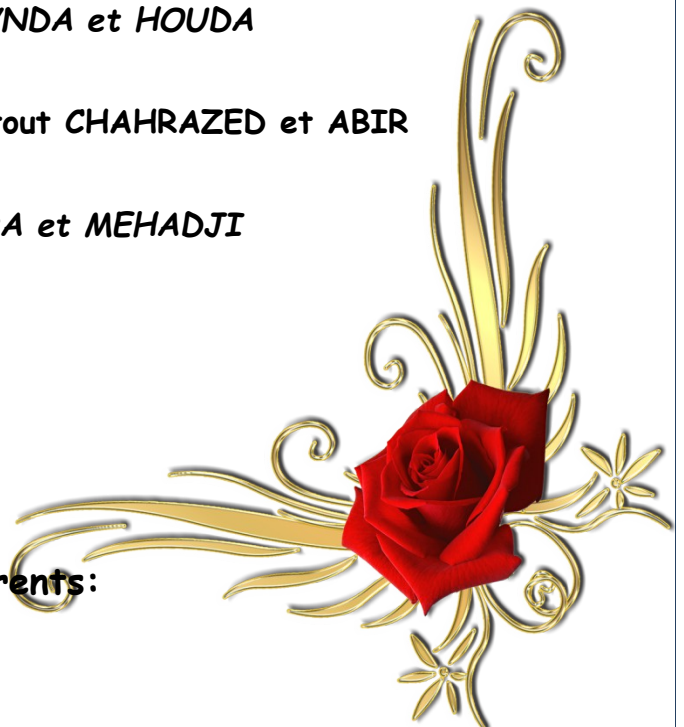
A mes amis de promotion et Surtout CHAHRAZED et ABIR

A toute la famille KARA et MEHADJI

ABIR

Je dédie ce mémoire à

A mes parents:



Pour tous les sacrifices qu'ils consentirent et pour l'éducation qu'ils m'ont inculquée.

A ma mère assia était mon pilier durant toute ma vie que dieu lui prête longue vie et le bonheur et la sante

A mon père norrdinne Allah yirehemo école de mon enfance ; qui a été mon ombre durant les années a des études il est toujours resté avec moi dans ma cœur

A mes familles

Pour leur soutien et leur encouragements, je leur témoigne mon plus grand respect en particulière Mon oncle abd Allah je lui souhaite une longue vie

A mon adorable sœur

Iman et son mari Brahim et leur fille walla je vous souhaite une bonne chance dans la vie que dieu vous protège

A mon frère :

Pour son soutien indéfectible car je sais pertinemment que je peux toujours compter sur lui, mon frère aymen dieu te protège

A mes amis de promotion et Surtout CHAHRAZED et Hanane

A toute la famille zemmouri et MEddas



Résumé

Résumé

L'objectif de notre étude est de diagnostiquer les patients atteints par un cancer colorectal (CCR) de phénotype MSI et de suspecter les formes familiales (syndrome de Lynch). Ces patients présentent un meilleur pronostic et bénéficient d'un protocole thérapeutique différent de celui de CCR de phénotype MSS et dans les formes familiales. Un dépistage est réalisé afin de prendre en charge précocement les patients

Pour cela une étude à été menée au niveau du Laboratoire d'anatomie pathologique du CHU Franz fanon- Blida, Concernant 21 patients sélectionnés selon les critères de Bethesda parmi les 81 cas de CCR provenant des différentes wilayas de l'Algérie.

Une étude immunohistochimique à la recherche de l'expression des protéines MMR, a été réalisée sur l'ensemble des prélèvements afin de déterminer le statut MSI. Le profil MSI doit être confirmé par PCR. Celle-ci n'a pu être réalisée du fait de sa non disponibilité.

L'extinction de l'expression des protéines de système MMR (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2) a été retrouvé chez 2 patients (9.5%) comprenant une femme et un homme avec une sex-ratio égale à 1. L'âge des patients est compris entre [42-47ans] avec une moyenne d'âge 44ans. La tranche d'âge la plus touchée par CCR est [40-49ans] proche de 50ans. Le 1^{er} cas caractérisé par une perte d'expression de MSH6 et le 2^{eme} cas par une perte d'expression de MLH1 et PMS2.

Mots clés : Cancer colorectal (CCR), Immunohistochimie (IHC), MMR, MSI, Syndrome de lynch.

Résumé

Abstract

The aim of our study is to diagnose patients with colorectal cancer (CCR) of phenotype MSI and suspected familial forms (Lynch syndrome). These patients have a better prognosis and have a different therapeutic protocol than that of CCR of phenotype MSS and in familial forms. Screening is done to support early stage patients

For this, a study was conducted at the Laboratory of Pathology of the University Hospital Franz Fanon- Blida. About 21 patients selected according to the Bethesda criteria among the 81 cases of CRC from different wilayas of Algeria.

Immunohistochemical study looking for the expression of MMR proteins was performed on all samples to determine the MSI status. MSI profile must be confirmed by PCR. This could not be achieved due to its non-availability.

The extinction of the expression of MMR proteins was found in 2 patients (9.5%) including a woman and a man with a sex ratio is equal to 1. The age of patients is between [42-47ans] with an average age of 44 years. The age groups most affected by CCR are [40-49yo] close to 50 years. The first case characterized by a loss of expression of Msh6 and 2nd case a loss of expression of MLH1 and PMS2.

Keywords: Colorectal Cancer (CCR), Immunohistochemistry (IHC), MMR, MSI, Lynch Syndrome.

Résumé

ملخص

والهدف من دراستنا هو تشخيص المرضى الذين يعانون من سرطان القولون والمستقيم (CCR) ذات النمط الظاهري MSI و المشبهة في الأشكال العائلية HNPCC هؤلاء المرضى لديهم أفضل التكهن ولها بروتوكول علاج مختلف عن سرطان القولون و المستقيم ذات MSS و يتم الفحص و علاج المرضى في مرحلة مبكرة

لهذا، أجريت دراسة في مختبر علم الأمراض في المستشفى الجامعي فرانس فانون- البلدية. وقد تم اختيار حوالي 21 مريضا من بين 81 حالة وفقا لمعايير بيتيسدا من مختلف ولايات الجزائر.

تم إجراء تحليل مناعي للتعبير عن البروتينات MMR في جميع العينات لتحديد حالات MSI و تتأكد منها . بواسطة PCR..ولا يمكن تحقيق ذلك بسبب عدم توافر لها

تم العثور على الانقراض من تعبير البروتينات MMR رجل و امرأة. و نسبة الجنس (9.5%) في حالتين تساوي 1. تتراوح أعمار المرضى ما بين [42-47 عام] مع متوسط أعمارهم 44 عاما. الفئة العمرية الأكثر تضرر بسرطان و في . MLH1 و PMS2. القولون والمستقيم هي الفئة ما بين (40-49 عام) ما يقارب 50 عام . الحالة الأولى تتميز بخسارة تعبير بروتين MSH6 الحالة الثانية خسارة تعبير الروتينين

سرطان القولون والمستقيم:الكلمات الرئيسية (CRC) ، المناعية (IHC) ، MSI ، MMR ، متلازمة لينش

Sommaire

Introduction.....	1
Chapitre I : Partie bibliographique.....	2
I.1. Généralité sur le colon	2
I.1.1- Anatomie.....	2
I.1.2- Histologie.....	3
I.1.3- Cycle cellulaire.....	4
I.1.3.1- Phases du cycle de division cellulaire.....	4
I.1.3.2- Mécanismes de réplication de l'ADN (phase S).....	4
I.1.4- Mésappariements.....	5
I.2. Epidémiologie du CCR.....	5
I.2.1- Étude épidémiologiques des cancers colorectaux	5
I.2.1.1- Dans le Monde.....	5
I.2.1.2- En Algérie.....	5
I.2.2- Niveaux de risque du cancer colorectal.....	6
I.3. Carcinogènèse colorectal	6
I.3.1- Développement Naturel du CCR.....	6
I.3.1.1- Foyers de cryptes aberrantes.....	6
I.3.1.2- Polype adénomateux.....	7
I.3.1.3- Adénocarcinome.....	7
I.3.2- Altérations moléculaires du développement de cancer colorectal.....	8
I.3.2.1- Mécanisme épigénétique (La méthylation de l'ADN).....	8
I.3.2.2- Instabilités chromosomiques.....	8
I.3.2.3-Instabilités des microsatellites.....	9

Sommaire

I.3.2.4- Différentes voies de signalisation impliquées.....	10
I.3.2.4.1 Voie de signalisation WNT ou voie APC/ β -caténine.....	10
I.3.2.4.2 Voie de signalisation du TGF β	11
I.3.2.4.3 Voie de signalisation RAS.....	12
I.3.2.4.4- Voie de signalisation de la protéine TP53.....	12
I.4. Etude clinique.....	13
I.5. Etude anatomopathologique	13
I.5.1- Aspects macroscopiques.....	14
I.5.2- Aspects microscopiques.....	14
I.5.3- Apport de l'immunohistochimie dans la mise en évidence du statut MSI.....	14
I.5.4- Classification histopronostique des CCR.....	15
I.5.5- Diagramme moléculaire.....	15
I.5.6- Stratégie du diagnostic biologique.....	16
I.6. Pronostique	16
I.7. Traitement	17
I.8. Stratégie de dépistage	17
Chapitre II : Matériel et méthodes.....	18
II.1.1- Matériel.....	18
II.1.1.1- Matériel biologique.....	18
II.1.1.2- Matériel non biologique	18
II.1.2- Méthodes.....	20
II.1.2.1- Etude anatomo-pathologique	20

Sommaire

II.1.2.2- Technique immunohisochimique.....	23
Chapitre III : Résultats et discussion.....	29
III.1- Résultats	29
III.1.1- Répartition des patients selon l'expression des protéines de système MMR.....	28
III.1.2- Paramètres cliniques.....	29
A. Sexe	30
B. Age.....	31
III.1.3- Paramètres histopronostiques	31
A. Répartition des patients selon le grade de différenciation.....	31
B. Répartition des patients selon la taille de la tumeur.....	32
C. Répartition des patients selon la présence ou l'absence de métastases ganglionnaires.....	32
D. Répartition des patients selon la présence ou l'absence d'emboles vasculaires.....	33
E. Répartition des patients selon la présence ou l'absence d'Engainement périnerveux.....	34
III.1.4- Etude histologique des CCR de phénotype MSI+.....	34
III.1.5- Etude immunohistochimique.....	36
III.2- Discussion.....	40
Conclusion et perspectives.....	44
Références bibliographiques.....	
Annexes	

Tableau des figures

Tableau des figures

Numéro	Titre	Pages
1	Schéma anatomique du colon et du rectum	3
2	Schéma histologique montrant les différentes couches de la paroi colorectale	4
3	Les phases et les événements majeurs du cycle de cellulaire	Annexe 01
4	Les étapes de la réplication de l'ADN	5
5	Schémas des différents types histologiques d'Adénome	Annexe 01
6	Aspects macroscopiques des adénocarcinomes coliques	8
7	La voie de signalisation de Wnt	12
8	La voie de signalisation de TGF-bêta	13
9	La voie de signalisation de P53	14
10	Lymphocytes intratumoraux	Annexe 01
11	Réaction lymphocytaire	Annexe 01
12	Composante mucineuse	Annexe 01
13	Composante à cellules en bague à châton	Annexe 01
14	Carcinome médullaire	Annexe 01
15	Algorithme de teste de syndrome de Lynch	17
16	Aspect macroscopique d'un colon humain (photo originale)	21
17	Répartition des cas en fonctions de l'expression des protéines de système MMR	29
18	Répartition des patients de phénotype MSI+ en fonction de sexe	30
19	Répartition des patients porteurs le phénotype MSS en fonction du sexe	30
20	Répartition des patients (des deux groupes) en fonction de l'âge	31
21	Répartition des patients selon le grade de différenciation	32

22	Répartition des patients selon la taille de la tumeur	32
23	Répartition des patients selon la présence ou l'absence de métastases ganglionnaires	33
24	Répartition des patients selon la présence ou l'absence d'embolies vasculaires	34
25	Répartition des patients selon la présence ou l'absence d'engainements périnerveux	34
26	Adénocarcinome colique bien différencié	35
27	Carcinome colloïde muqueux(HEx10).	35
28	Réaction lymphocytaire Crohn-like	36
29	. Expression nucléaire de l'anticorps anti hMLH1 (G×40).	37
30	Expression nucléaire de l'anticorps anti MSH2, flèche (G×40)	37
31	Perte de l'expression nucléaire de l'anticorps anti MSH6 (flèche) (témoin interne positif: étoile) (G×40)	38
32	Perte de l'expression nucléaire de l'anticorps anti PMS2 (flèche) (témoin interne positif: étoile) (G×40)	39

Les tableaux

Les tableaux

Numéro	Titre	Pages
I	Incidence du cancer colorectal en Algérie	5
II	Différents type d'antécédents	6
III	Critères d'Amsterdam	Annexe 02
IV	Critères de Bethesda	Annexe 02
V	Critères de Kievit	Annexe 02
VI	La classification internationale TNM de l'UICC de l'année 2009	Annexe 03
VII	Les réactifs utilisés en anatomopathologie	Annexe 04
VIII	Les appareillages utilisés dans l'histopathologie	Annexe 04
IX	Les réactifs utilisés dans l'immunohistochimie	Annexe 04
X	Les réactifs utilisés dans l'immunohistochimie	Annexe 04
XI	Caractéristiques histopathologiques des patients	Annexe 05
XII	Caractéristiques cliniques des patients	Annexe 05
XIII	Répartition des patients de phénotype MSI+ selon le sexe	Annexe 06
XIV	Répartition des patients de phénotype MSS selon le sexe	Annexe 06
XV	Répartition des patients des deux groupes en fonction de l'âge	Annexe 06
XVI	Répartition des patients selon le grade de différenciation	Annexe 06
XVII	Répartition des patients selon la présence ou l'absence d'Embole vasculaire	Annexe 06
XVIII	Répartition des patients selon la présence ou l'absence d'Engainements prénerveux	Annexe 06
XIX	des patients selon la taille de la tumeur	Annexe 06
XX	Répartition des patients selon le statut ganglionnaire	Annexe 06

Liste des abréviations

5-FU : 5 Fluorouracil

ABD : Adénocarcinome bien différenciée

AMD : Adénocarcinome moyennement différencié

APC: Adenomatous polyposis coli

APD : Adénocarcinome peu différencié

AXIN2: Axis inhibition protein 2

BAX: BCL-2 associated X protein

CCR: Cancer colorectal

CIMP: CpG island methylator phenotype

CIN: Chromosomal instability

CIP: Cancer and Inflammation Program

C-MYC: Avian myelocytomatosis virus oncogene cellular homolog

DNMT: ADN-méthyltransférase

DNMT-1: DNA (cytosine-5) methyltransferase 1

DPC4: Deleted in Pancreatic Carcinoma

Eukit: monting Médium

FCA: Foyer de cryptes aberrantes

FOLFOX: Folinic acid (leucovorin), F – Fluorouracil (5-FU), OX-

Oxaliplatin (Eloxatin)

Gap: GTPase activating proteins

GDP: Guanosine-diphosphate

GSK3b: Glycogen synthase kinase 3 beta

hMLH1: Human MutL Homolog 1

hMSH2: Human MutS Homolog 2

hMSH6: Human MutS Homolog 6

HNPCC: Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer ou Cancer colorectal héréditaire sans polypose.

HRAS: Harvey Rat Sarcoma homologue Viral Oncogene

KRAS: Kirsten Ras

LOH: Loss of heterozygosity

MLH1: MutL Homolog 1

MMR: Mismatch repair ou réparation des mésappariements

MSH2: MutS Homolog 2

MSH6: MutS Homolog 6

MSI : Instabilités Microsatellitaire

MSI-H: High Microsatellite stability

MSS : Microsatellite stability

NRAS : Neuroblastome RAS Viral Oncogene homologue

PAF : Polypose adénomateuse familiale

PMS2 : Protéine 2 de ségrégation post-méiotique

RAS : Reticular Activating System

RER: Ribonucleotide Excision Repair

SMAD 2: Contraction of Sma and Mad (Mothers against decapentaplegic)

SMAD4: Mothers against decapentaplegic homolog

TCF4: Transcription Factor 4

TGF: Transforming growth factor

TGF β : Facteur de croissance transformant bêta

TNM: Tumor Nodes Metastasis

TP53: Tumor Protein P53

UICC : Union International Contre le Cancer

Liste des abréviations

WAF1: Wild-type activating fragment-1

WNT: Weymouth New Testament

Glossaire

- ❖ **Adénocarcinome** : les carcinomes développés à partir d'un épithélium de revêtement glandulaire, comme celui de colon ou d'estomac, reproduisent un mode de croissance glandulaire (**Alan Stevens et al., 2004**).
- ❖ **Adénome** : On désigne sous le nom d'adénome les tumeurs bénignes des parenchymes ou des revêtements glandulaires (**Widal et al., 1920-1924**).
- ❖ **Adjuvante** : est toute substance ou tout composant d'organisme qui, ajouté à l'antigène, augmente la réponse immunitaire (**Anthony et al., 2009**).
- ❖ **Dysplasie** : Les dysplasies sont des troubles acquis de l'homéostasie cellulaire résultant d'anomalies génétiques qui altèrent le contrôle de la prolifération et la maturation cellulaire. Les dysplasies ne sont décrites que dans les épithéliums (col utérin, tube digestif, voies aériennes, glande mammaire, voies urinaires...) et sont des lésions précancéreuses car les cellules dysplasiques peuvent, inconstamment et dans un délai très variable, se transformer en cellules cancéreuses par accumulation d'autres anomalies génétiques (**Jean-François FLEJOU, 2011-2012**).
- ❖ **Épigénétique**: Etude des caractères, tel les changements des états de transcription des gènes, qui sont héréditaires au cours des divisions cellulaires mais qui n'impliquent aucun changement de la séquence d'ADN. Ces caractères sont en général réversibles («reprogrammables» selon le type cellulaire) et sont portés par des modifications dites épigénétiques (**Thierry, 2006**).
- ❖ **Gènes suppresseurs de tumeur** : sont impliqués dans un grand nombre de fonctions cellulaires. Ils interviennent souvent, de façon coordonnée, dans le cycle cellulaire, la méiose, la surveillance et le maintien de l'intégrité du génome, la protéolyse, l'apoptose, les contacts intracellulaires, la différenciation cellulaire, le remodelage de la chromatine,etc (**Roger et al., 2005**).
- ❖ **Génotype** : Séquence ou ensemble de séquences d'ADN correspondant à un caractère héréditaire donné (phénotype) (**Thierry, 2006**).
- ❖ **Ilots CpG** : Régions riches en dinucléotides CG (cytosine-guanine) situées au niveau de promoteurs de certains gènes (**Thierry, 2006**).
- ❖ **Modification épigénétique** : Modifications chimiques qui se superposent au génotype pour former un épigénotype. Elles sont notamment responsables des états de transcription des gènes (**Thierry, 2006**).
- ❖ **Néoplasie** : Les hémopathies malignes se développent à partir d'une seule cellule de la moelle osseuse, du thymus ou de système lymphatique périphérique. Cette cellule subit

des modifications génétique (mutation) aboutissant supplémentaires peuvent former des sous-clone.les cellules transformées prolifèrent excessivement et /ou résistent a l'apoptose .elles restent souvent figées a un stade de différenciations (**Mehta et Victor Hoffbrand, 2003**).

- ❖ **Oncogène** : est une version altérée d'un gène qui est normalement impliqué dans la prolifération ou la croissance cellulaire (**Roger et al., 2005**).
- ❖ **Polype** : toute lésion macroscopique réalisant une saillie pédiculée ou sessile de la muqueuse colique quelle qu'en soit la nature histologique (**Vallot et al., 1996**).
- ❖ **Pronostique** : utile après chirurgie première pour définir le risque de rechute locale ou métastatique et définir le risque de décès (**Anne, 2012**).

Introduction

Les cancers colorectaux (CCR) occupent le premier rang des cancers digestifs. Ils constituent la troisième cause de mortalité. Chez l'homme, le CCR suit le cancer du poumon et de la prostate, chez la femme il se place directement après le cancer du sein et de l'utérus.

Les progrès réalisés dans la connaissance du génome humain ont permis une meilleure compréhension de l'origine génétique des cancers. En effet, ils résultent de l'accumulation d'altérations génétiques et épigénétiques, plus particulièrement, dans les gènes impliqués dans la prolifération et la différenciation cellulaire (**Globocan, 2008**).

La prise en charge biologique du CCR a fait l'objet de plusieurs études, pour évaluer les avantages et les limites d'utilisation des marqueurs biologiques dans la détection des adénocarcinomes, leurs diagnostic et la surveillance des patients ayant ce cancer avant, au cours, et après le traitement anticancéreux (**Guennouni, 2014**). Ceux-ci peuvent être sériques, tumoraux ou constitutionnels (**Anne et al., 2014**).

Les CCR correspondent à une maladie hétérogène sur le plan moléculaire. Schématiquement, 75 % présentent une perte d'hétérozygotie (LOH), 10 % présentent une instabilité épigénétique et environ 15 % présentent une MSI. Deux tiers des CCR avec MSI surviennent dans un contexte sporadique et un tiers dans un contexte héréditaire dans le cadre d'un syndrome de Lynch (**Bibeau et al., 2012**).

Les résultats de ces investigations ont des conséquences importantes en terme de traitement, pronostique et de prise en charge oncogénétique (**Chapelle et Hampel, 2010**).

La détermination du statut MSI fait maintenant partie des tests moléculaires et immunohistochimiques courants réalisés par le pathologiste et/ou le biologiste impliqués en pathologie digestive (**Bibeau et al., 2012**).

Dans cette optique, nous avons ce présent travail au niveau du laboratoire d'anatomopathologie du CHU Blida. Qui contient deux volets : dans un premier temps il s'agit d'une étude histologique et une autre étude immunohistochimique dans un second temps.

L'objectif de notre étude est de diagnostiquer les patients atteints par un cancer colorectal de phénotype MSI par immunohistochimie et de suspecter les formes familiales (syndrome de Lynch). Ces patients présentent un meilleur pronostic et bénéficient d'un protocole thérapeutique différent de celui de CCR de phénotype MSS et dans les formes familiales. Un dépistage est réalisé afin de prendre en charge précocement les patients

Ce travail est subdivisé en trois chapitres essentiels, le premier chapitre présente une synthèse bibliographique, dans laquelle nous avons rapporté des généralités sur le colon et le rectum suivie par des généralités sur le mécanisme moléculaire de la carcinogénèse, puis des généralités sur l'étude clinique du CCR. Le deuxième chapitre, c'est la partie expérimentale qui comporte une description du matériel utilisé et le protocole suivi durant l'expérience, suivi d'un dernier chapitre comportant les résultats obtenus avec leur discussion, et à la fin une conclusion et des perspectives sont données.

I.1. Généralité sur le colon

I.1.1- Anatomie

Le colon est un des segments de l'intestin, comprenant plusieurs parties distinctes (figure1) :

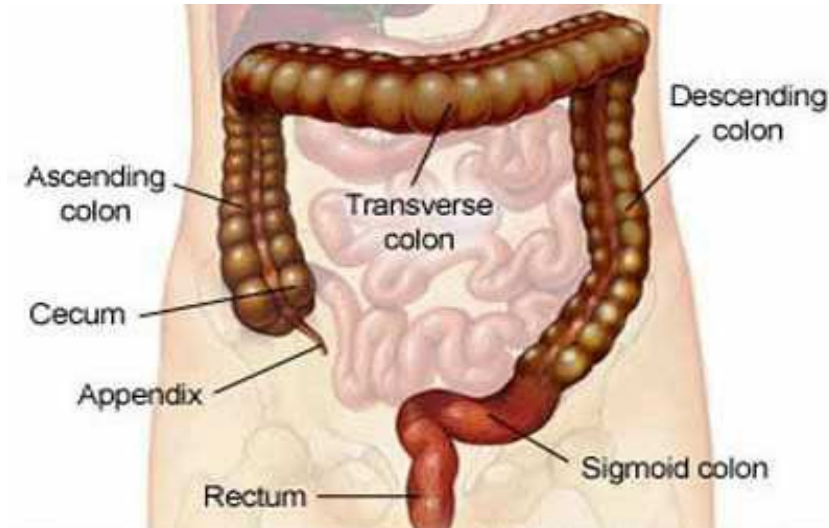


Figure 1. Schéma anatomique du colon et du rectum (Christele, 2008; Syhung et Bourouina, 2008).

- Colon ascendant: fait suite au cecum et remonte à droite jusqu'en dessous du foie, forment «l'Angle colique droit» ou «Angle hépatique» fixé à la paroi postérieure de l'abdomen et couvert en avant par le péritoine,

- Colon transverse: il va de l'angle colique droit à l'angle colique gauche selon un trajet transversal légèrement oblique. Au niveau du pôle inférieur de la rate il se coude selon un angle aigu appelé «Angle colique gauche» ou «Angle splénique». Il possède un long méso-côlon qui le rattache à la paroi abdominale postérieure et le laisse libre dans la cavité péritonéale,

- Colon descendant: commence de l'angle colique gauche, fixé au diaphragme par le biais du ligament phrénologique, forment une plicature qui peut faire obstacle au passage du contenu intestinal. Le colon descendant est fixé à la paroi postérieure de l'abdomen et recouvert par les anses de l'intestin grêle,

- Colon sigmoïde: fait suite au colon descendant et se situe dans la fosse iliaque gauche, il pénètre dans le petit bassin en formant un S. ou il se trouve péritonisé et ancré dans la paroi abdominale par le biais d'un méso-côlon pourtant le nom de méso-côlon sigmoïde.

Chapitre I : Données bibliographiques

- Rectum appartient aussi au petit bassin il comprend la partie terminale du tube digestif, prolonge le colon sigmoïde, et situé devant le sacrum spécifique par sa région renflée appelée ampoule rectale (Christele, 2008; Syhung et Bourouina, 2008).

I.1.2- Histologie

La paroi colorectale présente de l'intérieur vers l'extérieur les couches suivantes (figure2):

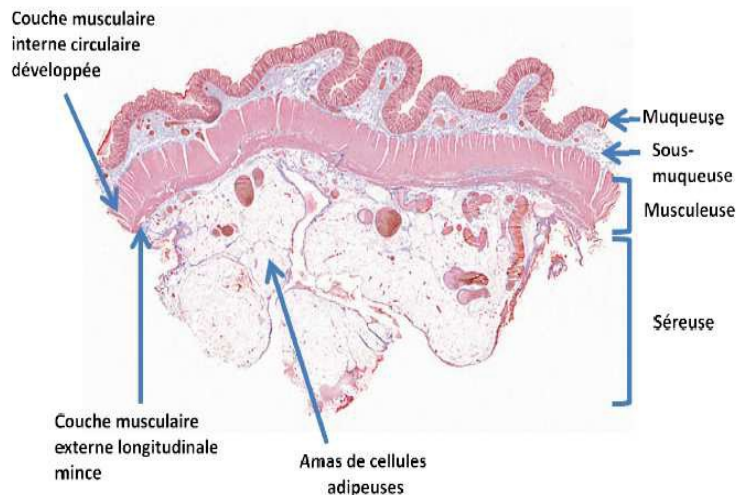


Figure 2. Schéma histologique montrant les différentes couches de la paroi colorectale (Renate, 2008; Stevens et Janes, 1997).

-La muqueuse: comportant elle-même :

- un épithélium ou lame épithéliale faite d'un mélange de cellules absorbantes et de cellules muqueuses organisées en invaginations tubulaires droites portant le nom de « cryptes » ou « glandes de Lieberkühn ». Formés par des cellules cylindriques, caliciformes, des cellules souches et des cellules endocrines,
- une lamina propria ou chorion comporte en plus du tissu conjonctif des ramifications nerveuses et des vaisseaux sanguins.

- La musculature-muqueuse: constituée d'une mince couche de tissu musculaire lisse.

- La sous muqueuse: faite d'un tissu conjonctif lâche renfermant des plexus nerveux et amène ces vaisseaux nerveux et les lymphatiques à la muqueuse.

- La musculature: se compose de deux couches une circulaire interne, bien développée et l'autre est longitudinale externe condensée sous forme de trois bandelettes, nommés « teania coli », infiltrée par des minces filaments nerveux issus de plexus sous muqueux, la musculature du rectum se caractérise par une seule couche continue,

- la tunique externe: la couche extérieure est une couche adventice, entoure la musculuse, constituée de tissu conjonctif lâche parsemé de fibroblastes et de collagène, ainsi que d'une quantité variable d'adipocytes (Renate, 2008; Stevens et Janes, 1997).

I.1.3- Cycle cellulaire

La division cellulaire est un processus essentiel au développement embryonnaire, mais également vital pendant toute la vie de l'organisme adulte (Meijer et al., 2003).

I.1.3.1- Phases du cycle de division cellulaire

Les cellules qui ne se divisent pas sont dites en quiescence (phase G0). Sous l'effet de signaux mitogènes, elles entament un cycle de division de quatre phases: G1, S, G2, M (figure 3: annexe 01). Au cours de la phase G1 « Gap » les cellules passent par le point de restriction, à partir duquel le cycle est irréversiblement. La phase G1 est préparatrice à la phase S au cours de laquelle l'ADN est répliqué, la phase G2 précède la phase M ou mitose (Pommier et Kohn, 2003; Stewart et al., 2003).

I.1.3.2- Mécanismes de réplication de l'ADN (phase S)

La réplication de l'ADN est l'obtention à partir d'une molécule mère, deux molécules filles strictement identiques (figure 4). Grâce à l'ADN polymérase, les deux brins d'ADN se séparent, un brin d'ADN complémentaire sera synthétisé à partir du brin de la molécule mère avec respect de l'appariement des bases (A avec T et G avec C) (Pretlow et al., 1996).

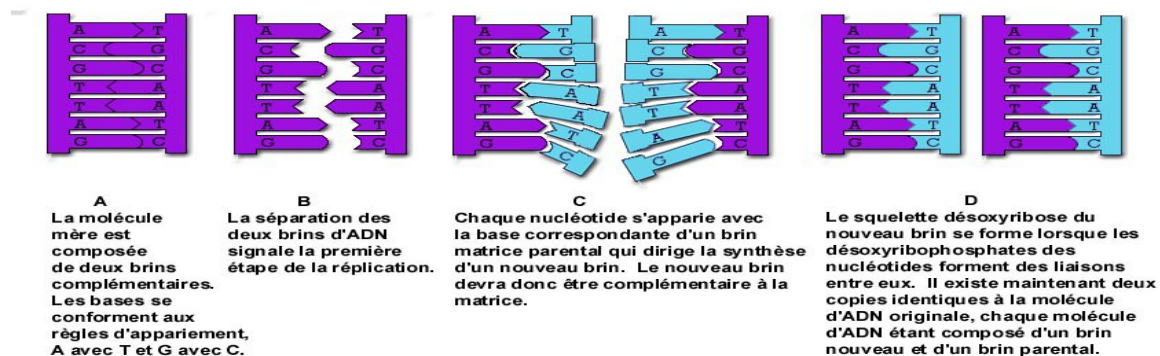


Figure 4. Les étapes de la réplication de l'ADN.

I.1.4- Mésappariements

Chapitre I : Données bibliographiques

Le mésappariement désigne toute confrontation de bases autres que les paires adénine-thymine (A-T) et guanine-cytosine (G-C). Il désigne ainsi l'absence d'une ou de plusieurs bases complémentaires sur l'un des deux brins (**Jean-Pierre, 1992**). Ces mésappariements repérés par le MMR, sont la conséquence d'erreurs commises par l'ADN polymérase au cours de réplication (**Modrich, 1991**).

Le MMR (DNA MisMatch Repair) est composé de gènes de réparation des mésappariements d'ADN, de contrôle de la fidélité de la réplication (**Leach et al., 1993**). Les mésappariements sont corrigés par les protéines codées par les gènes MMR. Les gènes du système MMR appartiennent à la même famille: MLH1, MSH2, PMS2, MSH6 (**Sutherland et Richards, 1994; Léon et al., 2006**). En cas de déficience du MMR, les erreurs de réplication s'accumulent dans des régions non codantes, mais certaines ont lieu dans des régions codantes, où les gènes à risque élevée d'erreur sont les séquences répétitives d'ADN, ou microsatellites (**Chanson et Salenave, 2007**).

I.2. Epidémiologie du CCR

I.2.1. Dans le Monde

Le CCR est le quatrième cancer dans le monde, son incidence augmente de façon modérée (3 à 5% par an). Il existe une prédominance masculine, avec un sex-ratio compris entre 1,5 et 2. A partir de 45ans, la fréquence augmente avec l'âge. L'âge moyen au moment du diagnostic est de 70 ans environ (**Goulard et al., 2009**).

I.2.2- En Algérie

En Algérie, ce cancer constitue un problème majeur de santé publique (tableau I) (**Jen et al., 1994**).

Tableau I. Incidence du cancer colorectal en Algérie (2001)

Registre	Homme	Femme
Alger	14,3	13,8
Blida	12,0	8,0
Tizi Ouzou	10,3	7,0
Oran	9,9	9,9

I.2.3- Niveaux de risque du cancer colorectal

Risque modéré: correspond au risque de la population générale dans son ensemble, l'âge étant le facteur principal. Le risque d'avoir un CCR dans la population âgée de 50 à 74 ans sans autre facteur de risque que l'âge a été estimé à 3,5 %.

Risque élevé: correspond à des hommes et des femmes ayant les antécédents personnels et/ou familiaux (tableau II) suivant:

Tableau II. Différentes type d'antécédents

Antécédents personnels	Antécédents familiaux
Maladie de Crohn ou une rectocolite hémorragique. Adénome de structure villositaire de diamètre >10mm, ou excroissance d'au moins deux adénomes, quels que soient leur taille ou leur caractère villositaires.	Antécédent de CCR chez un ou plusieurs parents du 1er degré avant l'âge de 65 ans. Antécédent familial d'adénome de diamètre > 10 mm chez un ou plusieurs parents du 1er degré.

Risque très élevé: correspond à des hommes et femmes ayant les antécédents familiaux de Polypose adénomateuse familiale (PAF) ou de Syndrome de Lynch (HNPCC) (**Chanson et Salenave, 2007**).

I.3. Carcinogénèse colorectal

I.3.1- Développement naturel du CCR

I.3.1.1- Foyers de cryptes aberrantes (FCA)

La 1^{ère} étape du développement du CCR est l'apparition d'une hyper-prolifération de l'épithélium colique. Au plan morphologique, la 1^{ère} anomalie décelable est le FCA représentée par des cryptes à calibre élargi entourées d'un épithélium épaissi avec une muco-sécrétion diminuée. Les FCA existent sous forme d'une hyperplasie, c'est-à-dire une augmentation anormale de la prolifération des cellules normales dans un tissu, ou d'une dysplasie, caractérisée par des anomalies cyto-nucléaires associées à des anomalies architecturales des glandes. Dans le colon, la dysplasie est caractérisée par une stratification des noyaux, des mitoses dans les deux tiers supérieurs des cryptes et une raréfaction des cellules caliciformes.

Ils représentent à peu près 5% des FCA et sont l'équivalent de micro-adénomes (**Pretlow et al., 1991**).

I.3.1.2- Polype adénomateux

L'adénome est une lésion pré-néoplasique, mais seulement 5 % des polypes évoluent vers le carcinome colorectal (figure 5: annexe 01).

La croissance des adénomes sporadiques colorectaux est la conséquence de deux événements successifs au niveau du gène APC (**Popat et al., 2005**). Les altérations du gène TP53 sont observées dans 5 % à 26 % des adénomes colorectaux, dans 53 % des adénomes présentant un foyer carcinomateux et dans 70% des carcinomes (**Iino et al., 2000**).

I.3.1.3- Adénocarcinome

↳ Adénocarcinome in situ

Lorsque la prolifération cellulaire dépasse la membrane basale et envahit la muqueuse colorectale, le Cancer est dit in situ (par opposition aux autres épithéliums dans l'organisme humain), car il n'y a pas de lymphatiques dans la muqueuse donc pas de risque métastatique.

↳ Adénocarcinome invasif

Le foyer d'adénocarcinome est d'abord superficiel, strictement intra muqueux, limité au chorion entourant les glandes, sans franchissement de la musculaire muqueuse mais dès que les lésions dépassent la musculaire muqueuse, on parle d'adénocarcinome invasif (figure 6) (**Bosset et Rouanet, 2005**).

Figure 6. Aspects macroscopiques des adénocarcinomes coliques (**Najoua Guennouni, 2014**).

I.3.2- Altérations moléculaires du développement de cancer colorectal

Chapitre I : Données bibliographiques

L'instabilité génétique est une caractéristique des cellules cancéreuses, ces déterminants sont en majorité liés à des mécanismes cellulaires fondamentaux, comme le cycle cellulaire, la réplication ou la réparation de l'ADN. Ces mécanismes sont normalement reliés entre eux par de multiples interconnexions, qui forment autant de points de contrôle dont les cellules tumorales s'affranchissent. Cette instabilité génomique s'accompagne de nombreuses mutations dans trois classes de gènes : les oncogènes, suppresseurs de tumeur et les gènes mutateurs (**Sieber et al., 2003**).

I.3.2.1- Mécanismes épigénétiques (méthylation de l'ADN)

Les mécanismes épigénétiques jouent un rôle important dans la carcinogenèse, la méthylation des cytosines contenues dans les îlots CpG est capable d'inhiber leur expression. L'hyperméthylation du gène hMLH1 responsable de son inactivation est fréquemment retrouvée dans les CCR de phénotype MSI (**Herman et al., 1998**). La méthylation de l'ADN est sous la dépendance de DNMT catalysent le transfert de groupements méthylés des S- adénosyl-méthionines vers des résidus cytosines. La surexpression de la DNMT-1 peut conduire à la transformation cellulaire maligne (**Liu et al., 2000**).

I.3.2.2- Instabilités chromosomiques

L'instabilité chromosomique présente dans environ 85% des cas de CCR sporadique, conduit à un phénotype dit phénotype CIN ou encore phénotype LOH, caractérisée par des pertes récurrentes de segments chromosomiques qui concernent en particulier les bras courts des chromosomes 8(8p), 17(17p), et sur les bras longs des chromosomes 5(5q) et 18(18q). Ces pertes alléliques participent à l'inactivation des gènes suppresseurs de tumeurs localisés sur ces bras chromosomiques identifiés (**Rougier et al., 2006; Laurent-puig et al., 2005; Rougier et al., 2005; Boige et al., 2005**). Les protéines codées par les gènes suppresseurs de tumeurs freinent la prolifération cellulaire et l'inactivation de ces gènes induit l'apparition de tumeurs puisqu'elle met hors jeu des modulateurs de nature inhibitrice (**Geoffery et Cooper, 1999**).

La polypose adénomateuse familiale (PAF)

Chapitre I : Données bibliographiques

L'affection héréditaire de transmission autosomique dominante à forte pénétrance, est liée à une mutation germinale (constitutionnelle) délétère du gène suppresseur de tumeur APC localisé sur le bras long du chromosome 5 (**Olschwang et Eisinger, 2001**), chez 90 % des familles, la position des mutations sur le gène conditionne la gravité de certaines manifestations de la maladie. Généralement, la maladie se caractérise par la présence de plusieurs centaines d'adénomes coliques qui risquent de se transformer en cancers avant l'âge de 40 ans. Ces cancers sont tous de phénotype LOH⁺ et représentent moins de 1% des cancers du côlon (**Berrebi, 2006**).

I.3.2.3- Instabilités des microsatellites

Les microsatellites sont des répétitions en tandem d'un motif dont la longueur varie entre 1 et 6 nucléotides (**Tautz, 1994**). Jouent un rôle régulateur de l'expression de des gènes (stabilisation des transcrits, séquences répétées promotrices, microsatellite intronique ...). L'instabilité constatée de telles séquences pourrait intervenir au cours de la carcinogenèse MSI-H, mais cela reste à démontrer (**Suraweera et al., 2001**). L'MSI caractérise l'une des deux voies majeures de cancérogenèse (**Gryfe et Swallow, 1997**), elle concerne 15% des CCR sporadiques, et elle est observée dans le cadre du syndrome de lynch (HNPCC) dans 95% des cas.

Les cellules cancéreuses ont un contenu en ADN normal (diploïdie) et n'ont pas des pertes chromosomiques, par contre, elles ont des anomalies des gènes MMR, la mutation ou la méthylation de la région promotrice des gènes MMR induit une déficience du système de réparation et les mutations vont s'accumuler préférentiellement au niveau des microsatellites sensibles aux décalages du cadre de lecture lors de la transcription de l'ADN, et sujettes à des erreurs d'appariement survenant lors de la réplication. Dans ce type de tumeurs la cellule acquiert un phénotype hypermutateur qui prédispose la survenue de mutation dans certains oncogènes (gène proapoptotique BAX) ou gènes suppresseurs de tumeurs (gène du récepteur de type II du TGF- β) (**Lamoril et al., 2006; Anne-Pascale et al., 2014**).

↳ Le syndrome de Lynch (HNPCC)

Affection génétique de transmission autosomique dominante résultant de mutations germinales touchant des gènes codant pour des protéines impliquées dans la (MMR). Les deux principaux gènes impliqués hMSH2 et hMLH1, respectivement 31 % et 33 %. Plus rarement, PMS2 (4 %), et le gène hMSH6 (**Frebourg et al., 2003**).

Chapitre I : Données bibliographiques

Dans le syndrome HNPCC, l'altération des gènes MMR a pour conséquence une mauvaise correction des erreurs commises par l'ADN polymérase lors de la réplication de l'ADN au cours de la division cellulaire. L'inactivation du MMR dans le syndrome HNPCC obéit au modèle des deux événements successifs de Knudson et Comings (**Cui et al., 2002**) : altération constitutionnelle, puis une altération somatique d'un gène du MMR peut résulter d'une délétion, mutation ponctuelle ou modifications épigénétiques telle l'hyperméthylation des régions promotrices de ces gènes qui verrouillera la transcription. L'inactivation du MMR contribue à la transformation maligne de la cellule en empêchant la correction des erreurs de la réplication de l'ADN. Ce qui est à l'origine d'un phénotype mutateur ou RER+, les erreurs de réplication de l'ADN sont transmises aux cellules filles. Les gènes comportant des séquences répétées codantes, naturellement plus difficiles à répliquer fidèlement, facilement détectables au niveau des microsatellites, sont le plus souvent le siège de ces mutations dans le syndrome HNPCC.

I.3.2.4- Différentes voies de signalisation impliquées

I.3.2.4.1- Voie de signalisation WNT ou voie APC/ β -caténine

Le gène APC est un gène suppresseur de tumeur situé sur le chromosome 5, muté dans 60 à 80 % des CCR de phénotype LOH. La protéine APC a pour fonction le contrôle négatif du taux et de l'activité de la b-caténine, en absence de signal mitotique, la b-caténine est séquestré dans un complexe cytoplasmique avec la protéine APC. Une autre protéine, l'axine, et une sérine-thréonine glyco-gène-kinase c-MYC (GSK3b) permettent la dégradation de la b-caténine par le protéasome. Lorsqu'un signal mitotique est délivré par l'activation du proto-oncogène WNT, la GSK3b est inhibée et la b-caténine s'accumule dans le cytoplasme. La b-caténine forme un complexe protéique avec le facteur de transcription TCF4 qui sera transloqué dans le noyau permettent la transcription de gènes qui favorisent la prolifération cellulaire, notamment l'oncogène (figure 7). Au cours de la prolifération maligne, le complexe b-caténine-TCF4 est activé de manière constitutive, soit du fait de l'inactivation du gène APC ou de l'AXIN2 codant pour l'axine 2 (**Sparks et al., 1998**), soit par une mutation activatrice de la b-caténine (**L'allemain, 2006**) conduisant à la prolifération des cellules épithéliales coliques vers la surface des cryptes intestinales qui deviennent des cryptes aberrantes, premières lésions préneoplasiques.

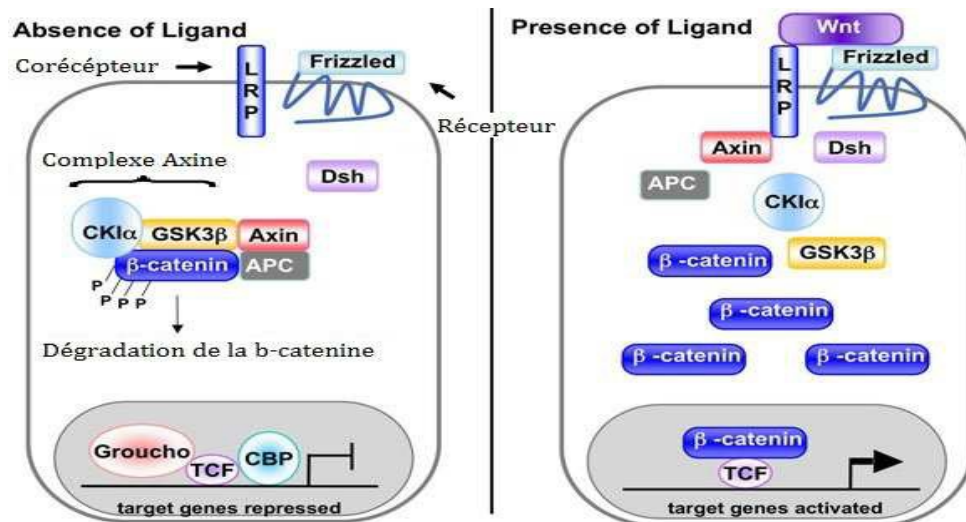


Figure 7. La voie de signalisation de Wnt (Friese et al., 2013).

Dans les cancers LOH, la voie de signalisation WNT est principalement activée par l'inactivation bi-allélique du gène APC, alors que dans les cancers MSI des mutations activatrices de la b-caténine ou inactivatrices de l'axine2 sont observées (Sparks et al., 1998; L'allemain, 2006).

I.3.2.4.2- Voie de signalisation du TGF β

Deux gènes suppresseurs de tumeurs (SMAD4/DPC4 et SMAD2) ont été identifiés sur le chromosome 18, qui surviennent tardivement lors de la transformation de l'adénome en carcinome. Le TGF β activé, se lie au récepteur de TGF β II; il se forme alors un complexe protéique avec le récepteur de TGF β I qui phosphoryle le SMAD2 forment alors un hétérodimère avec SMAD4, qui sera transloqué dans le noyau induisant la transcription de gènes qui inhibent le cycle cellulaire (figure8).

Des mutations inactivatrices de SMAD2 et SMAD4 sont mises en évidence dans plus de 25 % des cancers LOH. Dans les cancers MSI, une inactivation bi-allélique du gène du récepteur du TGF β II est observée dans la majorité des cas (Ribic et al., 2003).

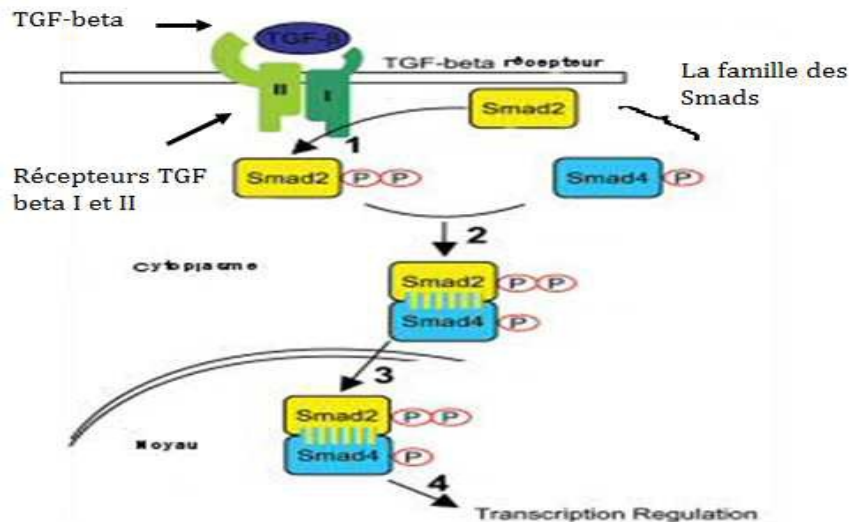


Figure 8. La voie de signalisation de TGF-bêta (Roger Lacave et al., 2005).

I.3.2.4.3- Voie de signalisation RAS

La famille des gènes RAS comprend : HRAS, NRAS et KRAS, chacun code pour une protéine impliquée dans la transduction du signal du milieu extracellulaire vers le milieu intracellulaire. Les protéines RAS oscillent entre un état actif où elles sont liées au GTP et un état inactif où elles sont liées au GDP. Leur surexpression affecte l'adhésion et le cycle cellulaire.

La mutation de KRAS est un événement précoce dans la carcinogenèse puisqu'elle est observée avec la même fréquence dans le cancer et les adénomes de plus de 1 cm. Ils ont été rapportées dans la muqueuse colique normale suggèrent que la dysplasie ne pouvait apparaître que lorsque la mutation du gène KRAS était associée à d'autres mutations comme celles du gène APC (Domingo et al., 2005), observée approximativement dans 50 % des CCR sporadiques. Une mutation ponctuelle du gène BRAF2 a été décrite dans 20 % des CCR surviennent préférentiellement dans les cancers MSI sporadiques présentant une hyperméthylation du promoteur du gène hMLH1 (Domingo et al., 2005).

I.3.2.4.4- Voie de signalisation de la protéine TP53

Le gène suppresseur de tumeur TP53 situé en 17p est invalidé par des pertes alléliques et des mutations ponctuelles, elles surviennent tardivement dans la séquence adénome-cancer. La protéine p53 a pour rôle de bloquer le cycle cellulaire en phase G1/S en cas de lésions de l'ADN, en induisant la transcription de gène inhibiteur de cycle cellulaire CIP/WAF1 pour permettre la réparation de l'ADN avant la division cellulaire et d'autre part, elle engendre aussi l'apoptose en induisant la transcription du gène proapoptique BAX (BCL-2 associated

X protein), si les altérations sont très importantes pour être réparées. La P53 jouera ainsi un rôle de gardien du génome et son inefficacité autorise la survenue d'altérations génétiques multiples (figure 9).

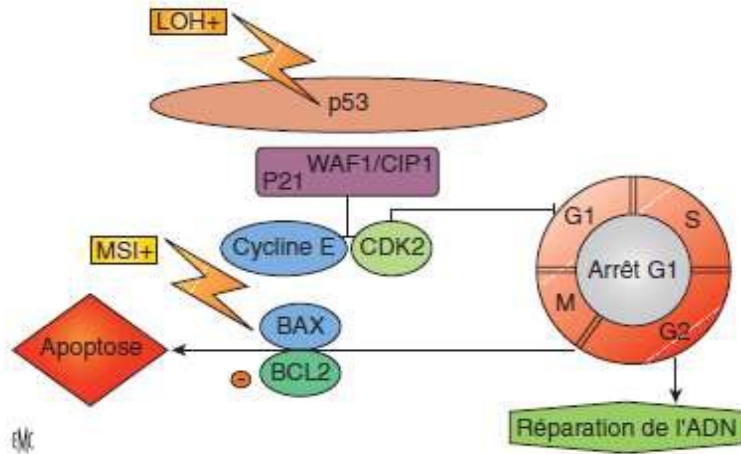


Figure 9. La voie de signalisation de P53 (Sargent et al., 2010).

Le gène TP53 est muté dans environ la moitié des CCR de type LOH, considérée comme un facteur de mauvais pronostic. D'autre part, le gène BAX est le siège d'altérations dans près de 50% des tumeurs MSI (Westra et al., 2005; Aparicio, 2007; Parsons et al., 1995).

I.4. Etude clinique

En 1991, pour la première fois un groupe international ont établis les critères de diagnostiques du syndrome de Lynch (les critères d'Amsterdam), jugés être trop restrictifs et ils ont été révisés en 1999 (Aung et al., 2012; Vasen et al., 1999). Selon les critères d'Amsterdam, le syndrome HNPCC représente environ 1-2 % des cancers du côlon chez les sujets atteints de moins de 60 ans (Andrieu et al., 2003), Pour palier à identifier les patients qui devraient avoir une recherche de MSI et/ou une recherche de mutations. D'autres critères ont été définis en 1996 (critères de Bethesda). Ces derniers ont une excellente sensibilité mais une faible spécificité (20 %) (Pinol et al., 2005; Umar et al., 2004; Rodriguez-Bigas et al., 1997). De nombreux cliniciens et onco-généticiens les utilisent afin de simplifier les critères permettant d'évoquer un syndrome de Lynch, d'autres critères ont été établis, par exemple les critères de Kievit (tableaux : III, IV et V : annexe 02). Quels que soient les critères cliniques utilisés, ces derniers n'affirment pas le diagnostic mais permettent de le suspecter (Terdiman, 2005).

I.5. Etude anatomopathologique

I.5.1- Aspects macroscopiques

Il n'y a pas de différences macroscopiques entre les cancers du côlon et du rectum. L'étude macroscopique détaillera les points suivants (**Aung Ko Winet *al.*, 2012; Matthew Fleming *et al.*, 2012**):

- conditionnement de la pièce : fraîche/ fixée.
- type d'exérèse (région anatomique).
- dimensions (longueur et circonférence).
- orientation précisée par le chirurgien (pièce fraîche/ pièce fixée).
- localisation de la tumeur dans l'organe.
- distance par rapport aux marges chirurgicales.
- nombre de tumeurs visibles.
- présence de polypes: leur nombre, leur taille et leur caractère.

I.5.2- Aspects microscopiques (figure 10, 11, 12, 13, 14 : annexe 01)

- Infiltrat lymphocytaire intra-tumoral.
- Réponse lymphocytaire péri tumorale (Crohn-like).
- Sous type histologique et différenciation : composante mucineuse, en bague à châton, composante médullaire, histologie de haut grade (peu différenciée).

I.5.3- Apport de l'immunohistochimie dans la mise en évidence du statut MSI

L'immunohistochimie permet d'étudier l'expression tissulaire des protéines du système MMR, soulignent la cause du statut MSI en objectivant l'absence d'expression d'une des protéines impliquées dans la réparation des mésappariements de l'ADN détectables dans le tissu non tumoral. L'immunohistochimie consiste à mettre en évidence l'expression ou l'extinction de ces protéines au niveau des cellules tumorales, en utilisant comme témoins internes positifs l'expression dans les noyaux des cellules non tumorales. Plusieurs anticorps dirigés contre des protéines commercialisés hMLH1, hMSH2, hMSH6 et PMS2. Cependant,

la perte d'expression est exclusive et ne concerne que le dimère hMLH1/ PMS2 ou hMSH2/hMSH6 (Bao et al., 2010).

I.5.4- Classification histopronostique des CCR

L'extension intra pariétale de la tumeur et l'existence de métastases ganglionnaires sont les facteurs pronostiques indépendants les plus importants. Ceci a donné lieu à plusieurs classifications histopronostiques. Celle de Dukes pour les cancers du rectum et transposée par Simpson pour le côlon, est la plus simple et la plus ancienne (1932). La classification proposée par Astler-Coller en 1954 a l'avantage de séparer l'infiltration pariétale de l'envahissement ganglionnaire qui n'est pas toujours liés entre eux. La classification la plus récente est celle proposée par l'UICC c'est la classification TNM. Cette classification qui précise au mieux l'envahissement pariétal et ganglionnaire. Elle est indiscutablement la meilleure classification histopronostique et fait l'objet d'un consensus international et est sensiblement identique dans tous les segments du tube digestif (Annexe 03 : Tableau : VI).

I.5.5- Diagramme moléculaire

En pratique clinique, l'examen de première intention est la recherche de l'instabilité des microsatellites, la caractérisation des mutations étant effectuée dans un second temps si une instabilité des microsatellites est mise en évidence (Lackner et Hoefler, 2005). La caractérisation des mutations est réalisée dans un premier temps sur les gènes principalement impliqués hMLH1 et hMSH2 (éventuellement hMSH6). Certains laboratoires effectuent le séquençage direct de ces grands gènes. D'autres préfèrent le criblage de mutations avant de séquencer les régions anormales. Les techniques de ciblage ou de séquençage permettent de révéler des mutations ponctuelles, mais ne détectent pas les réarrangements importants de gènes qui constituent environ 30 % de la pathologie moléculaire de ces gènes (duplications, grandes délétions....) (Wagner et al., 2003; Wijnen et al., 1998).

Malgré les examens de biologie moléculaire entrepris, dans environ 50 à 70 % des cas, la mutation causale n'est pas identifiée. En aucun cas, un examen négatif n'éliminera le syndrome de Lynch dont le diagnostic reposera alors sur les critères cliniques (notamment les critères d'Amsterdam) et la présence d'une instabilité des microsatellites.

I.5.6- Stratégie du diagnostic biologique

Figure 15. Algorithme de teste de syndrome de Lynch (**Mary et Bronner, 2012**).

I.6. Pronostique

Le facteur pronostique des CCR de phénotype MSI est clairement établi pour les CCR de stade localisé. Dès 2003, Ribic a montré qu'au sein des CCR de stade II et III de phénotype MSI étaient de meilleur pronostic que les MSS (**Ribic et al., 2003**). Ces résultats ont ensuite été confirmés par de nombreuses études ou méta-analyses (**Sargent et al., 2010; Roth et al., 2012**). Cet impact pronostique bénéfique semble concerner l'ensemble des stades. En effet, les études s'adressant aux CCR tous stades confondus (incluant des stades métastatiques) affichent en effet une réduction nette du risque de décès (**Roth et al., 2000; Popat et al., 2005**).

I.7. Traitement

Les premières données suggèrent que l'adjonction d'oxaliplatine au 5-FU pourrait rétablir le bénéfice de la chimiothérapie adjuvante pour les patients avec un cancer du côlon MSI. Les patients opérés pour un cancer du côlon de stade III devraient recevoir une chimiothérapie adjuvante par FOLFOX, et ce quel que soit le statut MMR de la tumeur. Il n'existe pas de consensus pour la prise en charge des patients opérés d'une tumeur MSI de stade II avec des

Chapitre I : Données bibliographiques

facteurs de haut risque de récurrence. Pour les tumeurs T4 (stade IIB) MSI, certains auteurs proposent l'étude de l'expression de certains gènes qui pourraient être prédictifs de la récurrence afin de mieux évaluer le risque d'évolution tumorale (**Rousseau et al., 2010; O'Connell et al.,2010**). Quoi qu'il en soit, si un traitement est décidé en réunion de concertation pluridisciplinaire, ce doit être le FOLFOX. Les tumeurs T3 (stade IIA) MSI ont, quant à elles, un pronostic excellent, et l'indication d'une chimiothérapie adjuvante quelle qu'elle soit son type ne semble pas se justifier dans leur cas (**Parc et al., 2004**).

I.8. Stratégie de dépistage

Chez une personne ayant un antécédent familial de syndrome de Lynch, la prise en charge est la suivante :

- recherche de la mutation en cause (mutation au niveau des gènes MSH2, MLH1, MSH6) lors d'une consultation d'oncogénétique,
- coloscopie totale (coloscopie avec coloration à l'indigo carmin ou chromo-endoscopie) tous les 2 ans dès l'âge de 25 ans
- gastroscopie de dépistage avec recherche d'Helicobacter, tous les 1 ou 2 ans en cas d'antécédent familial de cancer gastrique,
- recherche d'autres localisations de cancer : endomètre, ovaires, intestin grêle, uretère ou reins (**Serra et al., 2008; Goulard et al., 2009; Pernet et al.,2010**).

II. Matériel et méthodes

Notre travail consiste en une analyse rétrospective (Janvier 2015-décembre 2015) et prospective (Janvier 2016-Juillet 2016). Réalisée au niveau du laboratoire d'anatomie pathologique du CHU Franz fanon- Blida.

II.1.1. - Matériel biologique

Nous avons recensés 81 cas de patients présentant un CCR, parmi lesquels nous avons sélectionné 21 cas selon les critères de Bethesda (âge, type histologique.) Une étude anatomopathologie est réalisée sur 21 prélèvements tissulaires d'adénocarcinomes colorectaux, inclus en paraffine

Un examen histopathologique au microscope optique a été effectué préalablement, afin de sélectionner les blocs adéquats pour l'étude immunohistochimique (matériel tumorale +témoin intérieur) dans le but a la recherche de l'expression de la protéine MMR.

Pour être complète cette étude immunohistochimique dans le cas de MSI+, une étude de l'expertise moléculaire par PCR doit réalisée.

II.1.2- Matériel non biologique

Le matériel non biologique utilisé dans le présent travail est constitué de verreries et appareillages, solutions, et les réactifs chimiques du laboratoires d'anatomopathologie (annexe 08).

II.1.2- Méthodes

Des pièces opératoires coliques et rectales ont été adressées du service de chirurgie et ont été réceptionnées et enregistrées au service d'anatomie pathologique du CHU Frantz Fanon de Blida. Ces pièces sont accompagnées d'une fiche de renseignements comprenant les mentions suivantes : l'âge de patients ; le sexe, le site tumoral, la date de l'opération, et antécédents de la maladie

II.1.2.1- Etude anatomo-pathologique

Notre travail a été réalisé sur des blocs archivés à partir desquels nous poursuivons des lames pour l'étude IHC.

a) Préparation des lames et observation

- **Confection des coupes**

- le bloc solide de paraffine contenant le tissu est coupé grâce à un microtome. Les coupes de 3 à 5 microns d'épaisseur sont mises dans un bain-marie à 37° Puis étalées sur lames.
- les lames sont mises dans l'étuve à 65°C dans le but d'éliminer la paraffine du prélèvement et d'augmenter l'adhérence des coupes.

- **Coloration à l'hématoxyline–Eosin (HE)**

Il s'agit d'une coloration topographique de routine permettant l'identification des noyaux et du cytoplasme. Cette technique associe une coloration nucléaire en bleu grâce à l'hématoxyline de Harris (colorant basique) et une coloration rose du cytoplasme grâce à l'éosine (colorant acide). La coloration des coupes est effectuée selon les étapes suivantes :

- déparaffinage dans deux bains de xylène à 10 minutes chacun.
- hydratation dans deux bains d'alcool 100° et 95° cinq minutes chacun.
- rinçage à l'eau courante.
- coloration dans deux bains d'hématoxyline, dix minutes chacun.
- rinçage à l'eau courante 20 à 25 secondes.
- un bain d'eau acidulée pendant 20 secondes.
- rinçage à l'eau courante.
- un bain d'eau ammoniacal pendant 15 secondes.
- rinçage à l'eau courante.

- deux bains d'éosine pendant 30 secondes.
- rinçage à l'eau courante.
- déshydratation dans deux bains d'alcool à 95° pendant une minute.
- rinçage à l'eau courante.
- deux bains de xylène pour l'éclaircissement.

- **Montage des lames**

Dépôt d'une goutte du milieu de montage Eukitt, recouvrir à l'aide d'une lamelle.

- **Observation au microscopique**

A l'aide d'un microscope photonique multi-têtes à différents grossissements (X100, X200 et X400) on a pu réaliser l'observation de nos lames.

II.1.2.2- Technique immunohistochimique

- **Principe**

L'immunohistochimie, ou IHC, désigne la méthode de localisation des protéines situées dans les cellules d'un tissu. Cette méthode utilise les anticorps pour détecter les antigènes ou la présence de certaines protéines sur des tissus fixés et inclus en paraffine.

- **Intérêt :**

- Localisation précise de certaines protéines,
- Etude de leur lieu de synthèse et leur compartiment,
- Observation de leur cheminement cellulaire ou tissulaire,
- Evaluation de leur expression.

Dans notre travail, l'intérêt de l'immunohistochimie est de rechercher la présence ou l'absence des protéines de système MMR (MLH1.MSH2.MSH6.PMS2) dans le tissu tumoral.

- **Mode opératoire**

❖ **Coupes tissulaires**

Des coupes de 1 à 2µm sont réalisées à partir des tumeurs rectales ou coliques à l'aide d'un microtome et sont étalées sur lames silanisées pour éviter le décollement des tissus lors de la manipulation.

❖ **Incubation**

L'incubation est effectuée dans des étuves à 50 °C pendant 24h pour une meilleure adhésion des tissus sur les lames.

❖ **Déparaffinage, démasquage et refroidissement**

On a 2 méthodes différentes utilisées :

○ **Soit par la chaleur dans le bain marie**

✓ **Déparaffinage et réhydratation**

Les lames sont prolongées dans la batterie initiale qui contient :

- 2 bains de xylène (10min chacun) pour déparaffiner, puis dans 5 bains d'alcools, de concentration décroissance pour réhydrater,
- 2 bains d'alcools 100°C dans chacun 10min,
- 1 bain d'alcool 90°C pendant 5min,
- 1 bec d'alcool 70°C pendant 1min,
- 1 bec d'alcool 50°C pendant 1min.

Les lames sont lavées par l'eau distillée pendant 5min.

✓ **Démasquage antigénique dans le bain marie**

Les lames sont plongées dans la solution PT Link PH=9 pour MSH2, MSH6, PMS2 et PH=6 pour MLH1 préchauffée dans un bain marie entre 95 et 97 ° pendant 1h.

✓ **Refroidissement**

Chapitre II : Matériel et méthodes

les lames sont refroidies sur la paillasse à température ambiante pendant 20 min par l'eau de robinet pour le démasquage des antigènes. Puis les lames sont mises dans l'eau distillée pendant 5min. et l'excès du liquide autour des coupes est enlevé avec la gaze.

○ Soit enzymatique dans un autocuiseur

Cette méthode regroupe les 3 étapes à la fois.

- On met les lames dans un PH spécial à l'autocuiseur (2PH 6 et 9 comme dans le bain marie) pendant 30 min.
- elles sont laissées refroidir dans un nouveau bac qui contient la même solution de PH pendant 5 min pour le démasquage des antigènes.
- mettre les lames dans l'eau distillée pendant 5min après on va commencer la technique
- enlever l'excès de liquide autour des coupes avec une gaze.

✓ Blocage par peroxydase endogène

- La zone étudiée est délimitée à l'aide du DAKO Pen (hydrophobe et insoluble dans l'acétone et alcool) et les lames sont mises dans la chambre humide.
- Mettre la peroxydase pendant 5 min sur la zone encerclée.
- 2lavages par solution de lavage ,chacun 5min
- Mettre la protéine block pendant 5min.

✓ L'anticorps primaire

- 100 à 200µl (selon la taille de l'échantillon) d'anticorps primaire monoclonal (MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2) est disposé sur la lame encerclée pendant 60min.
- Laver 2 fois par une solution de lavage 5 min pour chacun.
- Enlever l'excès de liquide autour de la coupe par la gaze.

✓ L'anticorps secondaire

Chapitre II : Matériel et méthodes

- Ajouter le post polymère pendant 30 min.
- Laver 2 fois pendant 5min dans chacun.
- Ajouter le polymère pendant 30 min.
- Laver 2 fois pendant 5min dans chacun.
- Enlever l'axées de liquide autour des coupes avec la gaze.

✓ **Révélation**

- le chromogène substrat DAB est dispose sur l'échantillon et incubé pendant 2 à 10min selon le marquage. L'enzyme dégrade le Substrat DAB, le produit qui en résulte en présence du chromogène donne une coloration marron.
- laver les lames 3 fois pendant 5min par une solution de lavage.

✓ **Contre coloration**

- colorer les lames à l'hématoxyline pendant 5 min.
- rincer à l'eau du robinet jusqu'à ce que l'eau devienne limpide.
- l'immersion est effectuée dans l'ammoniaque.
- laver 1 fois pendant 5min dans l'eau distillée.

Cette étape a pour but de colorer le noyau en bleu.

✓ **La batterie finale**

On met les lames dans une concentration croissante d'alcool

- Alcool 70° pendant 3min,
- Alcool 95° pendant 3 min,
- Alcool 100° pendant 3 min,
- Alcool 100° pendant 1 min,

- 3bains de l'xylème pendant 3 min dans chacun.

✓ **Montage**

Une goutte d'Eukitte est au milieu de la lamelle puis disposée sur la lamelle qui contient l'échantillon.

✓ **L'interprétation de l'immunohistochimie**

La présence de marquage nucléaire dans la muqueuse normale permet de valider la technique.

Dans notre étude nous nous concentrons sur la présence ou l'absence de l'immunomarquage de ces protéines (MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2) dans la tumeur tumorale.

• **Aspect histopathologique**

L'histopathologie adoptée par Martoja et Martoja, 1967, qui consiste à étudier au microscope des tissus organiques soumis à l'examen immunohistochimique, les anomalies détectées permettent de diagnostiquer la pathologie.

Les échantillons de tissus observés sont des pièces opératoires coliques et rectales. Le résultat de l'examen microscopique permet alors de découvrir si il y a une perte d'expression de l'un des protéines de système MMR (présence de marquage dans la muqueuse normale et présence ou absence de marqueur dans la tumeur) signifie la probabilité d'avoir le phénotype MSI+ (le pourcentage de cette probabilité est variée selon la protéine : elle augmente si il y a une perte d'expression des protéines MLH1 et PMS2 ou MSH2 et MSH6 ou MLH1 seul et MSH2 seul). S'il y a présence de marquage en a donc un phénotype MSS.

III.1. Résultats

Les différents résultats de l'analyse d'une série de 21 patients atteints de cancer colorectal sont représentés sous forme de graphiques, et regroupés en annexe 05 :

III.1.1. Répartition des patients selon l'expression des protéines de système MMR

Dans notre étude, parmi 21 cas, il y a deux qui représentent une perte d'expression des protéines du système MMR (MSI+) avec un pourcentage de 9.5%, et 19 cas ne représentent pas une perte d'expression de ces protéines (MSS) avec un pourcentage de 90.5% (figure 17), donnant lieu à une prédominance de phénotype MSS par rapport au phénotype MSI+.

Figure 17. Répartition des cas en fonction de l'expression des protéines du système MMR.

III.1.2. Paramètres cliniques

Après l'étude immunohistochimique de l'expression des protéines du système MMR, réalisé sur les 21 échantillons, on obtient deux groupes différents, le premier est de phénotype MSI+ (présence d'instabilité des microsatellites) qui et l'autre qui est de phénotype MSS stable (absence d'instabilité des microsatellites). Nous avons analysés un ensemble des paramètres cliniques entre les deux groupes qui sont : l'âge et le sexe.

A. Sexe

➤ Groupe MSI+ (Annexe 06 : Tableau XV)

Dans notre étude, la répartition des patients de phénotype MSI+ selon le sexe, montre qu'il ya égalité entre les deux sexes (sex-ratio=1). Femme n=1 cas (50%) ; Homme n=1 cas (50%) (Figure 18). Avec une moyenne d'âge de 44ans.

Figure 18. Répartition des patients de phénotype MSI+ en fonction du sexe.

➤ Groupe MSS (annexe 06 : Tableau XVI)

Chapitre III : Résultats

La répartition des patients de phénotype MSS selon le sexe montre une légère prédominance masculine (sex-ratio=1.1). Homme MSS n=10 cas (47.37%) ; Femme MSS n=9 cas (52.63%) (Figure 19). Avec une moyenne d'âge 41ans (18-59).

Figure 19. Répartition des patients de phénotype MSS en fonction du sexe.

B. Age (Annexe 06 : Tableau XVII)

On note un pic de fréquence du CCR pour les deux groupes (MSI+, MSS) dans la tranche d'âge [40-49] avec une prédominance des MSS par rapport au MSI+ (figure 20). 17% pour les MSI+ (n=2 cas) avec une moyenne d'âge 44ans et 83% pour les MSS (n=10 cas) avec une moyenne d'âge 46ans. Nous remarquons que la moyenne d'âge pour les deux phénotypes est proche de 50ans.

Figure 20. Répartition des patients (des deux groupes) en fonction de l'âge.

III.1.3- Paramètres histopronostiques

A. Répartition des patients selon le grade de différenciation (Annexe 06 : Tableau XVIII)

On note que :

- L'Adénocarcinome bien différencié est le grade prédominant pour les deux groupes MSI+ (n=2 cas (12.5%)) et MSS (n=14 cas (87.5%)).
- Pour les grades moyennement et peu différencié, on remarque qu'ils ne sont retrouvés que dans le groupe MSS (figure 21)

Figure 21. Répartition des patients selon le grade de différenciation

B. Répartition des patients selon la taille de la tumeur (Annexe 06 : tableau XIX)

Dans MSI+ les patients divisé entre T2 et T3 (T2 N=1, T3 N=1).

Chapitre III : Résultat et discussion

Dans MSS le T3 c'est le grade prédominant (N=17), et Pour le grade T4, on remarque qu'ils ne sont retrouvés que dans 2cas (voir figure 22).

Figure 22. Répartition des patients selon la taille de la tumeur

C. Répartition des patients selon la présence ou l'absence de métastases ganglionnaires

(Annexe 06 : tableau XX)

Dans les MSI+ les métastases ganglionnaires sont moins fréquentes, présentent dans un seul cas parmi les deux (voir figure 23).

Dans le MSS les métastases ganglionnaires sont plus fréquentes que les MSI+ (voir figure 23).

Figure 23. Répartition des patients selon la présence ou l'absence de métastases ganglionnaires

D. Répartition des patients selon la présence ou l'absence d'emboles vasculaires (Annexe 06 : Tableau XIX)

Dans le groupe MSI+ nous avons trouvé une égalité entre la présence et l'absence d'emboles vasculaires. N=1 cas (50%) (Figure 24).

Dans le groupe MSS, l'absence d'emboles vasculaires est légèrement prédominante. Présence n=9 (47.37%), absence n=10 (52.63%) (Figure 24).

Figure 24. Répartition des patients selon la présence ou l'absence d'emboles vasculaires

E. Répartition des patients selon la présence ou l'absence d'Engainement périnerveux

(Annexe 06 : Tableau XX)

Dans le groupe MSI+ nous avons trouvé une égalité entre la présence et l'absence d'engainement périnerveux. N=1 cas (50%) (voir figure 25).

Chapitre III : Résultats

Dans le groupe MSS, la présence d'engainement perinerveux est prédominante par rapport à son absence. Présence n=13 (68.42%), absence n=6 (31.58%) (voir figure 25).

Figure 25. Répartition des patients selon la présence ou l'absence d'engainements périnerveux

III.1.4- Etude histologique des CCR de phénotype MSI+

L'étude histologique a été réalisée sur 21 cas présentant un cancer colorectal.

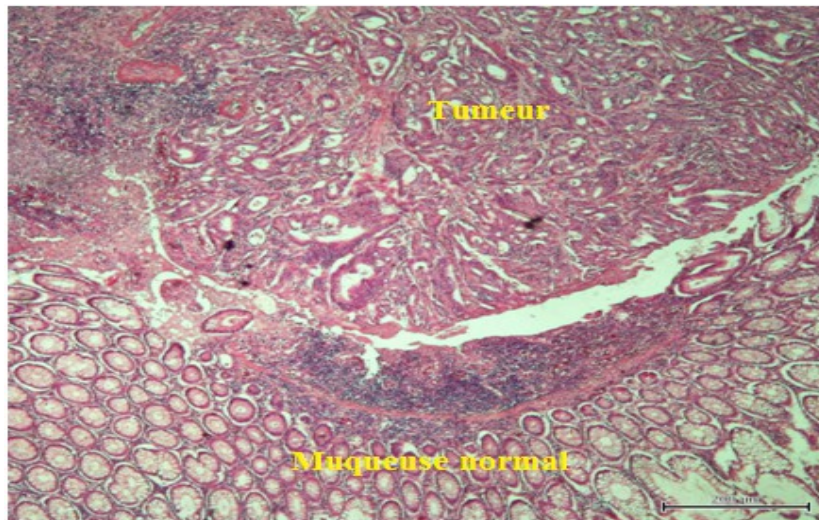


Figure 26. Adénocarcinome colique bien différencié.

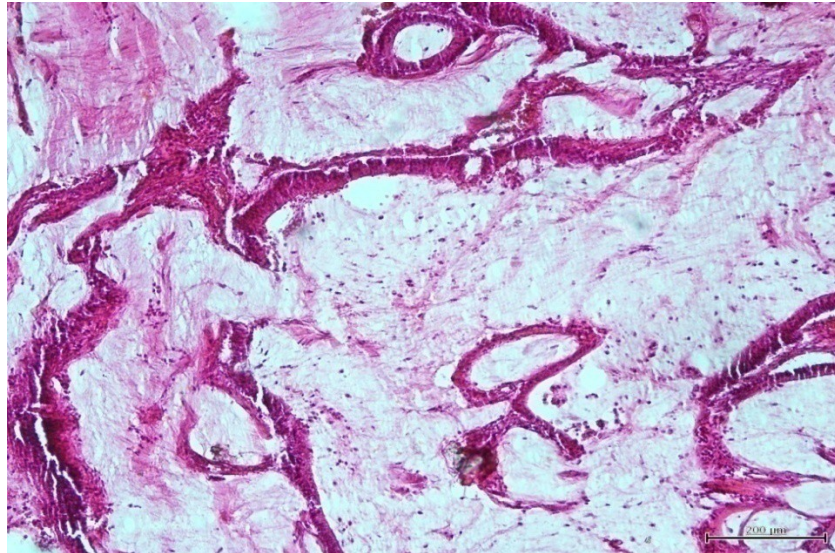


Figure 27. Carcinome colloïde muqueux(HEx10).

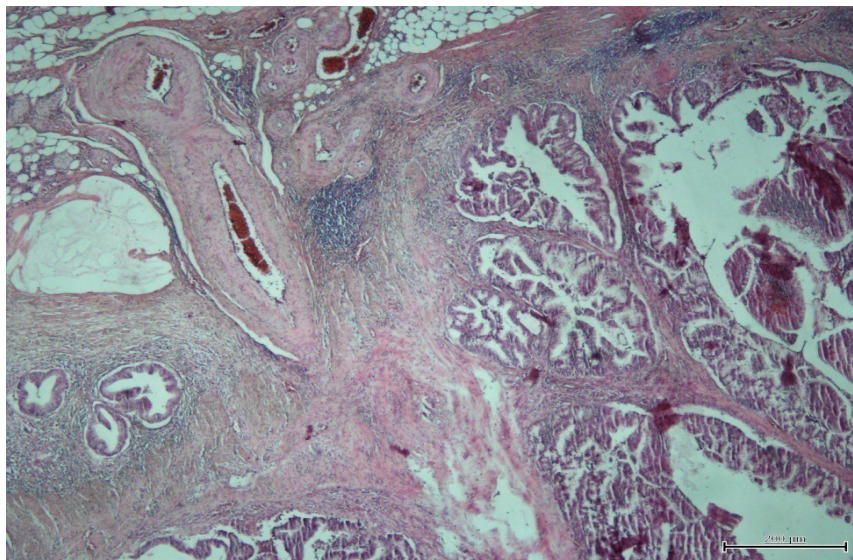


Figure 28. Réaction lymphocytaire Crohn-like

III.1.5- Etude immunohistochimique

L'examen immunohistochimique a été effectué sur 21 cas parmi les 81 cas. Cet examen est nécessaire pour poser un diagnostic positif.

Une recherche systématique, par étude immunohistochimique, de l'expression des protéines de réparation de l'ADN a été réalisée : MLH1(Novocastra), MSH2 (Novocastra), MSH6 (novocastra), PMS2 (Novocastra), elle a intéressée 21 cas parmi les 81 cas, ce qui correspond à 26%.

Chapitre III : Résultats

La positivité nucléaire du marquage au niveau des cellules de la muqueuse normale et du stroma tumoral constitue un témoin interne positif qui permet de valider la technique.

A l'état normal, ces protéines sont ubiquitaires et de localisation nucléaire. La perte de l'expression de la protéine étudiée est traduite par l'absence du marquage nucléaire (MSI+) qui ne s'observe que dans les cellules tumorales. Il est donc nécessaire de disposer d'un témoin interne positif sur la coupe : La muqueuse intestinale normale, Les lymphocytes ou les cellules endothéliales.

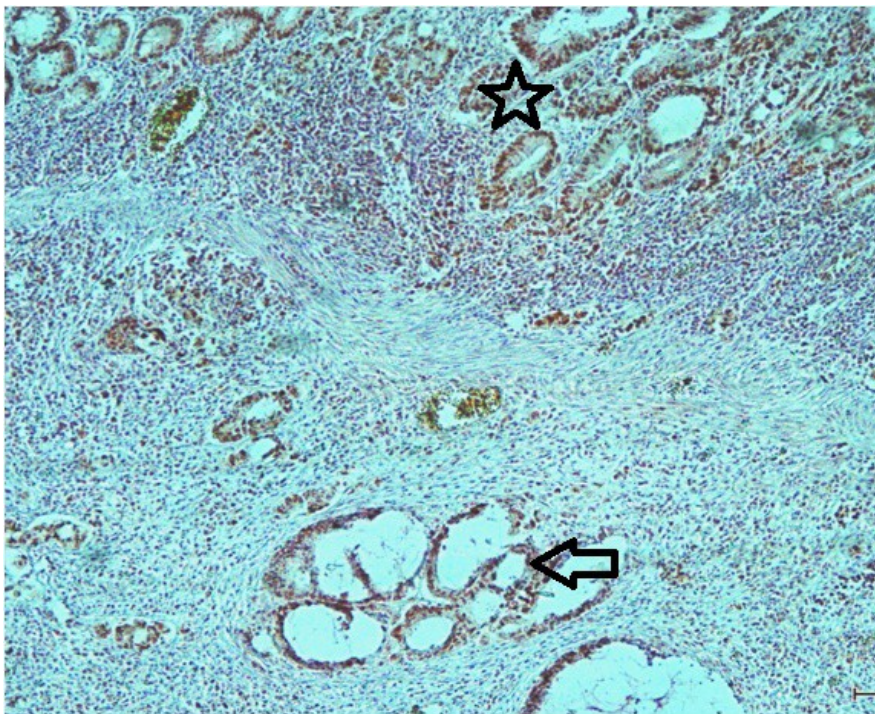


Figure 29. Expression nucléaire de l'anticorps anti hMLH1 (G×40).

On remarque un immunomarquage intense la muqueuse normale (étoile) et de la tumeur (flèche) ce qui démontre une faible probabilité d'avoir un statut MSI+, il s'agit d'un phénotype MSS.

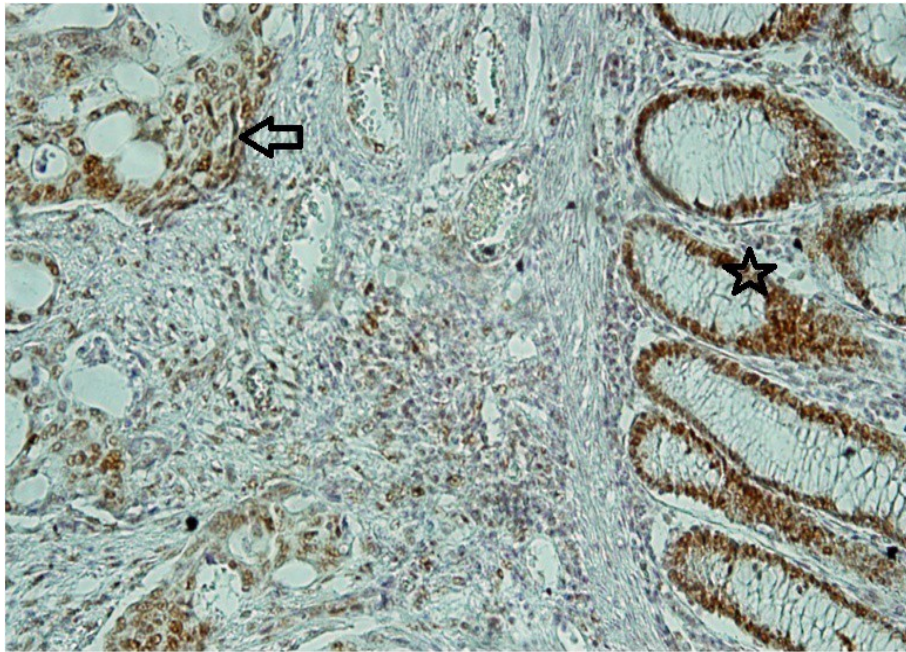


Figure 30. Expression nucléaire de l'anticorps anti MSH2, flèche (G×40).

On remarque un immunomarquage intense la muqueuse normale (étoile) et de la tumeur (flèche) qui démontre une faible de probabilité d'avoir un statut MSI+, il s'agit d'un phénotype MSS.

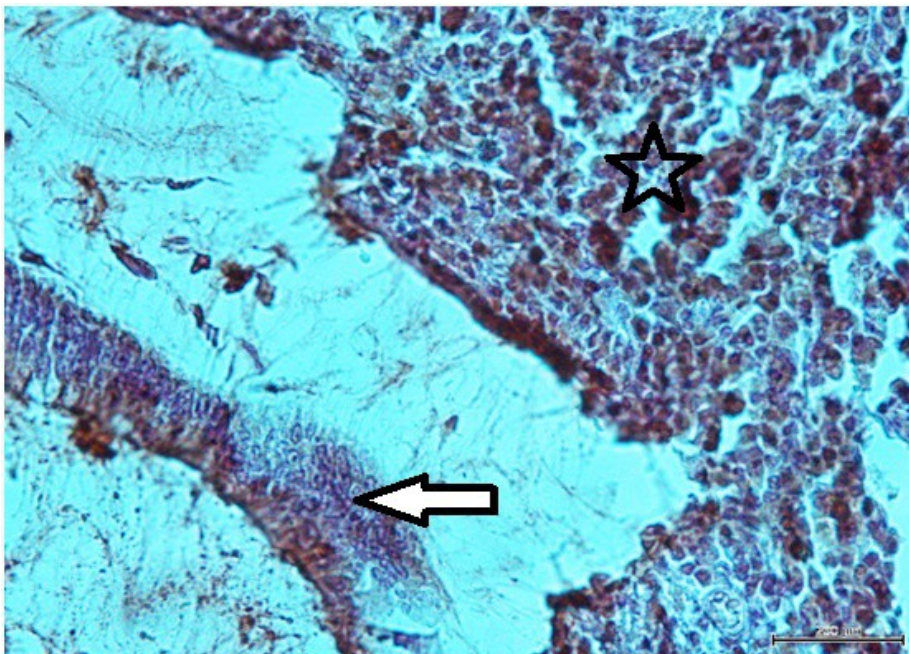


Figure 31. Perte de l'expression nucléaire de l'anticorps anti MSH6 (flèche) (témoin interne positif: étoile) (G×40).

Chapitre III : Résultats

On remarque un immunomarquage intense la muqueuse normale et absence de marquage dans le tissu tumoral due à une Perte d'expression de MSH6 au niveau de la tumeur = probabilité élevée d'un syndrome de lynch.

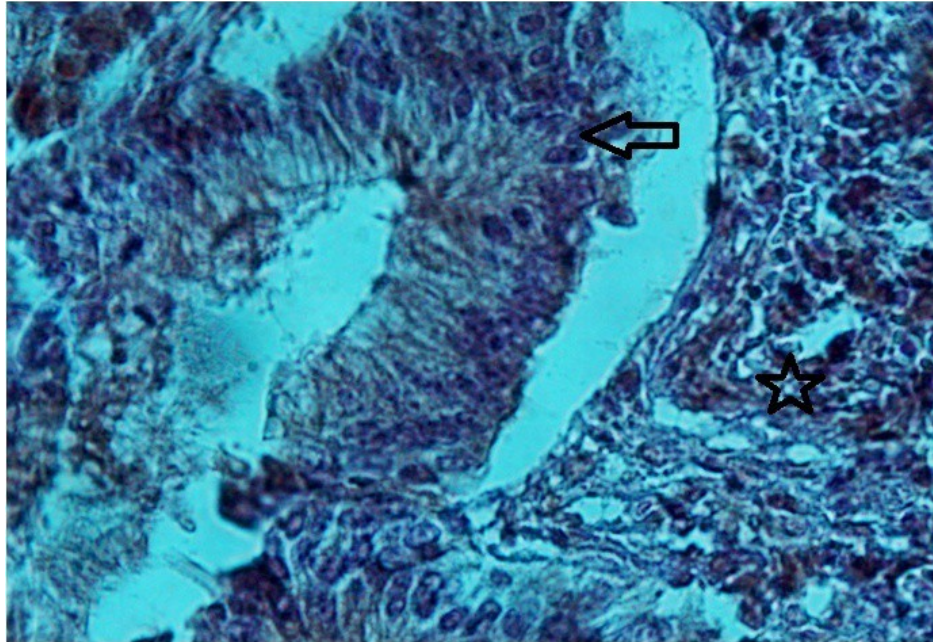


Figure 32. Perte de l'expression nucléaire de l'anticorps anti PMS2 (flèche) (témoin interne positif: étoile) (G×40)

On note une absence d'immunomarquage dans les cellules tumoral et présence dans la muqueuse normal ce qui montre une perte d'expression de PMS2, ce cas a été associé à une perte de l'expression nucléaire de MLH1, donc il s'agit d'une CCR de phénotype MSI+ probable, soit sporadique ou familial (syndrome de lynch).

III.2. Discussion

Les mécanismes de la carcinogenèse colorectale induisent une instabilité génomique, et se traduisent par l'existence d'une Instabilité chromosomique (CIN), d'une instabilité génétique (MSI), ou d'une hyperméthylation des ilots CpG des régions régulatrices de gènes (CIMP).

Les cancers de phénotype MSI sont retrouvés dans 15 % des CCR. Ce phénotype est caractérisé par des microsatellites qui deviennent anormalement longs ou courts, ces derniers résultent d'une déficience du système de réparation des mésappariements de type MMR (**Ionov et al., 1993**).

Dans notre étude, la recherche de l'expression des protéines MMR a été réalisée par examen immunohistochimique, sur des cas de CCR sélectionné selon les critères de Bethesda(annex2).

Dans notre étude, 21 cas ont été sélectionnés parmi 81 cas de CCR. Les cas MSI probables représentent 9.5 % de l'ensemble de nos cas. Ceci concorde avec les données de la littérature (10-15%) (**Kloor et al., 2013**).

Les cancers de phénotype MSI peuvent être d'origine sporadique ou héréditaire (HNPCC ou syndrome de Lynch). Pour les tumeurs MSI sporadiques, l'altération du système MMR est due, dans environ 90 % des cas, à une méthylation épigénétique du promoteur du gène MLH1 qui aura pour conséquence l'absence d'expression de cette protéine. Pour les formes héréditaires, le phénotype MSI est secondaire due à une mutation constitutionnelle d'un gène du système MMR. Dans la majorité des cas, ces mutations concernent les gènes MLH1 ou MSH2, et plus rarement les gènes MSH6 ou PMS2 (**Zaanan et al., 2011**).

La recherche de la méthylation de MLH1 est recommandée en cas de perte d'expression de MLH1 et de PMS2, afin de différencier une forme sporadique d'une forme familiale. Celle-ci n'a pu être réalisée dans notre étude du fait de la non disponibilité de cette technique.

résultats montrent que la série de 21 patients atteints de cancer colorectal est répartie en deux groupes : 2 cas pour MSI+ (9.5%) avec un sex-ratio (hommes/femmes) égale à 1, et 19 cas de MSS (90.5%) avec un sex-ratio légèrement supérieure à 1 (1.1), et entre ces deux phénotypes

Chapitre III : Résultats

le sex-ratio est proche à 1 (1.1).. Un résultat similaire est obtenu dans la série de (**Abid et al., 2001**) où le Sex-ratio est égale à 1,1. Tandis que dans la littérature occidentale, la prédominance masculine est plus marquée : le sex-ratio est compris entre 1,5 et 2.

Dans notre série d'étude, on constate que le cancer colorectal avec le phénotype MSI+ apparaît à un âge plus précoce (44 ans dans notre série) ce qui ne concorde pas avec les données dans la littérature occidentale qui est compris entre 65 et 75 ans (**Boutron et al., 2005**).

Les CCR de phénotype MSI dans notre série présentent des caractéristiques anatomopathologiques et cliniques particulières, ils sont caractérisés par des aspects histologiques bien différenciés ou mucineux. Cela concorde avec ce qui est rapporté dans la littérature pour les mucineux seulement (**Kloor et al., 2013**).

Comme on le sait, le degré d'infiltration de la tumeur dans la paroi est l'un des principaux facteurs pronostiques des CCR. Il influe fortement sur l'envahissement lymphatique et la survenue de métastase à distance (**Grinnell RS. 1950**).

Dans notre série, dans la grande majorité de nos patients (chez 85.7% (18cas)), la tumeur présente un envahissement trans pariétal T3 :

- le groupe MSI+ un seul cas représente 5% de l'ensemble des patients.
- le groupe MSS représente 17cas (81%) de l'ensemble des patients.

Ceci Convenable à peu près avec les données de la littérature, 50% des CCR qui dépasse la musculuse (T3) (**Grinnell RS. 1950**).

En effet, seul un cas dans le groupe MSI+ (5%) qui ne dépasse pas la musculuse (T2). Ceci est différent avec les données de la littérature, en a 13% des CCR représentent l'envahissement T2.

Bien que, 43% des patients de notre série ont un statut ganglionnaire N1 (présence de métastase dans 1 à 3 ganglions) :

- un seul cas de MSI+.
- 8 cas dans le MSS.

Mais dans le groupe MSI+ les métastases ganglionnaires sont moins fréquentes (5%), ce qui est habituel pour ce groupe et rapporté dans la littérature (**Kloor et al., 2013**).

Chapitre III : Résultat et discussion

La présence d'embolies vasculaires (embolies lymphatiques et veineux) dans nos résultats de MSI+ n'a été détectée que dans un seul cas sur deux (50%). Ceci est en accord avec les données de la littérature, les embolies endovasculaires sont retrouvés dans près 50% des pièces opératoires (**Lasser. PH, 2000**).

La présence d'engainement périnerveux est mentionnée dans un seul cas sur deux cas de MSI+ (50%). Ceci est similaire avec d'autres études où l'engainement périnerveux est retrouvé dans 30% à 60% des pièces opératoires (**Lasser et al., 1993**).

Le système MMR est composé de quatre gènes : MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2. Les protéines codées par ces gènes interagissent pour identifier puis corriger les mésappariements qui se produisent préférentiellement au niveau des microsatellites. La perte de fonction d'une seule des quatre protéines impliquées dans ce système est responsable de son inactivation, d'une perte de la fidélité de la réplication et d'une accumulation de mutations (**Bruno et al., 2011**).

L'analyse immunohistochimique nous a permis de détecter un défaut d'expression des protéines du système MMR dans les cellules tumorales, elle a été proposée comme solution alternative à l'analyse moléculaire pour la détermination du phénotype MSI.

Ces analyses ont une sensibilité moins bonne que l'analyse moléculaire.

Après l'analyse immunohistochimique, on a obtenu deux cas présentant une perte d'expression des protéines de système MMR.

La perte de l'expression de la protéine étudiée est traduite par l'absence du marquage nucléaire (MSI+) qui ne s'observe que dans les cellules tumorales. Il est donc nécessaire de disposer d'un témoin interne positif sur la coupe : La muqueuse intestinale normale, Les lymphocytes ou les cellules endothéliales.

Le premier présente le maintien d'expression des protéines : MLH1, MSH2, PMS2 et une perte d'expression de MSH6 cela démontre une probabilité élevée d'un syndrome de lynch (HNPCC) (**James et al., 2009**). Ce résultat est légèrement supérieur par rapport aux autres

Chapitre III : Résultats

études. Tandis que dans la littérature occidentale, le gène MSH6 est responsable de 2 % des cas de syndrome HNPCC typique (**Karoui et al., 2007**).

La perte d'expression de MSH6 est la cause prédominante de déficience dans le système de réparation de mésappariements (MMR) des cancers colorectaux précoces. Les cancers de l'endomètre sont également associés à une mutation de MSH6.

Et pour le deuxième cas de notre série d'étude, deux cas MSI+ d'expression de MLH1 et PMS2 démontre qu'il peut s'agir soit un syndrome de Lynch ou d'un cancer sporadique. Des recherches moléculaires (PCR) spécifiques sont nécessaires afin de distinguer les patients avec MSI sporadiques et les patients du syndrome HNPCC (**Kruhoffer et al., 2005**).

La Détermination du statut MSI des tumeurs colorectales a plusieurs intérêts:

- ✓ Diagnostique car cela permet d'identifier les patients susceptibles d'être atteints du syndrome HNPCC;
- ✓ Thérapeutique, les patients porteurs de tumeurs MSI répondent différemment aux chimiothérapies;
- ✓ Pronostique car il a été démontré que les patients porteurs de tumeurs MSI ont un meilleur pronostic après chirurgie.

Conclusion et perspectives

L'explosion des travaux scientifiques dans le domaine de la génétique des cancers permet actuellement d'améliorer la connaissance des mécanismes physiopathologiques. En effet, grâce à l'avènement des techniques de biologie moléculaire, la caractérisation des facteurs de susceptibilité génétique progresse significativement.

Ce travail s'inscrit suite à une liste de travaux qui consistent à étudier l'instabilité des microsatellites dans la survenue du cancer colorectal et qui utilisent les quatre marqueurs monoclonaux MLH1.MSH2.MSH6.PMS2. Ces anticorps sont présents obligatoirement dans le tissu sain par ce que ces derniers sont des gènes qui jouent un rôle dans la réparation de l'ADN et cela est observé dans notre étude par :

- La présence des quatre marqueurs dans le tissu sain et la tumeur correspond à un statut MSS.
- La présence des quatre marqueurs dans le tissu sain et l'absence de l'un des 4 marqueurs ou plus dans la tumeur correspond un statut MSI.
- L'absence de MLH1+PMS2 dans la tumeur orientée vers un phénotype MSI soit sporadique ou héréditaire (syndrome de lynch)
- Les malades de statut MSI sont susceptibles d'être traités par la chimiothérapie type FOLFOX.
- Cette étude nous a permis d'acquérir des compétences dans le domaine de l'épidémiologie, la technique et l'interprétation biologique et immunohistochimique
- Génétiquement nous pouvons approfondir dans l'étude de la prédisposition génétique dans notre population et d'autres maladies associées.

Actuellement l'accessibilité de la mise en œuvre des altérations génétiques moléculaires a permis l'apparition de nouveaux marqueurs qui ont un intérêt clinique aussi bien dans le dépistage précoce que dans le diagnostic.

Conclusion et perspectives

En perspective, les progrès réalisées dans la connaissance des altérations moléculaires des CCR permettent de mieux distinguer les cas MSI des MSS et pourraient déboucher sur le développement de nouvelles stratégies de dépistage et de thérapeutique.

- ❖ **Abid I, Ali Benamara F, Bouaza A, Lachouri A. 2001.** « Les cancers colorectaux : à propos de 269 cas » Santé Maghreb. Com.
- ❖ **Alan S, Lowe J.S, Barbara Young Ph.D. 2004.** Anatomie pathologique: atlas de Wheater
- ❖ **Andrieu N, Launoy G, Guillois R, Ory-Paoletti C, Gignoux M. 2003** Familial relative risk of colorectal cancer: a population-based study. Eur J Cancer: 39:1904–11.
- ❖ **Anne-Pascale Laurenty, Janick Selves, Rosine Guimbaud. 2014.** Biomarqueurs des cancers colorectaux utiles en pratique clinique.
- ❖ **Anne V.S. 2012.** Département de Biologie des Tumeurs et INSERM U830 Facteurs pronostiques et prédictifs pour la prise de décisions thérapeutiques.
- ❖ **Anthony L. DeFranco, Miranda Robertson, Richard M. 2009.** Locksley, Immunité: La réponse immunitaire dans les maladies infectieuses et inflammatoire.
- ❖ **APARICIO T. 2007.** Carcinogénèse colique, données fondamentales E MC, Gastroentérologie ,9-000-E-20.
- ❖ **Aung K.O Win, Joanne P. Young, Noralane M. Lindor, Katherine M. Tucker. 2012.** Colorectal and Other Cancer Risks Carriers and Noncarriers From Families with DNA Mismatch Repair Gene Mutation: Propective Cohort Study. J Clin Oncol 30
- ❖ **Bao F, Panarelli N.C, Rennert H. 2010.** Neoadjuvant therapy induces loss of MSH6 expression in colorectal carcinoma. Am J Surg Pathol 34(12): 1798–804
- ❖ **Barth X, Leclercq T. 1997.** « Cancer du côlon » La Revue du Praticien ; 47 : 1575 – 1581.
- ❖ **BERREBI W.2006.** Hépatologie, gastro-entérologie ; page : 336-343 France : Groupe de Boeck.
- ❖ **BOIGE V, MALKA D, TAIEB J, PIGNON J.P, DUCREUX M.2005.** Cancer colorectal : altérations moléculaires pronostiques ; page : 22 Gastroenterol Clin Biol.
- ❖ **BOSSET J.F, ROUANET P. 2005.** Cancer colorectal Edition (polycopié national de cancérologie).

- ❖ **Boutron Ruault M.C, Laurant Puig P. 2005.** « Épidémiologie, cancérogénèse, facteurs de risque, prévention et dépistage du cancer colorectal » *Traité de gastro-entérologie*. Deuxième édition Flammarion. 538 – 550.
- ❖ **Bruno Buecher, Antoine de Pauw, Paul Freneaux, Etienne Rouleau. 2011.** Instabilité des microsatellites et cancers colorectaux.
- ❖ **Chanson P, Salenave S. 2007.** L'acromégalie. Encyclopédie Orphanet grand public.
- ❖ **Chapelle A, Hampel H. 2010.** Clinical relevance of microsatellite instability in colorectal cancer. *J Clin Oncol* 28(20): 3380–7)
- ❖ **Christele M. 2008.** Les 5 fonctions vitales du corps humain: anatomo physiopathologie; page: 269 France: Wolters Kluwer.
- ❖ **Cui H, Onyango P, Brandenburg S, Wu Y, Hsieh C.L, Feinberg A.P. 2002.** Loss of imprinting in colorectal cancer linked to hypomethylation of H19 and IGF2. *Cancer Res*; 62:6442-6.
- ❖ **Domingo E, Niessen R.C, Oliveira C, Alhopuro P, Moutinho C, Espin E. 2005** BRAF-V600E is not involved in the colorectal tumorigenesis of HNPCC in patients with functional MLH1 and MSH2 genes. *Oncogene*. 24:3995-8.
- ❖ **Frebourg T, Mauillon J, Thomas J, Olschwang S. 2003.** Le cancer colorectal héréditaire non polyposique. Définition, génétique, diagnostic et surveillance médicale. *Gastroenterol Clin Biol* ; 27 : 708 -714.
- ❖ **Geoffery M, Cooper. 1999.** La cellule : une approche moléculaire ; page : 626-628 France : Groupe de Boeck.
- ❖ **Globocan. 2008.** Cancer Fact Sheet. International Agency for Research on cancer: World Health Organization. Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide.
- ❖ **Goulard H, Boussac-Zarebska M, Duport N, Bloch J. 2009.** Facteurs d'adhésion au dépistage organisé du cancer colorectal : étude Fado-colorectal, France.
- ❖ **Grinnell RS. 1950.** Lymphatic metastases of carcinoma of colon and rectum
- ❖ **Gryfe, Swallow. 1997.** *Curr Probl Cancer*. 1997;21:233–300.

- ❖ **Herman J.G, Umar A, Polyak K, Graff J.R, Ahuja N, Issa J.P. 1998.** Incidence and functional consequences of hMLH1 promoter hypermethylation in colorectal carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA*; **95**:6870-5.
- ❖ **Iino H, Simms L, Young J, Arnold J, Winship I.M, Webb S.I.2000.** DNA microsatellite instability and mismatch repair protein loss in adenomas presenting in hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Gut* ;**47**: 37-42.
- ❖ **Ionov Y, Peinado M.A, Malkhosyan S, Shibata D, Perucho M. 1993.** Ubiquitous somatic mutations in simple repeated sequences reveal a new mechanism for colonic carcinogenesis. *Nature* 363, 558–561.
- ❖ **James P, Grenert, M.D, Ph.D. 2009.** Microsatellite Instability: The Basics for Pathologists. UCSF Molecular Pathology Laboratory.
- ❖ **Jean-Pierre.1992.** Claverys Correction des mésappariements et stabilité de l'information génétique.
- ❖ **Jean-François FLEJOU.2011-2012.** Histoire naturelle du cancer, Collège Français des Pathologistes (CoPath)
- ❖ **Jen J, Kim H, Piantadosi S, Liu Z.F, Levitt R.C, Sistonen P.1994.** Allelic loss of chromosome 18q and prognosis in colorectal cancer. *N Engl J Med*; **331**:213-21.
- ❖ **Karoui M, Tresallet C, Brouquet A, Ravanyi H, Penna C. 2007.** « Carcinogénèse colorerctale : mécanismes génétiques et épigénétiques de la progression tumorale et classification moléculaire des cancers colorectaux » *J Chir* , 144 N° 2 : 97 -105.
- ❖ **Kloor M, Staffa L, Ahadova A, von Knebel Doeberitz M. 2013.** Clinical significance of microsatellite instability in colorectal cancer. *Langenbecks Arch Surg*.
- ❖ **Kolodner R.1996.** Biochemistry and genetics of eukaryotic mismatch repair. *Genes and development*; 10:1433-42.
- ❖ **Kruhoffer M, Jensen J.L, Laiho P, Dyrskjot L, Salovaara R, Arango D. 2005.** Gene expression signatures for colorectal cancer microsatellite status and HNPCC. *Br J Cancer* ; 92:2240–8.
- ❖ **L'ALLEMAIN G.2006.** Rôle des voies de Wnt dans l'oncogénèse John Libbey Eurotext, 93: 88-97.
- ❖ **Lamoril J, Deybach J.C, Bouiwegarene P.2006.** 'instabilité des microsatellites dans le cancer du colon *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, August; 21(4) : 211–222
- ❖ **Lasser PH 2000.** « Cancer du rectum » *Encycl Méd Chir gastroentérologie* 9-084-A-10 ; 23 p.

- ❖ **Lasser P.H, Mankarios H, Elias D. 1993.** « Étude pronostique uni et multi-factorielle de 400 adénocarcinomes rectaux réséqués » J Chi; 130 : 57-65.5.
- ❖ **Launoy G, Grosclaude P, Pienkowski P, Faivre J, Menegoz F, Schaffer P.1992.** Les cancers digestifs en France. Comparaison de l'incidence dans 7 départements et estimation de l'incidence pour la France entière. Gastroenterol Clin Biol; 16; 633-638.
- ❖ **Laurent-Puig P, Landi B, Lievre A.2005.** Intérêt clinique de la détermination de l'instabilité microsatellitaire des cancers colorectaux Gastroenterol Clin Biol; 29: 657-658.
- ❖ **Leach F.S, Nicolaides N.C, Papadopoulos N. 1993.** Mutations of a MutS homolog in here d i t a ry non-polyposis colorectal cancer. Cell ; 75:1215-25.
- ❖ **Lengauer C, Kinzler K.W, Vogelsteinn B. 1997.** Genetic instability in colorectal cancers. Nature 386, 623–627.
- ❖ **Léon perlemuter, jacques quevauvilliers , gabriel perlemuter , béatrice amar , lucien aubert , laurence pitard. 2006.** Livre Anatomie-physiologie pour les soins infirmiers - 269 pages.
- ❖ **Liu W, Dong X, Mai M, Seelan R.S, Taniguchi K, Krishnadath K.K.2000.** Mutations in AXIN2 cause colorectal cancer with defective mismatch repair by activating beta-catenin/TCF signalling. Nat Genet ;26: 146-7.
- ❖ **Madelaine I, Faure P, Berthou J.2008.** Pharmacie clinique et thérapeutique pages : 629-630 Elsevier Masson.
- ❖ **Matthew Fleming, Sreelakshmi Ravula, Sergei Tatishchev, Hanlin L. Wang.2012.** Colorectal carcinoma: Pathologic aspects. Journal Gastrointest Oncol 2012, 3(3): 153-173.
- ❖ **Mehta. B, Victor Hoffbrand. A. 2003.** Hématologie
- ❖ **Meijer L, Jezequel A, Roberge M. 2003.** “Cell Cycle Regulators as Therapeutic Targets”. Progress in Cell Cycle Research, vol. 5, Editions “Life in Progress”, Roscoff, (54 chapitres), 549 pp. 14.
- ❖ **Modrich P.1991.** Mechanisms and biological effects of mismatch repair. Annu Rev Genet ; 25 : 229-53.
- ❖ **Najoua GUENNOUNI, 2014.** CANCER COLORECTAL ET UTIILITÉ CLINIQUE DES MARQUEURS BIIOLOGIQUES.

- ❖ **O'Connell M.J, Lavery I, Yothers G. 2010.** Relationship between tumor gene expression and recurrence in four independent studies of patients with stage II/III colon cancer treated with surgery alone or surgery plus adjuvant fluorouracil plus leucovorin. *J Clin Oncol*; 28(25):3937-44.
- ❖ **Olschwang S, Eisinger F. 2001.** « Prédiposition héréditaire au cancer colorectal et inactivation de la fonction de réparation des mésappariements de l'ADN » *Encycl Méd Chir. Gastro-énérologie.*-068-A-12.

- ❖ **Parc Y, Gueroult S, Mourra N. 2004.** Prognostic significance of microsatellite instability determined by immunohistochemical staining of MSH2 and MLH1 in sporadic T3N0M0 colon cancer. *Gut*; 53(3):371-5.
- ❖ **Parsons R, Myeroff L.L, Liu B, Willson J.K, Markowitz S.D, Kinzler K.W. 1995.** Microsatellite instability and mutations of the transforming growth factor beta type II receptor gene in colorectal cancer. *Cancer Res*; 55:5548-50.
- ❖ **Pinol V, Castells A, Andreu M, Castellvi-Bel S, Alenda C, Llor X. 2005.** Accuracy of revised Bethesda guidelines, microsatellite instability, and immunohistochemistry for the identification of patients with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *JAMA*; 293:1986–94.
- ❖ **Pommier Y, Kohn K.W. 2003.** Cycle cellulaire et points de contrôle en oncologie: nouvelles cibles thérapeutiques. *Médecine/ Sciences* 19: 173-86.
- ❖ **Popat S, Hubner R, Houlston R.S. 2005.** Systematic review of microsatellite instability and colorectal cancer prognosis. *J Clin Oncol*;23(3):609-18. Review.
- ❖ **Pornet C, Dejardin O, Morlais F, Bouvier V, Launoy G. 2010.** Déterminants socio-économiques de la participation au dépistage organisé du cancer colorectal, Calvados (France), 2004-2006. *BEH*;(12):109-12.
- ❖ Pourquier P, Robert J. 2011. : Présentation générale des mécanismes de réparation de l'ADN *Bulletin du Cancer*, 98, 229-237.
- ❖ **Pretlow T.P, barrow J.B , al . 1991.** Aberrant crypts : putative preneoplastic foci in human colonic mucosa . *cancer Res* 51 (5) : 1564-7.

- ❖ **Renate L.R. 2008.** Histologie ; pages : 380-381-382-402-403 France: De Boeck Supérieur.
- ❖ **Ribic C.M, Sargent D.J, Moore M.J, Thibodeau S.N, French A.J, Goldberg R.M, Hamilton S.R, Laurent-Puig P, Gryfe R, Shepherd L.E, Tu D, Redston M, Gallinger S. 2003.** Tumor microsatellite instability status as a predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med*; 349(3):247-57.
- ❖ **Rodriguez-Bigas M.A, Boland C.R, Hamilton S.R, Henson D.E, Jass J.R, Khan P.M.1997.** A national cancer institute workshop on hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome: meeting highlights and Bethesda guidelines. *J Natl Cancer Inst*;3(89):1758–62.
- ❖ **Roger L, Christian J.L, Robert J. 2005.** Cancérologie fondamentale - Page 173.
- ❖ **Roth A.D, Delorenzi M, Tejpar S, Yan P, Klingbiel D, Fiocca R, d’Ario G, Cisar L, Labianca R, Cunningham D, Nordlinger B, Bosman F, Van Cutsem E. 2012.** Integrated analysis of molecular and clinical prognostic factors in stage II/III colon cancer. *J Natl Cancer Inst*; 104 (21):1635-46.
- ❖ **Roth R, Kim H, Hsieh E.T, Aronson M.D, Holowaty E.J, Bull S.B, Redston M, Gallinger S. 2000.** Tumor microsatellite instability and clinical outcome in Young patients with colorectal cancer. *N Engl J Med*; 342(2):69-77.
- ❖ **Rougier P, Laurent-Puig P, Bouhhe O. 2005.** Nouveaux concepts en cancérologie digestive ; page : 68 France: Wolters Kluwer.
- ❖ **Rougier P, Mitry E, Dominguez S, Taieb J. 2006.** Les cancers digestifs ; pages : 24-25 Springer.
- ❖ **Rousseau B, Chibaudel B, Bachet J.B. 2010.** Stage II and stage III colon cancer: treatment advances and future directions. *Cancer J*; 16(3):202-9.
- ❖ **Sargent D.J, Marsoni S, Monges G, Thibodeau S.N, Labianca R, Hamilton S.R, French A.J, Kabat B, Foster N.R, Torri V, Ribic C, Grothey A, Moore M, Zaniboni A, Seitz J.F, Sinicrope F, Gallinger S. 2010.** Defective mismatch repair as a predictive marker for lack of efficacy of fluorouracil-based adjuvant therapy in colon cancer. *J Clin Oncol*; 28(20):3219-26.
- ❖ **Serra D, Goulard H, Dupont N, Bloch J. 2008.** Pratique du test de détection de sang occulte dans les selles (Hémocult) dans la population française, enquête décennale santé Insee, France.(1):1-3.

- ❖ **Sieber O.M, Lipton L, Crabtree M, Heinimann K, Fidalgo P, Phillips R.K. 2003.** Multiple colorectal adenomas classic adenomatous polyposis and germ-line mutations in MYH. *N Engl J Med*;348: 791-9.
- ❖ **Sparks A.B, Morin P.J, Vogelstein B, Kinzler K.W. 1998.** Mutational analysis of the APC/beta-catenin/Tcf pathway in colorectal cancer. *Cancer Res*;58:1130-4.
- ❖ **Stevens A, Janes L. 1997.** *Histologie humaine* ; page : 194 France: De Boeck Supérieur.
- ❖ **Stewart Z.A, Westfall M.D, Pietenpol J.A. 2003.** Cell-cycle dysregulation and anticancer therapy. *Trends Pharmacol Biol* 24: 139-45.
- ❖ **Suraweera N, Iacopetta B, Duval A. 2001.** Conservation of mononucleotide repeats within 3' and 5' untranslated regions and their instability in MSI-H colorectal cancer. *Oncogene* ; 20 : 7472-7.
- ❖ **Sutherland G.R, Richards R.I. 1994.** DNA repeats: a treasury of human variation. *N Engl J Med*; 331:191-3.
- ❖ **Syhung N, Bourouina R. 2008.** (*Manuel d'anatomie et de physiologie* ; page 46 France: Wolters Kluwer).
- ❖ **Tautz. 1994.** Simple sequences. *Curr Opin Genet Dev.* 4:832—837.
- ❖ **Terdiman J.P. 2005.** Colorectal cancer at a young age. *Gastroenterology*; 128:1067–76.
- ❖ **Thierry Forné. 2006.** Institut de Génétique Moléculaire – CNRS Montpellier.
- ❖ **Umar A, Risinger J.I, Hawk E.T, Barrett J.C. 2004.** Testing guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Nat Rev Cancer*; 4:153–8.
- ❖ **Vallot T, Merrouche M, Pospai D. 1996.** POLYPES ET TUMEURS DU RECTOSIGMOÏDE.
- ❖ **Vasen H.F, Watson P, Mecklin J.P, Lynch H.T. 1999.** New clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the International Collaborative group on HNPCC. *Gastroenterology*;116:1453–6.
- ❖ **Viguier J, Bourlier P, Karsenti D, De Calan 1, Danquechin Dorval E. 2003.** « cancer de colon » *Encycl méd chir Gastro-entérologie*, 9-068-A-10, 18p.
- ❖ **Wagner A, Barrows A, Wijnen J.T, van der Klift H, Franken P.F, Verkuijlen P. 2003.** Molecular analysis of hereditary nonpolyposis colorectal cancer in the United States: high mutation detection rate among clinically selected families and

characterization of an american founder genomic deletion of the MSH2 gene. Am J Hum Genet; 72:1088–100.

- ❖ **Westra J.L, Schaapred M, Hollema H, De Boer J.L, Kraak M.M, De Joug D. 2005.** Determination of TP53 mutation is more relevant than microsatellite instability status for the prediction of disease-free survival in adjuvant reacted stage III colon cancer patients. J Clin Oncol, ; 23 :5635-43
- ❖ **Widal. F, Teissier. P.-J, Roger G.-H. 1920-1924.** Nouveau traité de médecine, fasc. 5, , p. 119
- ❖ **Wijnen J, van der Klift H, Vasen H, Khan P.M, Menko F, Tops C. 1998.** MSH2 genomic deletions are a frequent cause of HNPCC. Nat Genet; 20:326–8.
- ❖ **Zaanan A, Meunier K, Sangar F. 2011.** Microsatellite instability in colorectal cancer: from molecular oncogenic mechanisms to clinical implications. Cell Oncol; 34: 155-176.
- ❖ **Zabee L. 1999.** Les classifications à l'internet ; page : 33 Edition Estem.

Annexe 01

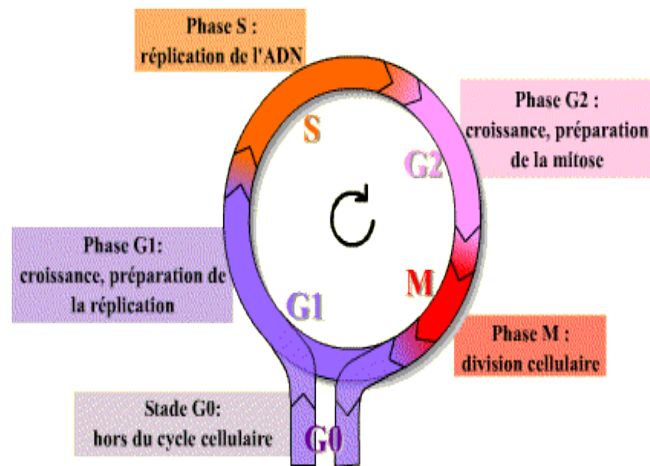


Figure 3 : Les phases et les événements majeurs du cycle de cellulaire (Kolodner, 1996).

Figure 5: Schémas des différents types histologiques d'Adénome (Pourquier et Robert ; 2011).

Annexe 02

Tableau III : Critères d'Amsterdam

- au moins trois sujets atteints de cancer du spectre HNPCC restreint (côlon, endomètre, intestin grêle, voies urinaires) confirmés histologiquement et dont au moins un est parent au premier degré des deux autres,
- les cas sont répartis sur au moins deux générations successives,
- Au moins un des cas est diagnostiqué avant l'âge de 50 ans,
- la polypose familiale est exclue.

Tableau IV : Critères de Bethesda

- CCR diagnostiqué avant l'âge de 50 ans,
- second cancer colorectal synchrone ou métachrone ou autre tumeur du spectre HNPCC élargi (endomètre, intestin grêle, voies urinaires, estomac, ovaires, pancréas, voies biliaires...),
- cancer avec caractéristiques anatomopathologiques évocatrices de phénotype MSI-H diagnostiqué avant l'âge de 60 ans,
- CCR avec au moins un parent au premier degré présentant une tumeur du spectre HNPCC diagnostiqué avant l'âge de 50 ans,
- CCR avec au moins deux parents au premier ou au deuxième degré présentant une tumeur du spectre HNPCC indépendamment de l'âge de survenue.

Tableau V : Critères de Kievit

- cancer colorectal diagnostiqué avant l'âge de 50 ans,
- cancer colorectal après un premier cancer,
- cancer colorectal associé à un cancer HNPCC (endomètre, ovaire, estomac, voies biliaires, intestin grêle, voies urinaires hautes),
- adénome avec dysplasie de haut grade avant l'âge de 40 ans.

Annexe 03

Classification histopronostique des CCR

Elle concerne les adénocarcinomes, qui représentent le type histologique très majoritaire des CCR. Elle repose sur la classification TNM,.

Tableau VI . La classification internationale TNM de l'UICC de l'année 2009 (**Madelaine et al., 2008**)

Tumeur primitive (T)	
TX	Impossible d'évaluer la tumeur primitive
T0	Aucun signe de tumeur
Tis	Carcinome in situ – tumeur limitée au revêtement interne (épithélium) ou à la couche de tissu conjonctif (lamina propria) de la muqueuse du côlon ou du rectum
T1	Tumeur envahissant la sous-muqueuse
T2	Tumeur envahissant la musculature (couche musculaire)
T3	Tumeur envahissant la couche appelée sous-séreuse, qui se trouve entre la musculature et la séreuse, ou bien le tissu entourant le côlon ou le rectum
T4	Tumeur envahissant directement d'autres organes ou structures ou qui passe à travers (perfore) la membrane qui recouvre l'extérieur des organes (péritoine viscéral) T4a – tumeur qui perfore le péritoine viscéral T4b – tumeur qui envahit directement d'autres organes ou structures, dont d'autres segments du côlon ou du rectum par la séreuse (envahissement du côlon sigmoïde par un carcinome du caecum)
Ganglions lymphatiques régionaux (N : pour les adénopathies (nodes))	
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	Présence 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
• Métastases à distance (M : pour les métastases)	
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

Annexe 04

1. Technique d'histopathologie

Tableau VII: Les réactifs utilisés en anatomopathologie

Réactif	Référence
Hématoxyline de Mayer	050515
Eukuts	604046

Tableau VIII: Les appareillages utilisés dans l'histopathologie

Appareille	Référence
Automate d'inclusion	Asp6024
La station d'enrobage	SLEE MPS/C
microtome	SLEE
Bain marie	Polyscience
Les étuves	Memmert
Automate de coloration	Leica st 4040

2. Technique d'immunohistochimie :

Tableau IX : Les réactifs utilisés dans l'immunohistochimie

Les réactifs	Référence
MSH2	430674
MSH6	6039321
PMS2	6039655

MLH1	6039698
Solution PBS	20023728
DAKO REAL Peroxydase blocking solution	1536002D
DAKO REAT HRP anti RABBIT/MOUSE	15299106
DAKO DAB+CHROMOGENE (substrat chromogène 3,3 diaminobenzidine)	F04249
Solution de lavage	20023728
Eau ammoniacale	
Hématoxyline de Mayer	050515
PH 6	20024726
PH9	20022058
Diluent	6032477
Trilogie	1520802B

Tableau X : Les appareillages utilisés dans l'immunohistochimie

Appareille	Référence
Etuve	Ovens
Bain marie	Polyscience
microtome	SLEE
Microscope photonique	
Lames silanisées	20153013

Annexe 05

Tableau XI : Caractéristiques histopathologiques des patients

N° d'anapath	Age	Sexe	Localisation	Type histologique	Stade	Statue ganglionnaires
2559/15 (1)	31ans	F	Segment colique	ABD	PT3N1Mx	3ganglions dans un est métastatiques
6097/15 (2)	38ans	F	Sigmoïde	Reliquats d'un adénocarcinome	PT3N0M1	20 ganglions n'est pas métastatique
3341/15 (3)	45ans	F	Colorectale	AMD	PT3N1bMxR0	8 ganglions dans un est métastatique
3523/15 (4)	49ans	F	Colorectale	ABD	PT3N1bMx	4ganglions dans un est métastatique
7718/15			Résection			22ganglions

Annexe

(5)	42ans	H	colique	ABD à AMD	PT4N1bMx	dans 2 sont métastatiques
2118/15 (6)	47ans	F	Sigmoïde	ABD	PT3N1a M1a	17ganglions dans un est métastatique
7204/15 (7)	59ans	F		Adénocarcinome colloïde muqueux	PT3N1cMxR0	24ganglions ne sont pas infiltrés
777/15 (8)	36ans	H	Paroi colique	ABD	PT3N0Mx	4ganglions ne sont pas métastatique
10260/15 (9)	44ans	H	Pièce hémi colectomie droite	ABD	PT3N0M1	18ganglions ne sont pas métastatique
11434/15 (10)	49ans	H	Pièce de résection sigmoïdienne	Carcinome colloïde muqueux avec ABD	PT3N0Mx	28ganglions ne sont métastatiques
2364/15 (11)	45ans	F	Résection colique segmentaire	ABD	PT4bN0M1a	8ganglions ne sont pas métastatiques
4201/15 (12)	18ans	H	Paroi colique	ABD	PT3N1bMx	18ganglions dans 2 sont métastatiques
2217/16 (13)	42ans	H	Colique et gastrique	ABD	PT2N0MxR0	Absence de métastases ganglionnaire
4040/16 (14)	37ans	H	Iléo colique	AMD	PT3N2aMx	42ganglions dans 4 sont métastatiques
5194/16 (15)	46ans	H	Paroi colique	ABD	PT3N2bMx	30ganglions dans 7 sont métastatiques
6120/16 (16)	34ans	H	Pièce de résection colorectale	AMD	PT3N2aMx	15ganglions dans 8sont métastatiques
6572/16 (17)	35ans	F	Recto sigmoïdienne	Adénocarcinome colloïde muqueux	PT3N2aMx	27ganglions dans 8sont métastatiques
7347/16 (18)	43ans	H	Paroi colique	AMD	PT3N2aMx	22ganglions dans 8 sont métastatiques
7399/16 (19)	47ans	F	Paroi colique	ABD	PT3N1aMx	9ganglions dans un est métastatique
7409/16 (20)	49ans	F	Résection colorectale	ABD	PT3N0Mx	23ganglions ne sont pas métastatiques
5309/16 (21)	30ans	H	Paroi rectale	APD	PT3N1C	2ganglions métastatiques

Tableau XII: Caractéristiques cliniques des patients

N° d'anapath	Les protéines de système MMR				MSI	Emboles vasculaires	Engainement périnerveux
	MLH1	MSH2	MSH6	PMS2			
2559/15 (1)	+	+	+	+	-	Présence	Absence
6097/15 (2)	+	+	+	+	-	Absence	Absence
3341/15 (3)	+	+	+	+	-	Absence	Présence
3523/15 (4)	+	+	+	+	-	Présence	Absence
7718/15 (5)	+	+	+	+	-	Présence	Présence
2118/15 (6)	+	+	+	+	-	Absence	Absence
7204/15 (7)	+	+	+	+	-	Présence	Présence
777/15 (8)	+	+	+	+	-	Absence	Présence
10260/15 (9)	+	+	+	+	-	Absence	Présence
11434/15 (10)	+	+	+	+	-	Absence	Présence
2364/15 (11)	+	+	+	+	-	Présence	Présence
4201/15 (12)	+	+	+	+	-	Absence	Absence
2217/16 (13)	+	+	-	+	+	Absence	Absence
4040/16 (14)	+	+	+	+	-	Absence	Présence
5194/16 (15)	+	+	+	+	-	Présence	Présence
6120/16 (16)	+	+	+	+	-	Présence	Absence
6572/16 (17)	+	+	+	+	-	Absence	Présence
7347/16 (18)	+	+	+	+	-	Présence	Présence
7399/16 (19)	-	+	+	-	+	Présence	Présence
7409/16 (20)	+	+	+	+	-	Absence	Présence
5309/16 (21)	+	+	+	+	-	Présence	Présence

Annexe 06

Tableau XIII: Répartition des patients de phénotype MSI+ selon le sexe

Sexe	Fréquence	%
Femmes	1	50
Hommes	1	50
total	2	100

Tableau XIV: Répartition des patients de phénotype MSS selon le sexe

Sexe	Fréquence	%
Femmes	9	47.37
Hommes	10	52.63
Total	19	100

Tableau XV : Répartition des patients des deux groupes en fonction de l'âge

Groupe /Age (ans)	[18-29]	[30-39]	[40-49]	[50-59]

MSI+	0	0	2	0
MSS	1	7	10	1
Total	1	7	12	1

Tableau XVI : Répartition des patients selon le grade de différenciation

Phénotype /grade	ABD	AMD	APD
MSI+	2	0	0
MSS	14	5	1
Total	16	5	1

Tableau XVII: Répartition des patients selon la présence ou l'absence d'Emboles vasculaires

	Présence	Absence
MSI+	1	1
MSS	9	10
Total	10	11

Tableau XVIII: Répartition des patients selon la présence ou l'absence l'Engainement Nerveux

	Présence	Absence
MSI+	1	1
MSS	13	6
Total	14	7

Tableau XIX : Répartition des patients selon la taille de la tumeur

Tumeur	MSI+	MSS
T1	0	0
T2	1	0
T3	1	17
T4	0	2

Tableau XX : Répartition des patients selon le statut ganglionnaire

Tumeur	MSI+	MSS
N0	1	6

Nx	0	0
N1	1	8
N2	0	5

Annexe 07

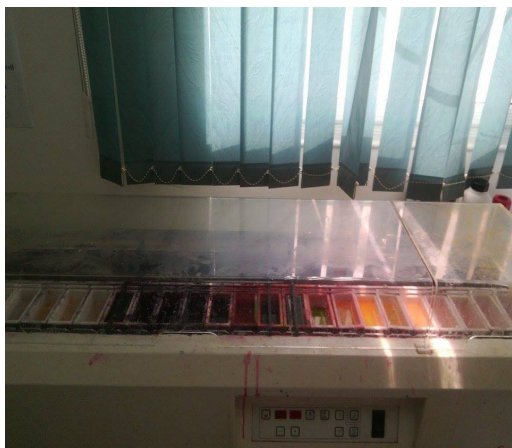
Appareillages



Automate d'inclusion (leica)



Station d'enrobage (Slee)



Coloration a l'hématoxyline –Eosin (HE) Automate imminohistochimie



Les étuves



Bain Marie

Autocuiseur

Annexe 08

Matériel non biologique



Solution de lavage
antiMSH2, antiMSH6 et antiPMS2

Les anticorps : antiMLH1

Chambre humide



Pissette

xylène

Les bacs



Gant silicone

Alcool

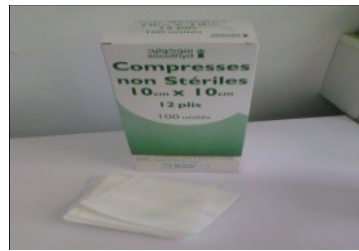
HRP : Peroxydase de raifor



L'Eukitt de montage

Hématoxyline

Pipette

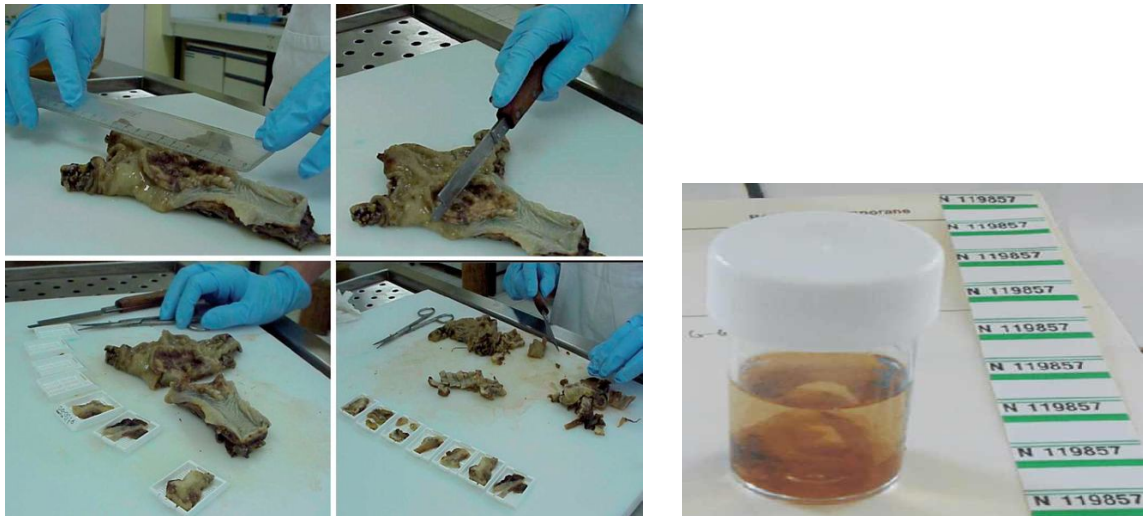


Protéine blocks

Compresses non stériles

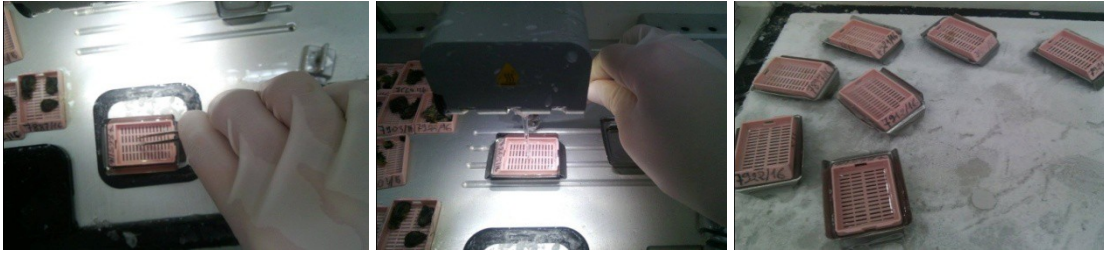
Annexe 09

Technique anatomo-pathologie

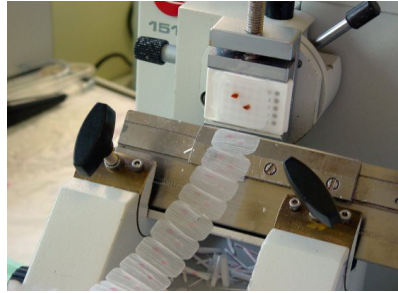


Mensuration et la description des pièces





Enrobage et inclusion



Confection des coupes

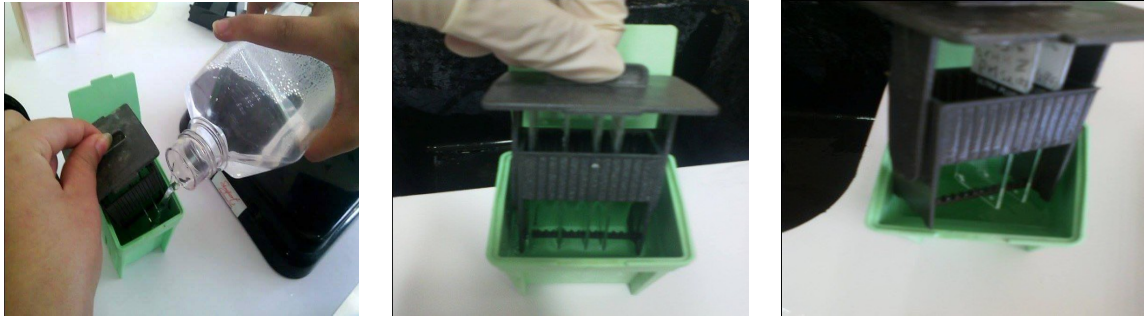
Annexe 10

Technique immunohistochimique



L'anticorps primaire

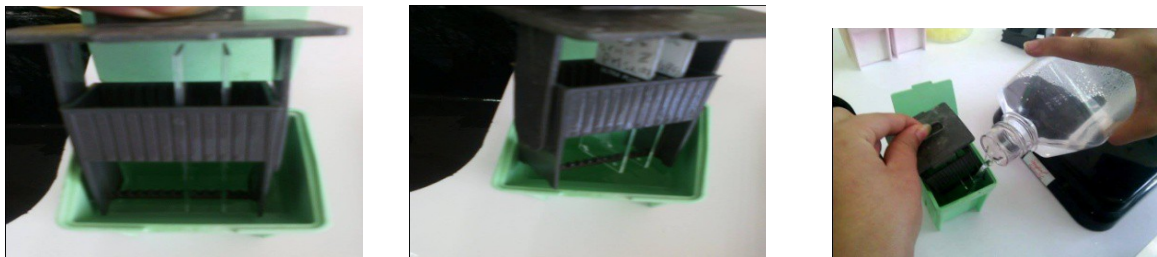
Adjonction de



Deux lavages par solution de lavage ,chacun 5min



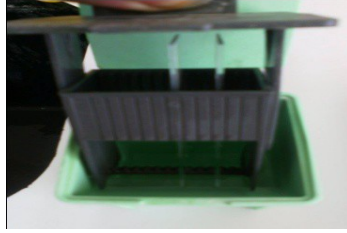
Adjonction de L'anticorps secondaire



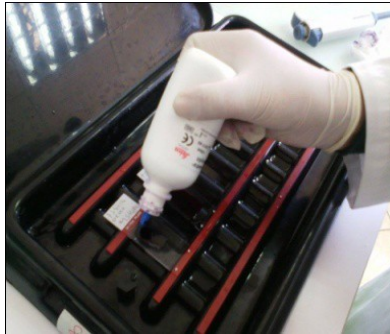
Deux lavages par solution de lavage , chacun 5min



Le chromogène substrat DAB est disposé sur l'échantillon



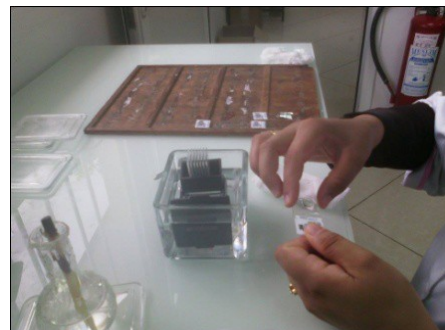
Laver 3 fois pendant 5min dans chacun.



Contre coloration



La batterie finale



Montage

